

Considérations primaires pour la sélection et l'adoption d'un programme optimisé de détection microbienne ATP

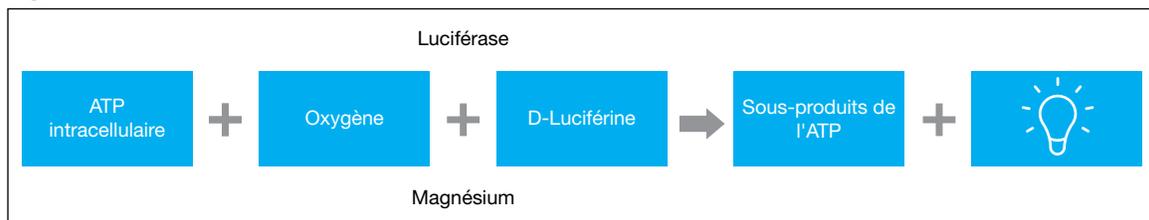
Introduction

La bioluminescence de l'adénosine triphosphate (ATP) est désormais une norme industrielle largement adoptée pour la détection microbienne rapide des produits traités à l'ultra-haute température (UHT) et à durée de conservation prolongée (ESL).

Ce document aborde les attributs et avantages uniques des tests ATP et présente les principales considérations pour la sélection et l'adoption d'un programme hautement efficace.

Principes de base de l'ATP

Figure 1. Réaction de l'ATP



L'ATP intracellulaire représente l'énergie métabolique présente au sein d'une population de biomasse. Elle peut être identifiée et mesurée avec une grande sensibilité et spécificité à l'aide de la réaction enzymatique de la luciférase. Une enzyme naturelle responsable de la lueur de la luciole, le complexe coenzyme luciférase-luciférine, convertit l'énergie ATP en photons de lumière. L'énergie lumineuse détectable est ensuite mesurée à l'aide d'un luminomètre et convertie en unités relatives de lumière (RLU) représentatives de la concentration d'ATP intracellulaire dans un échantillon.

Tableau 1. Comparaison des méthodes : ATP vs culture

Méthode de détection (unités)	Paramètres de détection	Avantages	Limites	Difficulté technique
ATP (RLU)	Détecte l'ATP intracellulaire microbienne totale	<ul style="list-style-type: none"> • Haute sensibilité/spécificité • Processus automatisé • Résultats objectifs, quantitatifs • TAT* très court qui accélère la commercialisation du produit 	<ul style="list-style-type: none"> • Nécessite une déplétion d'ATP non microbienne • Nécessite des seuils dépendant de la matrice de l'échantillon pour garantir la précision 	Faible
Culture microbiologique (CFU)	Détecte les micro-organismes viables, compatibles avec les milieux/incubations	<ul style="list-style-type: none"> • Haute sensibilité/spécificité • Résultats semi-quantitatifs • Peu coûteux 	<ul style="list-style-type: none"> • Sélectivité des milieux • L'interprétation subjective nécessite des compétences techniques • Processus manuel • Un long TAT* retarde la commercialisation du produit 	Modérée-élevée

*TAT = temps d'exécution

Principales considérations pour la sélection d'un système de détection de l'ATP optimal

1. Élimination efficace du bruit de fond de l'ATP libre

La déplétion de l'ATP libre, non-microbienne et somatique est une étape essentielle pour assurer un haut niveau de spécificité du test. Les tests Hygiena™ RapiScreen™ utilisent l'enzyme apyrase dans une solution réactive exclusive pour éliminer efficacement l'interférence de l'ATP libre tout en maintenant une sensibilité optimale de détection de l'ATP intracellulaire (Figure 2). Cette étape permet d'atténuer le risque de résultats faussement positifs, qui se traduisent par des coûts supplémentaires directs et indirects liés aux tests de confirmation et aux retards de commercialisation des produits.

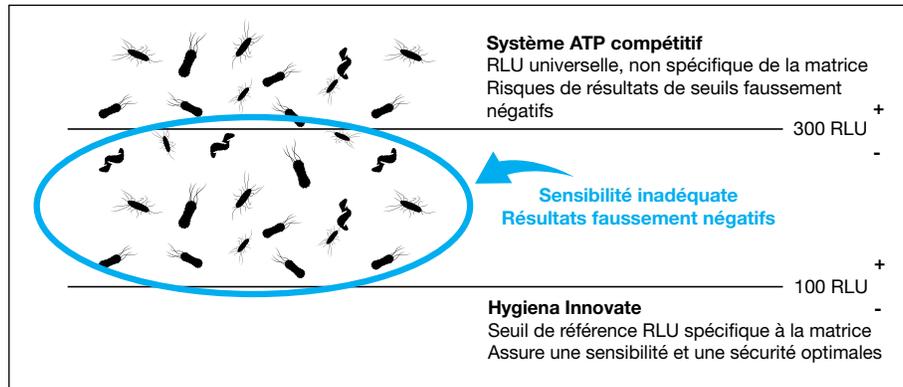
Figure 2. Défi de sensibilité à l'ATP intracellulaire de RapiScreen à faible inoculum. Organismes représentatifs et matrices des échantillons, liste partielle.

Défi RapiScreen à faible inoculum	<i>Staphylococcus aureus</i> (inoculum de 14 cellules) <ul style="list-style-type: none">• Résultat RLU positif pour le lait entier : 25 643• Résultat RLU positif pour la crème sucrée : 46 739• Résultat RLU positif pour le nappage laitier en bombe : 5 442• Résultat RLU positif pour le pudding au chocolat : 20 299
	<i>Bacillus cereus</i> (inoculum de 9 cellules) <ul style="list-style-type: none">• Résultat RLU positif pour le lait de riz : 54 638• Résultat RLU positif pour le lait d'amande sucré : 188 902• Résultat RLU positif pour le lait de noix de cajou sucré : 125 100• Résultat RLU positif pour le lait de noix de coco non sucré : 149 688
	<i>Bacillus subtilis</i> (inoculum de 7 cellules) <ul style="list-style-type: none">• Résultat RLU positif pour le lait demi-écrémé : 10 804• Résultat RLU positif pour le lait chocolaté : 38 817• Résultat RLU positif pour le lait de soja sucré à la vanille : 83 966• Résultat RLU positif pour la crème pâtissière : 392 624
	<i>Clostridium sporogenes</i> (inoculation de 1 cellule) <ul style="list-style-type: none">• Résultat RLU positif pour la boisson de soja : 79 838• Résultat RLU positif pour le latte au potiron épicé : 2 660• Résultat RLU positif pour la boisson de récupération à la vanille : 1 635• Résultat RLU positif pour la boisson de récupération au chocolat : 30 056

2. Précision analytique spécifique à la matrice intégrée

La composition, les caractéristiques et les processus de traitement des produits UHT et ESL (pH, teneur en matières grasses et en protéines, viscosité, traitement thermique, etc.) varient considérablement dans une grande variété de matrices. Lors de l'établissement de seuils positifs de l'ATP, ces propriétés uniques peuvent entraîner des interférences analytiques si elles ne sont pas spécifiquement prises en compte. Les tests ATP qui emploient un seuil relativement arbitraire et non spécifique à la matrice (par exemple, le seuil positif standard de 300 RLU) présentent un risque plus élevé de résultats faussement négatifs et le potentiel de dommages économiques et à la réputation liés au rappel.

Figure 3. Les seuils arbitraires ouvrent la voie à une faible sensibilité analytique et à des rapports faux-négatifs.



Pour maximiser la sensibilité de l'ATP de RapiScreen, Hygiëna investit continuellement dans des études de base complètes pour s'assurer que chaque classe de produit alignée sur la matrice est analysée en référence à son seuil approprié de dosage de l'ATP.

Tableau 2. Seuils de base de l'ATP spécifiques à la matrice RapiScreen d'Hygiëna. (Liste représentative et partielle)

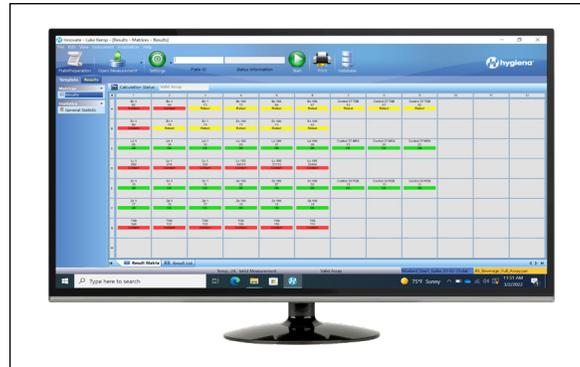
Produit final (échantillon aseptique)	Fond spécifique à la matrice, RLU après déplétion de l'ATP libre par ATX (Avant déplétion de l'ATP)	Seuil d'ATP spécifique à la matrice, RLU Seuil positif (3x fond de déplétion ATP ATX)
Lait demi-écrémé	9 (81)	27
Lait entier	5 (19)	15
Lait chocolaté	6 (7)	18
Crème sucrée	4 (20)	12
Mélange pour dessert, vanille	48 (1 024)	144
Nappage laitier en bombe	6 (457)	18
Lait de soja, non sucré	5 (1 978)	15
Lait de soja, sucré	6 (7)	18
Lait de soja, sucré, vanille	4 (2 824)	12
Lait de riz	2 (2)	6
Lait d'amande, non sucré	4 (146)	12
Lait d'amande, sucré	14 (145)	43
Lait de noix de coco, non sucré	5 (4)	15
Lait de noix de coco, sucré	5 (163)	14
Lait d'avoine, non sucré	7 (130)	22
Lait d'avoine, sucré	4 (210)	12
Lait d'avoine, non sucré, vanille	4 (10)	12
Lait de noix de cajou, sucré	10 (4 192)	29
Thé au lait	6 (11 879)	18
Jus de pomme	17 (44 398)	51
Jus d'orange	39 (708 183)	117

Bien que les données de base existantes sur les seuils couvrent une large gamme de produits UHT et ESL, Hygiëna offre à ses clients des services de validation et de développement de seuils personnalisés pour des matrices de produits uniques et difficiles. Apprenez-en plus sur le système Innovate sur hygiëna.com.

3. Rapport RLU simplifié

Il peut y avoir une corrélation générale entre RLU et CFU, tel qu'évalué par culture ; cependant, les valeurs RLU sont influencées par le taux de croissance microbienne, la masse et le volume, ce qui en fait un indicateur supérieur du contenu microbiologique total.¹

Figure 4. Exemple : Rapport de résultats Innovate

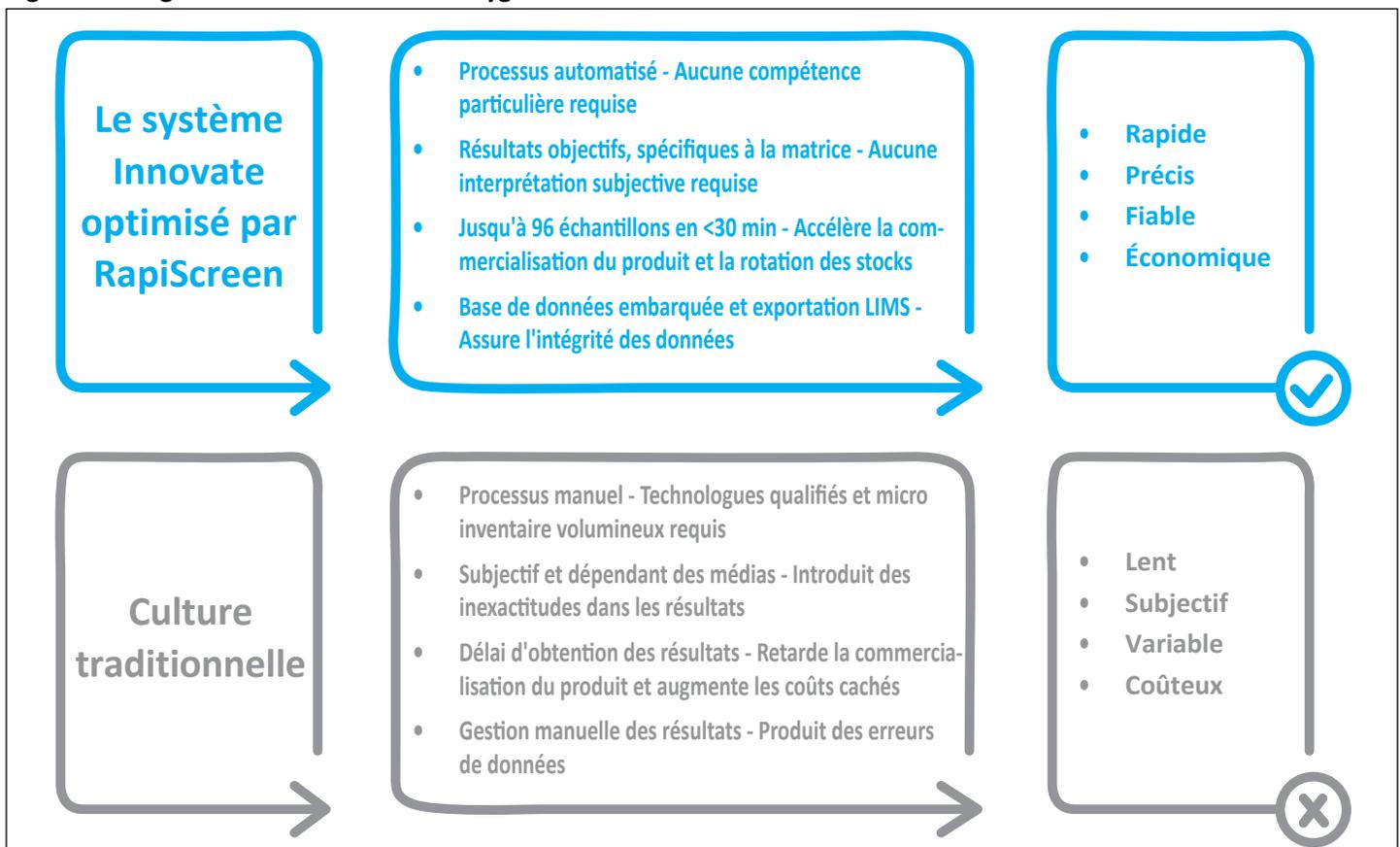


Le système Innovate rapporte les résultats RLU en termes clairs, avec un code couleur, pour une discrimination facile entre les échantillons positifs et négatifs. Les résultats sont conservés dans la base de données Innovate embarquée avec une capacité d'exportation vers la plupart des systèmes de gestion des informations de laboratoire (LIMS).

4. Intégration simplifiée du flux de travail

Indépendamment des besoins de capacité de test, le test ATP RapiScreen d'Hygiena avec l'automatisation d'Innovate et l'Autosampler III optionnel rationalise les tests UHT et ESL pour une détection microbologique constamment fiable et une commercialisation rapide des produits.

Figure 5. Intégration du flux de travail : Hygiena versus culture traditionnelle



5. Comparaison et sélection des kits de réactifs Innovate

Selon le pH de la matrice testée, vous pouvez choisir parmi deux kits de test ATP Hygiena RapiScreen.

Un pour les valeurs de pH plus faibles (acide élevé) et un pour les valeurs de pH plus neutres (>5).

Kit de réactifs Innovate	Plage de pH	Matrices validées (exemples)*
Produits laitiers	>5	<ul style="list-style-type: none">• Laits et produits UHT/ESL• Crémeux• Sauces au fromage• Puddings• Shakes protéinés• Eau de coco• Préparation pour nourrissons
Boissons	<5	<ul style="list-style-type: none">• Jus et concentrés à haute teneur en acide• Thés• Boissons énergétiques• Mélanges à smoothie• Condiments• Produits à fort extrait végétal

*Liste partielle des matrices validées. Rendez-vous sur la page du système Innovate sur hygiena.com pour obtenir des informations sur d'autres validations de matrices spécifiques ou pour des demandes de travaux de validation de matrices sur mesure.

Hygiena soutient l'intégration des tests ATP pour les laboratoires de toute taille, de la validation à l'installation, en fournissant une formation opérationnelle sur place, un soutien après-vente et des études de base personnalisées.

Le système Innovate optimisé par RapiScreen



Plaque microtitre RapiScreen



(En option) Autosampler III



Système Innovate

La détection ATP RapiScreen est entièrement automatisée avec le système Innovate de Hygiena. L'Autosampler III Innovate, en option, est un ajout idéal pour la fabrication à haut rendement et aseptique.

À propos d'Hygiena

L'approche Une seule santé de la sécurité et de la protection des aliments

En tant que leader mondial reconnu dans le domaine de la surveillance environnementale, Hygiena offre une large gamme de solutions de tests de haute qualité simples à utiliser. De la détection et de l'identification microbiennes rapides aux outils de surveillance de la propreté et des allergènes, Hygiena offre une technologie complète de sécurité alimentaire soutenue par des scientifiques et des développeurs d'applications de classe mondiale, une assistance compétente et localisée 24 heures sur 24, 7 jours sur 7, une innovation proactive et une vaste expertise réglementaire pour aider à maintenir la conformité des installations.

Pour en savoir plus, rendez-vous sur hygiena.com

¹ Technologie de mesure de l'adénosine triphosphate. https://www.iwapublishing.com/sites/default/files/08_Skovhus_Ch08_R3.pdf. Consulté le 7 février 2022.