

Contacts :

Stéphanie SAMMARTANO
Ingénieure certification Senior
stephanie.sammartano@afnor.org
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

Réf.: SSO/SSO/NF102/Clients/BioControl Systems/
Avis BT_Assurance GDS slm_2018-07-02_(E1).docx

BioControl Systems, Inc.
Monsieur Drew LIENAU
12822 SE 32nd Street
Bellevue
WA 98005-4356 Etats-Unis

Objet : Marque NF VALIDATION

La Plaine Saint-Denis, le 2 juillet 2018

Monsieur,

Comme suite à l'avis positif exprimé le 2 juillet 2018 par le Bureau Technique de la marque NF VALIDATION (NF102), dans son application à l'agroalimentaire, j'ai l'honneur de vous annoncer que **l'extension du droit d'usage de la marque NF VALIDATION** est accordée à la société BioControl Systems Inc. pour la méthode alternative suivante :

Assurance GDS® for *Salmonella* Tq

Certifiée sous le N° TRA 02/12-01/09, avec pour fin de validité le 26-janvier-2021

Des compléments d'étude de validation ont permis de valider de nouveaux protocoles d'analyse (prise d'essai de 375g) pour les poudres de lait, et les laits et céréales infantiles avec ou sans probiotiques.

La méthode alternative reste validée par comparaison à la méthode de référence NF EN ISO 6579-1 (2017) et selon le protocole de validation NF EN ISO 16140-2 (2016), pour la détection des *Salmonella* spp. dans tous les produits d'alimentation humaine (à l'exclusion des graines germées) par des essais de validation réalisés sur une vaste gamme d'aliments, les aliments pour animaux de compagnie et les échantillons de l'environnement de production (hors environnement de production primaire).

Un courrier complet de conclusions mentionnant d'éventuelles réserves prononcées par le Bureau Technique, vous sera prochainement adressé. Le cas échéant, celles-ci devront être prises en compte sans délai.

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.



Directeur Général
Franck LEBEUGLE



Contacts :

Stéphanie SAMMARTANO
Ingénieure certification Senior
stephanie.sammartano@afnor.org
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

Jérôme FAYOL
Chargé de clientèle
jerome.fayol@afnor.org
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Réf.: SSO/JFY/NF102/Clients/BioControl Systems/
Avis BT_Assurance GDS slm_2018-01-25_(R2).docx

Objet : Marque NF VALIDATION

BioControl Systems
Monsieur Drew LIENAU
12822 SE 32nd Street
Bellevue, WA 98005
Etats-Unis

La Plaine Saint-Denis, le 25 janvier 2018

Monsieur,

Comme suite à l'avis positif exprimé le 25 janvier 2018 par le Bureau Technique de la marque NF VALIDATION (NF102), dans son application à l'agroalimentaire, j'ai l'honneur de vous annoncer que le **droit d'usage de la marque NF VALIDATION est reconduit** pour la méthode alternative suivante :

Assurance GDS® for *Salmonella* Tq

Certifiée sous le N° TRA 02/12-01/09, avec pour fin de validité le 26-janvier-2021

La méthode alternative est validée par comparaison à la méthode de référence NF EN ISO 6579-1 (2017) et selon le protocole de validation NF EN ISO 16140-2 (2016), pour la détection des *Salmonella* spp. dans tous les produits d'alimentation humaine par des essais de validation réalisés sur une vaste gamme d'aliments (à l'exclusion des graines germées), les aliments pour animaux de compagnie et les échantillons de l'environnement de production (hors production primaire).

Un courrier complet de conclusions mentionnant d'éventuelles réserves prononcées par le Bureau Technique, vous sera prochainement adressé. Le cas échéant, celles-ci devront être prises en compte sans délai.

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.



Directeur Général
Franck LEBEUGLE



Contacts :

Stéphanie SAMMARTANO
Ingénieure Certification
stephanie.sammartano@afnor.org
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

Audrey VERNEL
Chargée de clientèle
audrey.vernel@afnor.org
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Ref. : SSO/NF102/Clients/Biocontrol Systems/
Avis BT_Assurance GDS Salmonella_2012-11-29 (R1)

Objet : NF VALIDATION

BioControl Systems, Inc
Monsieur Geoff Bright
12822 SE 32nd Street
Bellevue, WA 98005
USA

La Plaine Saint-Denis, le 05 décembre 2012

Monsieur,

Comme suite à l'avis positif exprimé le 29 novembre 2012 par le Bureau Technique "Microbiologie" de la marque NF VALIDATION, dans son application à l'agroalimentaire, j'ai l'honneur de vous annoncer que le **droit d'usage de la marque NF VALIDATION est reconduit** pour la méthode alternative d'analyse suivante :

Assurance GDS *Salmonella*

Validée pour la détection des *Salmonelles*

**dans tous les produits d'alimentation humaine et animale et les échantillons d'environnement
(hors environnement de production primaire)**

Certifiée sous l'attestation n° TRA 02/12-01/09, avec pour fin de validité 26/01/2017

Un courrier complet de conclusions mentionnant d'éventuelles réserves prononcées par le Bureau Technique, vous sera adressé prochainement. Dans ce cas, celles-ci devront être prises en compte sans délai.

Je vous prie d'agréer, Madame, mes salutations distinguées

Directrice Générale
Florence MÉAUX





**Méthodes alternatives d'analyse pour l'agroalimentaire
Performances analytiques certifiées**

**ATTESTATION DE VALIDATION DE METHODE ALTERNATIVE D'ANALYSE
SUIVANT LA NORME NF EN ISO 16140 : 2003**

N° attestation : TRA 02/12 – 01/09

Date de validation : 26.01.2009
Fin de validité : 26.01.2013

La Société
(siège social et
site de production)

BioControl Systems Inc.
12822 SE 32nd Street
Bellevue, WA 98005
USA

Distributeur **BioControl Systems France**
Centre d'affaires DMCI
4, Quai des Etroits
69005 LYON
FRANCE

est autorisée à faire référence à la marque **AFNOR VALIDATION** pour la méthode alternative **qualitative** d'analyse ci-dessous :

Assurance GDS *Salmonella*

Réf. No.61008-100

Référence du protocole : 55187F.R000.012010

DOMAINE D'APPLICATION

Tous produits d'alimentation humaine et animale, et prélèvements de l'environnement (hors environnement d'élevage).

RESTRICTIONS EVENTUELLES D'EMPLOI

Aucune.

METHODE DE REFERENCE

NF EN ISO 6579 (2002) – Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella spp.*

**Le Directeur Général Délégué
Jacques BESLIN**

AFNOR Certification

11, rue Francis de Pressensé – 93571 La Plaine Saint-Denis Cedex - France
Tél +33 (0)1 41 62 80 00 – Fax +33 (0)1 49 17 90 00
certification@afnor.org - www.afnor-validation.org

PRINCIPE DE LA METHODE

Le kit Assurance GDS *Salmonella* est un système automatisé de détection génétique basé sur l'amplification d'acides nucléiques spécifiques du genre *Salmonella*. Après enrichissement, l'échantillon est agité en présence de billes magnétiques spécifiques permettant la formation de complexes bille-bactérie. Les complexes bille-bactérie collectés, concentrés, isolés et lavés sont ensuite transférés dans des tubes contenant le réactif d'amplification, puis placés dans le thermocycleur Assurance Rotor-Gene. Les résultats sont automatiquement fournis par le logiciel Assurance GDS Rotor-Gene.

Dans le cadre de la marque AFNOR VALIDATION, tous les échantillons positifs à l'issue de la méthode Assurance GDS *Salmonella* doivent être confirmés de la manière suivante :

- selon les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification), à partir d'un isolement du milieu d'enrichissement (RVS ou MKTTn) sur gélose sélective.

En cas de résultats discordants (positif par la méthode alternative, non confirmé par les options décrites ci-dessus), le laboratoire devra mettre en oeuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

EXACTITUDE relative, SPECIFICITE relative, SENSIBILITE relative Comparaison des performances de la méthode alternative et de la méthode de référence

Des essais ont été effectués en 2008 sur 396 échantillons de produits dont 49 naturellement contaminés, 138 artificiellement contaminés et 209 non contaminés, appartenant aux grandes catégories d'aliments suivantes :

- Produits carnés, produits laitiers, divers (ovoproduits, plats cuisinés, ...), produits de la pêche et produits végétaux, aliments pour animaux, prélèvements d'environnement.

Tous les échantillons ont été analysés **en simple** par les deux méthodes.

Tableau de résultats (Cf. tableau 1 de la norme NF EN ISO 16140) :

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif A+ / R+ PA = 183 ⁽¹⁾	Déviaton positive A+ / R- PD = 0 ⁽¹⁾
Méthode alternative négative (A-)	Déviaton négative A- / R+ ND = 4 ⁽²⁾	Accord négatif A- / R- NA = 209 ⁽³⁾

(1) il s'agit de positifs confirmés

(2) (3) dont aucun échantillon présumé positif par la méthode alternative, négatif après confirmation

Les pourcentages obtenus, par rapport à la méthode de référence, sont les suivants :

- Exactitude relative : **AC = 99%**
- Spécificité relative : **SP = 100%**
- Sensibilité relative : **SE = 97,9%**

La **sensibilité** a également été recalculée en tenant compte de l'ensemble des positifs confirmés (ceci inclut les positifs supplémentaires de la méthode alternative) :

Méthode alternative :

$$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 97,9\%$$

Méthode de référence :

$$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 100\%$$

Analyse des discordants (selon l'annexe F de la norme EN ISO 16140)

PD = 0 , ND = 4 donc Y = PD + ND = 4 ; Y ≤ 6 : aucun test statistique n'est disponible.

Conclusion

Les performances de la méthode Assurance GDS *Salmonella* apparaissent équivalentes à celles de la méthode de référence.

NIVEAU DE DETECTION relatif

Comparaison des performances de la méthode alternative et de la méthode de référence

Des essais ont été effectués en 2008, sur les 6 combinaisons produits alimentaires/souches décrites dans le tableau ci-dessous.

Ces produits représentent les catégories suivantes d'aliments :

- Produits carnés, produits laitiers, ovoproduits, produits de la pêche, aliments pour animaux et prélèvements d'environnement.

Les produits ont été analysés **6 fois**, par les **deux méthodes**, à **4 niveaux** de contamination.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Matrice	Souche	Niveau de détection relatif LOD ₅₀ (3) Avec intervalle de confiance (UFC/25g ou 25 ml)	
		Méthode alternative	Méthode de référence
Viande de volaille hachée	<i>Salmonella</i> Hadar	0,3 [0,2 – 0,4]	0,2 [0,2 – 0,4]
Lait écrémé en poudre	<i>Salmonella</i> Typhimurium	0,7 [0,5 – 1,2]	0,6 [0,4 – 1,1]
Œuf liquide	<i>Salmonella</i> Enteritidis	0,4 [0,2 – 0,7]	0,4 [0,2 – 0,7]
Filet de poisson	<i>Salmonella</i> Virchow	0,4 [0,2 – 0,6]	0,3 [0,2 – 0,5]
Pâté pour chien	<i>Salmonella</i> Senftenberg	0,6 [0,4 – 0,9]	0,6 [0,4 – 0,9]
Eau de process	<i>Salmonella</i> Newport	0,9 [0,6 – 1,4]	0,9 [0,6 – 1,4]

(3) **LOD₅₀** : estimation du niveau de contamination qui permet d'obtenir une détection positive par la méthode alternative dans 50% des cas

"Hitchins A. Proposed Use of a 50% Limit of Detection Value in Defining Uncertainty Limits in the Validation of Presence-Absence Microbial Detection Methods, Draft 10th December, 2003"

Conclusion

Les niveaux de détection de la méthode alternative et de la méthode de référence sont équivalents et se situent entre **0,2 et 1,4 UFC/25 g**.

INCLUSIVITE/EXCLUSIVITE

Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement

- 56 souches de *Salmonella* ont été détectées sur 60 testées.
Durant l'étude, 2 souches de *Salmonella* Westhampton (ne contenant pas le gène cible *invA*, marqueur de pathogénicité) sur 3 testées et 2 souches de *Salmonella* Amsterdam sur 3 testées n'ont pas été détectées.
- L'étude de 32 souches non *Salmonella* n'a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.

PRATICABILITE

Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement

- Délai d'obtention des résultats :
 - L'obtention des résultats **positifs** se fait en 5 à 6 jours avec la méthode alternative comme pour la méthode de référence.
 - L'obtention des résultats **négatifs** se fait en 1 jour avec la méthode alternative contre 3 à 6 jours avec la méthode de référence.
 - Dans le cas de résultats présumés positifs par la méthode alternative, mais rendus négatifs après confirmation, les résultats négatifs sont obtenus en 3 à 6 jours.

ETUDE INTERLABORATOIRE

L'étude interlaboratoire a été réalisée en 2008 avec 13 laboratoires collaborateurs. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de glace à la vanille, contaminés artificiellement avec une souche de sérotype *Salmonella* Typhimurium aux 3 niveaux suivants :

- 0 UFC/25g
- 3 UFC/25g
- 30 UFC/25g

Les laboratoires ont testé, par les **deux méthodes**, **8 réplicats** pour **chaque niveau** de contamination, soit 312 analyses au total pour l'ensemble des laboratoires collaborateurs (24 analyses par laboratoire).

Résultats :

Niveaux de contamination	Nombre total d'échantillons	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de résultats exploités*	Nombre de résultats négatifs		Nombre de résultats positifs	
				REF	ALT	REF	ALT
0	104	104	96	90	94	6	2
1	104	104	96	0	0	96	96
2	104	104	96	0	0	96	96

* Les résultats d'un laboratoire ont été exclus de l'interprétation pour cause de contamination.

Calculs

- L'exactitude relative est de **98,3%**
- La spécificité est de **98%**
Note : une spécificité relative inférieure à 100% résulte d'un nombre de positifs supplémentaires confirmés et non pas de faux positifs.
- La sensibilité est de **100%**

Interprétation

Les résultats de l'étude collaborative sont comparables à ceux obtenus lors de l'étude préliminaire.

La **sensibilité** a également été recalculée en tenant compte de l'ensemble des positifs confirmés (ceci inclut les positifs supplémentaires de la méthode alternative) :

Méthode alternative :	Méthode de référence :
$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 98,0\%$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 99,5\%$

Degré d'accord, concordance et odds ratio :

Degré d'accord : % de chance de trouver le même résultat pour deux échantillons identiques analysés par le même laboratoire dans des conditions de répétabilité. C'est la moyenne des probabilités que deux réplicats donnent le même résultat pour chaque laboratoire.

Concordance : % de chance de trouver le résultat pour deux échantillons identiques analysés dans deux laboratoires différents (conditions de reproductibilité). C'est le % de toutes les paires de réplicats donnant le même résultat.

Odds ratio (COR) : il est défini par la formule suivante :

$$COR = \text{degré d'accord} \times (100 - \text{concordance}) / \text{concordance} \times (100 - \text{degré d'accord})$$

Le tableau suivant indique les valeurs pour la **méthode alternative** :

Niveau de contamination	Degré d'accord	Concordance	COR
L0	96	96,9	1,14
L1	100	100	1,00
L2	100	100	1,00

Le tableau suivant indique les valeurs pour la **méthode de référence** :

Niveau de contamination	Degré d'accord	Concordance	COR
L0	90	88,1	1,23
L1	100	100	1,00
L2	100	100	1,00

Conclusion

La variabilité de la méthode alternative (degré d'accord, concordance, odds ratio) est équivalente à celle de la méthode de référence.

Il est souhaitable d'adresser à AFNOR Certification
toute réclamation concernant les performances de la méthode validée

Vous trouverez le document de synthèse des études préliminaire et interlaboratoire
sur le site www.afnor-validation.org