

ETUDE DE LA VALIDATION AFNOR CERTIFICATION DU TEST  
LUMIPROBE 24 *LISTERIA MONOCYTOGENES*  
POUR LA DETECTION DES *LISTERIA MONOCYTOGENES* DANS  
LES PRODUITS D'ALIMENTATION HUMAINE  
ET LES ECHANTILLONS D'ENVIRONNEMENT

RAPPORT DE SYNTHÈSE

METHODE LUMIPROBE 24 *LISTERIA MONOCYTOGENES*- R.S.(V0)- février 2010

Ce rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis aux analyses. Sa reproduction n'est autorisée que sous forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 11 pages .

Seuls certains essais rapportés dans ce document sont couverts par l'accréditation de la Section Laboratoire du COFRAC. Ils sont identifiés par le symbole (\*).

Essais réalisés à l'ISHA : 25, avenue de la République 91300 Massy

Fabricant : **EUROPROBE**  
Le Gemellyon Nord  
57 Bd Vivier Merle  
69429 LYON CEDEX 3

Laboratoire expert : **I.S.H.A.**  
25, avenue de la République  
91300 MASSY

En vue de la validation AFNOR Certification, selon le référentiel NF EN ISO 16140, du test Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* pour la détection des *Listeria monocytogenes* avec confirmation.

Méthode alternative : test Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* pour la détection rapide des *Listeria monocytogenes* avec confirmation.

Domaine d'application : produits d'alimentation humaine et les échantillons d'environnement (hors environnement d'élevage).

Méthode de référence : méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 : Méthode de recherche norme NF EN ISO 11290-1 et NF EN ISO 11290-1/A1 (02/2005).

## **I – INTRODUCTION**

### **1- Référentiel de validation**

L'étude de validation de la méthode Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* a été réalisée selon le référentiel EN ISO 16140.

### **2- Historique de validation**

La méthode Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* est validée sous le numéro d'attestation EUR 15/03 -12/05 :

- décembre 2005 : validation initiale (produits laitiers hors fromage de type Cantal et Salers),
- décembre 2006 : extension pour tous produits et échantillons d'environnement (hors environnement d'élevage),
- décembre 2009 : reconduction de la méthode

### **3- Principe de la méthode**

Le test LUMIPROBE 24 *Listeria monocytogenes* est une méthode assurant en 24 heures la détection rapide et spécifique de *Listeria monocytogenes* dans différentes matrices. Les performances de sensibilité de ce test permettent de limiter à 22 heures la phase initiale d'enrichissement en bouillon. La présence de *Listeria monocytogenes* est ensuite révélée par un test d'hybridation ADN /ARN ribosomal en phase solide, de réalisation simple et adaptée au laboratoire de routine.

Le test LUMIPROBE 24 *Listeria monocytogenes* est basé sur une réaction d'hybridation de sondes nucléiques en phase solide. L'ARN ribosomal de la bactérie cible est libéré par lyse cellulaire et capturé par un oligonucléotide spécifique coaté sur un support inerte. L'ARN ribosomal ainsi capturé est hybridé avec un deuxième oligonucléotide marqué qui permettra la révélation par une réaction de chemiluminescence.

Interprétation des résultats :

Valeur RLU de l'échantillon > valeur seuil ⇒ résultat positif

Valeur RLU de l'échantillon ≤ valeur seuil ⇒ résultat négatif

$$\text{Valeur seuil} = [\text{Valeur en RLU du contrôle négatif}] \times 3$$

Le protocole général et le protocole spécifique de la méthode alternative sont présentés ci-dessous.

### **Protocole général de la méthode alternative**

#### **ETAPE 1 : ENRICHISSEMENT**

25 g (mL) d'échantillon + 225 mL de bouillon RM  
Incubation (37 ± 1) °C de (24 ± 2) heures



#### **ETAPE 2 : LYSE CELLULAIRE (1)**

Transfert de 40 µL du bouillon RM incubé dans 40 µL de tampon de lyse  
Incubation (37 ± 1) °C de 15 minutes sous agitation (500 tr/min).



#### **ETAPE 3 : HYBRIDATION (1)**

Ajouter 90 µL de tampon d'hybridation et incubé 45 minutes à (50±1)°C sous agitation (500 tr/min).

Rincer 2 fois puis laver 2 fois avec le tampon de lavage



#### **ETAPE 4 : REACTION AVEC LE CONJUGUE (1)**

Ajouter 100 µL de solution de conjugué et incubé 15 minutes à (37±1)°C sous agitation (500 tr/min). Laver 4 fois avec le tampon de lavage



#### **ETAPE 5 : AJOUT DU SUBSTRAT (1)**

Ajouter 100 µL de substrat et incubé 15 minutes à température ambiante à l'obscurité  
Lire les résultats au moyen d'un luminomètre

### Protocole spécifique de la méthode alternative

#### **ETAPE 1 : PRE-ENRICHISSEMENT ET ENRICHISSEMENT**

25 g (mL) d'échantillon + 75 mL de bouillon RML et incubation (37±1)°C de 6 à 8 h  
10 mL de RML incubé dans 90 mL de bouillon RML et incubation (37±1)°C de 16 à 20 h



#### **ETAPE 2 : LYSE CELLULAIRE (1)**

Transfert de 40 µL du bouillon RML incubé dans 40 µL de tampon de lyse  
Incubation (37 ± 1) °C de 15 minutes sous agitation (500 tr/min).



#### **ETAPE 3 : HYBRIDATION (1)**

Ajouter 90 µL de tampon d'hybridation et incubé 45 min à (50±1)°C à (500 tr/min)  
Rincer 2 fois puis laver 2 fois avec le tampon de lavage



#### **ETAPE 4 : REACTION AVEC LE CONJUGUE (1)**

Ajouter 100 µL de solution de conjugué et incubé 15 minutes à (37±1)°C  
sous agitation (500 tr/min). Laver 4 fois avec le tampon de lavage



#### **ETAPE 5 : AJOUT DU SUBSTRAT (1)**

Ajouter 100 µL de substrat et incubé 15 minutes à température ambiante à l'obscurité  
Lire les résultats au moyen d'un luminomètre

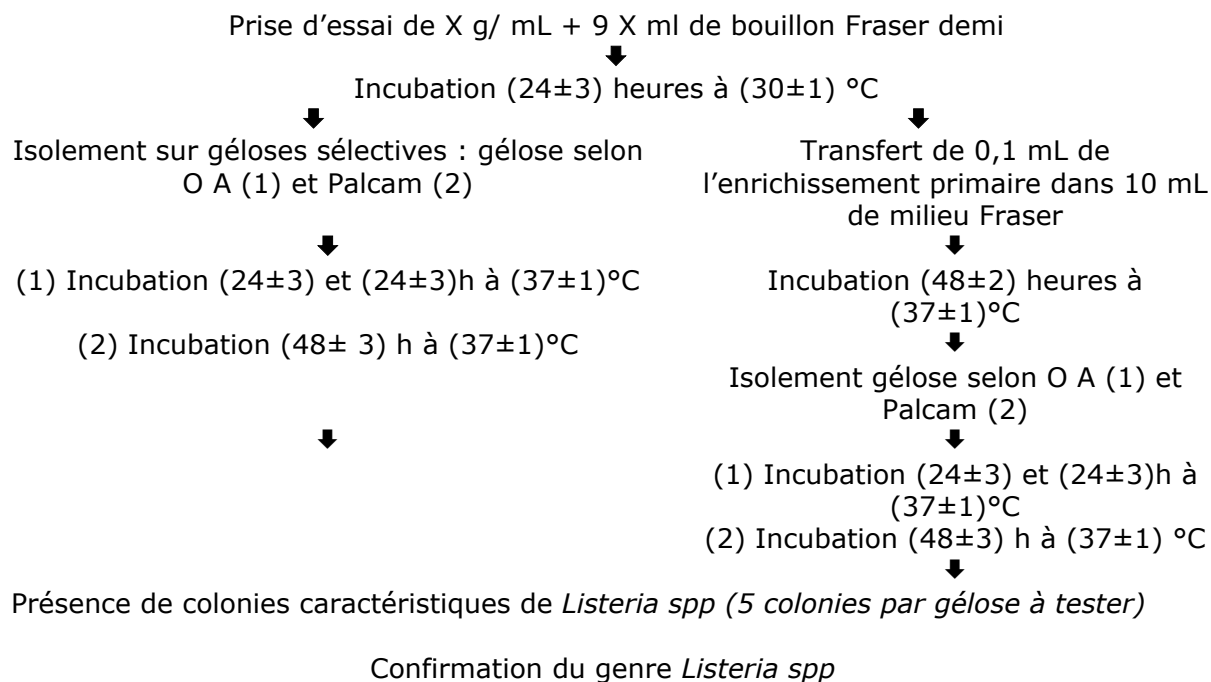
Remarque : (1) volumes pour des tests en microplaque

Tous les résultats positifs sont confirmés à partir de **100 µL** du bouillon d'enrichissement :

-soit en mettant en œuvre les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN, l'ISO (incluant l'étape de purification),  
-soit sur une gélose chromogénique de formulation Agar selon Ottaviani et Agosti, ou sur une gélose chromogénique issue d'une méthode bénéficiant de la marque AFNOR VALIDATION.

#### **4- Méthode de référence**

La norme EN ISO 11290-1 et EN ISO 11290-1/A1 (02/2005), méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Le protocole de la méthode est représenté ci-après.



Identification de l'espèce (recherche hémolyse, utilisation des glucides, test de CAMP)

### 5- Domaine d'application de la validation

Le domaine d'application est le suivant : tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement (hors environnement d'élevage).

Dans la catégorie des produits laitiers, les fromages de type Cantal et Salers sont exclus du domaine d'application de la méthode alternative.

## II – ETUDE PRELIMINAIRE (VALIDATION INITIALE, 2005)

### II.1- Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative

Des essais ont été effectués en 2005 sur 62 échantillons de produits laitiers avec 30 échantillons positifs (dont 50 % naturellement contaminés) et 32 échantillons négatifs. Tous les échantillons ont été analysés en simple par les deux méthodes.

Les types de matrices analysés sont répertoriés dans le tableau suivant.

Catégorie	Type	Nombre de positifs <sup>a</sup>	Nombre de négatifs	Total
Produits laitiers	Fromages au lait cru /lait cru	19	15	34
	Fromages et laits pasteurisés	8	17	25
	Produits fermentés	3	-	3
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>32</b>	<b>62</b>

a: Résultats positifs par l'une ou l'autre des deux méthodes

Les couples de résultats des méthodes de référence et alternative pour l'ensemble des produits sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau de résultats (produits laitiers):

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
<b>Méthode alternative positive (A+)</b>	PA = 25	PD = 2
<b>Méthode alternative négative (A-)</b>	ND = 3	NA = 32

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

A+ : positifs confirmés A- : négatifs immédiats et négatifs après confirmation quand présomptifs positifs

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

- **Exactitude relative** : 92%
- **Spécificité relative** : 89%
- **Sensibilité relative** : 94%

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

Pour la méthode de référence :	Pour la méthode alternative :
$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 93 \%$	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 90 \%$

Les résultats montrent l'existence de 5 résultats discordants : 3 déviations négatives avec deux échantillons naturellement contaminés et un échantillon artificiellement contaminé et 2 déviations positives avec deux échantillons de lait cru naturellement contaminés.

Selon l'annexe F de la norme NF EN 16140, le nombre de discordants Y étant inférieur à 6 ( $Y=PD+ND=5$ ), aucun test statistique ne doit être réalisé pour comparer les deux méthodes.

En conclusion, les performances de la méthode Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* apparaissent équivalentes à celles de la méthode de référence.

### **II.2- Niveau de détection relatif**

Des essais ont été effectués avec une matrice lait cru et une souche de *L. monocytogenes* (code L68) isolée du même type de matrice. Six répétitions ont été effectuées avec six niveaux de contamination dont le contrôle négatif.

Les résultats obtenus sont les suivants :

		Niveau de détection relatif selon le test de Spearman-Kärber (LOD <sub>50</sub> avec intervalle de confiance)	
Souche	Aliment	Méthode de référence	Méthode alternative
<i>L. monocytogenes</i>	Lait cru	0,5 <sup>a</sup> [0,4 ; 0,8]	1,9 [1,0 ; 3,6]

a : UFC dans 25 g (mL)

Les niveaux de détection relatifs obtenus pour la matrice lait cru varient de 0,4 à 0,8 UFC/g pour la méthode de référence et de 1,0 à 3,6 UFC/g pour la méthode alternative.

### **II.3- Inclusivité/exclusivité**

50 souches de *Listeria monocytogenes* et 34 souches non *L. monocytogenes* ont été testées.

L'ensemble des souches cibles a donné un résultat positif par la méthode alternative. Pour les souches non cibles, 4 souches [(*L. grayi* (L02), *L. innocua* (L51), *L. ivanovii* (L45) et *L. welshimeri* (L06)] ont donné un résultat positif en utilisant le bouillon TSB pour l'enrichissement. L'application du protocole complet de la méthode alternative montre que ces 4 souches donnent un résultat négatif.

Des réactions croisées ont été obtenues avec 3 autres souches [(*Lactobacillus casei* (R96), *Lactobacillus leichmanii* (R98) et *Lactobacillus plantarum* (R97)]. Ce résultat a été obtenu même en appliquant le protocole complet de la méthode alternative et des colonies suspectes ont été observées sur les milieux de culture utilisés pour la méthode de référence.

De ce fait 4 échantillons de produits probiotiques contenant une concentration importante de *Lactobacillus casei* ont été analysés par la méthode alternative et le résultat est négatif pour les 4 essais.

### **II.4- Praticabilité**

Délai d'obtention des résultats :

L'obtention des résultats positifs se fait en 4 à 7 jours avec la méthode alternative en incluant la confirmation par les tests classiques de la norme de référence, contre 4 à 12 jours avec la méthode de référence.

L'obtention des résultats négatifs se fait en 1 jour avec la méthode alternative contre 2 à 5 jours (voire 12 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 2 à 5 jours.

### **II.5- Essais complémentaires**

A la demande du Bureau Technique, des investigations complémentaires ont été effectuées sur les 3 souches de *Lactobacillus* ayant donné une réaction croisée avec la méthode alternative.

Des essais ont été réalisés avec différentes méthodes avec le même le lot de souches utilisé durant l'étude préliminaires et les résultats sont positifs. Mettant en doute la pureté de ce lot de souches, des essais ont été réalisés avec de nouvelles souches de *Lactobacillus* et les résultats obtenus avec la méthode alternative sont négatifs quelle que soit la souche testée.

### **III – ETUDE INTERLABORATOIRE (VALIDATION INITIALE, 2005)**

L'étude interlaboratoires a été réalisée en 2005 avec 10 laboratoires collaborateurs selon l'ancien référentiel des études préliminaire et collaborative d'Afnor certification (révision 7). Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de lait pasteurisé, contaminés artificiellement avec une souche de *Listeria monocytogenes* 1/2 b aux 4 niveaux suivants :

- niveau 0
- niveau compris entre 1 et 10 UFC par 25 mL,
- niveau compris entre 5 et 50 UFC par 25 mL,
- niveau compris entre 10 et 100 UFC par 25 mL,

Les laboratoires ont testé, par la méthode alternative, 8 échantillons (2 par niveau de contamination), soient 80 analyses au total pour l'ensemble des laboratoires collaborateurs.

#### **Résultats :**

Taux cibles (UFC/25 mL)	Taux réels (UFC/25 mL)	Résultats attendus		Résultats obtenus		Concordance en pourcentage
		NEGATIF	POSITIF	NEGATIF	POSITIF	
0	0	20	0	20	0	100
1 à 10	7	0	20	1	19	95
5 à 50	31	0	20	0	20	100
10 à 100	59	0	20	0	20	100

L'ensemble des données montre qu'un seul laboratoire a obtenu un résultat non attendu, il s'agit d'un échantillon faiblement contaminé. Les isollements à partir du bouillon d'enrichissement sur milieux sélectifs montrent l'absence de colonies caractéristiques pour cet échantillon ce qui suggérerait l'absence de cellule cible.

L'étude collaborative montre que le test Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* est fidèle avec un taux de concordance de 99% entre les résultats obtenus et les résultats attendus.

### **IV – ETUDE COMPARATIVE (ETUDE D'EXTENSION)**

Cette étude avait pour but d'évaluer les performances du test Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* par rapport à la méthode de référence pour l'ensemble des produits d'alimentation humaine (hors produits laitiers) et les échantillons d'environnement (hors environnement d'élevage).

Deux protocoles ont été testés, un protocole général et un protocole spécifique pour les produits crus. De plus, un protocole de confirmation des résultats présumés positifs a été testé à l'aide de deux milieux chromogéniques : ALOA et Rapid Lmono.

#### **IV.1- Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative**

Des essais ont été effectués en 2006 sur 242 échantillons : 50 % des échantillons positifs sont naturellement contaminés. Les catégories suivantes ont été étudiées :

- produits carnés,
- produits de la mer,
- produits végétaux,
- échantillons d'environnement.

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

Catégorie	Type	Nombre de positifs <sup>a</sup>	Nombre de négatifs	Total
Produits carnés	Viandes crues	11	12	23
	Volaille	7	7	14
	Charcuteries	12	11	23
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>60</b>
Produits de la mer	Poissons crus	20	14	34
	Fruits de mer	3	4	7
	Autres	7	12	19
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>60</b>
Produits végétaux	Végétaux crus	20	25	45
	Végétaux surgelés	2	0	2
	Végétaux cuisinés	12	2	14
	<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>27</b>	<b>61</b>
Echantillons d'environnement	Eaux diverses	8	3	11
	Prélèvement de surface	22	28	50
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>61</b>
	<b>Total</b>	<b>124</b>	<b>118</b>	<b>242</b>

a: Résultats positifs par l'une ou l'autre des deux méthodes

Les couples de résultats des méthodes de référence et alternative pour l'ensemble des produits sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau de résultats (tous produits hors produits laitiers) :

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
<b>Méthode alternative positive (A+)</b>	PA= 110	PD= 5
<b>Méthode alternative négative (A-)</b>	ND= 8	NA= 119

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

A+ : positifs confirmés A- : négatifs immédiats et négatifs après confirmation quand présomptifs positifs

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

- **Exactitude relative** : 95% (94%)\*
- **Spécificité relative** : 96% (96%)\*
- **Sensibilité relative** : 93% (92%)\*

\* : calculs tenant compte des produits laitiers

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

Pour la méthode de référence :	Pour la méthode alternative :
$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 96 \%$	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 93 \%$

L'ensemble des résultats montre l'existence de 13 résultats discordants : 8 déviations négatives (4 produits carnés, 1 produit végétal et 3 échantillons d'environnement) et 5 déviations positives (2 produits carnés et 2 produits de la mer et 1 produit végétal).

Selon l'annexe F de la norme NF EN 16140, le nombre de discordants Y étant de 13 (Y=5+8), avec m = 5 et M = 2 et sachant que m>M, les deux méthodes ne sont pas significativement différentes.

En conclusion, les performances du test Lumiprobe 24 *Listeria monocytogenes* apparaissent équivalentes à celles de la méthode de référence.

#### **IV.2- Niveau de détection relatif**

Des essais ont été effectués sur des couples souche matrice pour l'ensemble des catégories étudiées.

Six répétitions ont été effectuées avec six niveaux de contamination dont le contrôle négatif pour chaque catégorie.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Souche	Aliment	Niveau de détection relatif selon le test de Spearman-Kärber (LOD <sub>50</sub> avec intervalle de confiance)	
		Méthode de référence	Méthode alternative
<i>L. monocytogenes</i> 3 a	Saumon fumé	1,3 <sup>a</sup> [0,8 ; 2,1]	2,2 [1,4 ; 3,5]
<i>L. monocytogenes</i> ½ b	Rillettes	0,6 [0,4 ; 0,9]	0,9 [0,6 ; 1,5]
<i>L. monocytogenes</i> ½ c	Crudités	0,6 [0,4 ; 0,9]	0,7 [0,6 ; 0,9]
<i>L. monocytogenes</i> ½ a	Eau de rinçage	0,5 [0,3 ; 0,8]	0,6 [0,4 ; 2,0]

a : UFC dans 25 g (mL)

Les niveaux de détection relatifs obtenus pour la méthode alternative sont relativement identiques à ceux obtenus pour la méthode de référence, quel que soit le couple matrice/souche utilisé. La limite de détection de la méthode alternative se situe entre 0,4 et 3,5 UFC/25 g ou mL et la limite de détection de la méthode de référence se situe entre 0,3 et 2,1 UFC/25 g ou mL.

#### **IV.3- Inclusivité/exclusivité**

L'exclusivité n'a pas été réalisée et les résultats obtenus dans l'étude de validation initiale ont été reconduits. Les essais réalisés sur 50 souches de *Listeria monocytogenes* montrent que l'ensemble des souches testées a été détecté par la méthode alternative.

#### **IV.4- Praticabilité**

Délai d'obtention des résultats :

L'obtention des résultats positifs se fait en 2 à 7 jours avec la méthode alternative en incluant la confirmation par les tests classiques de la norme de référence, contre 4 à 12 jours avec la méthode de référence.

L'obtention des résultats négatifs se fait en 1 jour avec la méthode alternative contre 2 à 5 jours (voire 12 jours) avec la méthode de référence.

### **V – ETUDE INTERLABORATOIRE (ETUDE D'EXTENSION)**

L'étude interlaboratoire a été réalisée en 2006 avec 11 laboratoires collaborateurs selon le référentiel NF EN ISO 16140.

Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de pâté, contaminés artificiellement avec une souche de *Listeria monocytogenes* 1/2 b isolée à partir d'une charcuterie aux 3 niveaux suivants :

- niveau 0
- niveau légèrement supérieur au niveau de détection relatif (3 CFU /25g)
- niveau 10 fois supérieur au niveau précédent (30 CFU /25g)

Les laboratoires ont testé, par les deux méthodes, 8 réplicats pour chaque niveau de contamination, soient 528 analyses au total pour l'ensemble des laboratoires collaborateurs.

#### **Résultats :**

Niveaux de contamination	Nombre total d'échantillons	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de résultats exploités	Nombre de résultats -		Nombre de résultats +	
				REF	ALT	REF	ALT
0	88	88	80	80	80	0	0
1	88	88	80	1	1	79	79
2	88	88	80	0	0	80	80

Les résultats d'un laboratoire n'ont pas été exploités car 5 résultats discordants ont été observés (échantillons négatifs ont été donnés positifs). Le laboratoire évoque une erreur de manipulation avec un risque important de contamination croisée. En effet, l'identification de la souche de *L. monocytogenes*, isolée de ces échantillons, montre qu'il s'agit du même sérotype que la souche utilisée pour la contamination artificielle.

### Calculs

	Etude collaborative	Etude préliminaire
Exactitude relative	99%	94%
Spécificité relative	100%	96%
Sensibilité relative	99%	92%

Les résultats de l'étude collaborative sont supérieurs 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), comme suit :

Pour la méthode de référence :	Pour la méthode alternative :
$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 100\%$	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 99\%$

### Degré d'accord, concordance et odds ratio :

Le tableau suivant indique les valeurs pour la méthode alternative.

Niveau de contamination	Degré d'accord	Concordance	COR
L0	100%	100%	1
L1	98%	97%	1,52
L2	100%	100%	1

Le tableau suivant indique les valeurs pour la méthode de référence.

Niveau de contamination	Degré d'accord	Concordance	COR
L0	100%	100%	1
L1	100%	100%	1
L2	100%	100%	1

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

### **VI – CONCLUSION**

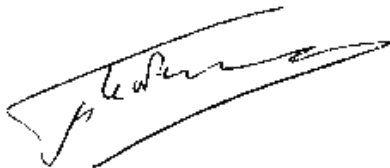
Les performances du test Lumiprobe 24 *L. MONOCYTOGENES* sont comparables à celles de la méthode de référence EN ISO 11290-1 et EN ISO 11290-1/A1 (02/2005). Cette étude a porté sur 304 échantillons des différentes catégories testées (produits laitiers inclus).

L'exactitude relative obtenue est de 94 %, la sensibilité relative est de 92 % (97%), et la spécificité relative est de 96%. 18 résultats discordants ont été obtenus : 7 résultats positifs supplémentaires et 11 résultats faux négatifs.

Le niveau de détection relatif du Lumiprobe 24 *L. MONOCYTOGENES* et de la méthode de référence a été évalué pour l'ensemble des catégories. Il varie de 0,6 à 2,2 CFU / 25 g (mL) de produit et de 0,5 à 1,3 CFU / 25 g (mL) de produit respectivement pour la méthode alternative et pour la méthode de référence.

La spécificité du Lumiprobe 24 *L. MONOCYTOGENES* est satisfaisante.

Les valeurs de l'exactitude relative, de la sensibilité relative et de la spécificité relative obtenues suite à l'étude collaborative sont comparables à celles obtenues lors de l'étude préliminaire. La variabilité de la méthode alternative, mise en évidence par les calculs du degré d'accord, de la concordance et des *odds ratio*, est similaire à celle de la méthode de référence.



Fait à Massy, le 25 février 2010  
François Le Nestour  
*Ingénieur de Recherche*