

OXOID THERMO FISHER SCIENTIFIC
6 route de Paisy
69571 DARDILLY

Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse
Application à la microbiologie alimentaire

Rapport de synthèse

Etude de reconduction ISO 16140
de la méthode OXOID *Listeria* Rapid Test (OLRT)

Ce rapport comprend 30 pages dont 5 annexes.

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale.

L'accréditation du COFRAC atteste de la compétence du laboratoire pour les seuls essais couverts par l'accréditation qui sont identifiés par le symbole♦.

Version 0
24 mai 2011






ADRIA DEVELOPPEMENT

Creac'h Gwen - F. 29196 QUIMPER Cedex - Tél. (33) 02.98.10.18.18 - Fax (33) 02.98.10.18.08

E-mail : adria.developpement@adria.tm.fr - Site web : <http://www.adria.tm.fr>

ASSOCIATION LOI DE 1901 - N° SIRET 306 964 271 00036 - N° EXISTENCE 532900006329 - N°TVA FR4530696427100036

Sommaire

1	RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE _____	4
1.1	Date de la première validation et date de reconduction _____	4
1.2	Protocole et principe de la méthode alternative _____	4
1.3	Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée ____	4
1.4	Historique de la validation et principaux résultats obtenus _____	5
1.4.1	<i>Etude comparative des méthodes</i> <i>(réalisée par l'Institut Pasteur de Lille)</i> _____	5
1.4.2	<i>Etude interlaboratoire</i> <i>(réalisée par l'Institut Pasteur de Lille)</i> _____	13
1.4.3	<i>Praticabilité</i> _____	20
1.4.4	<i>Conclusion</i> _____	22
1.5	Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation _____	22
2	Etude bibliographique _____	22
	<i>Annexe 1 - Méthode de référence NF EN ISO 11290-1/A1 : méthode de recherche de Listeria monocytogenes</i> _____	23
	<i>Annexe 2 - Méthode alternative</i> _____	24
	<i>Annexe 3 - Exclusivité / Inclusivité : résultats</i> _____	25
	<i>Annexe 4 - Degré d'accord</i> _____	27
	<i>Annexe 5 - Concordance</i> _____	29

Avant Propos

L'ensemble des renseignements permettant de valider la garantie des analyses sera tenu à la disposition de la Société OXOID THERMO FISHER SCIENTIFIC.

Les résultats seront synthétisés au sein de tableaux et interprétés selon la norme NF EN ISO 16140.

- ✓ **Fabricant :** SOCIETE OXOID
6 route de Paisy
69571 DARDILLY

- ✓ **Laboratoire expert :** ADRIA Développement
ZA Creac'h Gwen
29196 QUIMPER Cedex

- ✓ **Méthode à valider :** Méthode OXOID *Listeria* Rapid Test (OLRT) pour la détection de *Listeria* spp.

- ✓ **Référentiel de validation :** Norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003) : microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives

- ✓ **Méthode de référence[♦] :** Norme NF EN ISO 11290-1/A1 (2005) : Méthode horizontale pour la recherche de *Listeria monocytogenes*

- ✓ **Etendue de la validation :** Tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement

- ✓ **Organisme de validation :** AFNOR

[♦] Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

1 RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE

1.1 Date de la première validation et date de reconduction

La méthode OXOID *Listeria* Rapid Test (OLRT) a été validée pour tous les produits d'alimentation humaine et échantillons de l'environnement le 11 avril 1995 (n° attestation UNI 03/02 - 04/95) et reconduite le 3 juillet 2007. La validité expire le 11 avril 2011.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

Le protocole est donné en annexe 1. La méthode alternative comprend :

- une étape d'enrichissement en Fraser demi (24 h – 26 h à 30°C),
- un repiquage de 0,1mL en bouillon BLEB, incubé 24 h – 26 h à 30°C.

Deux options de confirmation sont possibles :

- isolement sur gélose Palcam ou Oxford avec identification des colonies suspectes par les tests classiques décrits dans la méthode de référence,
- isolement sur gélose chromogène OCLA, l'aspect typique de *Listeria* sur la gélose confirmant le résultat positif du test OLRT.

1.3 Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée

La méthode de référence est la norme NF EN ISO 11290-1/A1[♦] « Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* – Partie 1 : méthode de recherche ». Le protocole est présenté en Annexe 2.

[♦] Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

1.4 Historique de la validation et principaux résultats obtenus

La méthode Oxoid *Listeria* Rapid Test est validée sous le numéro d'attestation UNI-03/2-04/95 :

- avril 1995 : validation initiale pour l'alimentation humaine,
- avril 1999 : reconduction pour l'alimentation humaine,
- juin 2003 : reconduction pour l'alimentation humaine, incluant une possibilité de confirmation des test positifs sur gélose OCLA.

Les méthodes de référence utilisées étaient les suivantes :

- validation initiale : norme expérimentale V 08-055 (1993) « Recherche de *Listeria monocytogenes* – Méthode de routine »
- reconductions : NF EN ISO 11290-1 (1997) « Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* – Partie 1 : Méthode de recherche ».

Deux modifications ont eu lieu depuis les précédentes études de reconduction et d'extension :

- modification du référentiel de validation : application de la norme EN ISO 16140,
- modification de la méthode de référence en 2004, avec la modification des milieux d'isolement.

L'étude de reconduction a donc été revue afin d'être conforme aux référentiels en vigueur en 2007.

1.4.1 **Etude comparative des méthodes (réalisée par l'Institut Pasteur de Lille)**

1.4.1.1 *Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative*

L'objectif de cette étude, selon le référentiel EN ISO 16140, est de comparer les performances des deux méthodes, la méthode de référence NF EN ISO 11290-1 :2005 et la méthode OLRT.

☐ **Nombre et nature des échantillons**

Selon la norme EN ISO 16140, un minimum de 60 produits par catégorie doit être analysé, avec environ 50% de produits positifs (au moins 30 résultats) et 50% de produits négatifs.

Chaque catégorie a été divisée en différents types et les résultats se répartissent de la manière suivante :

Catégories	Types	Positifs*	Négatifs	Total
Produits carnés	crus	7	4	11
	crus et préparés, prêts à cuire	13	8	21
	charcuteries, plats cuisinés, ...	10	19	29
	Total	30	31	61
Produits laitiers	fromages au lait de vache	10	14	24
	fromages au lait de chèvre ou de brebis	9	8	17
	desserts, poudres de lait, laits crus	11	10	21
	Total	30	32	62
Produits de la pêche	filets de poissons frais et crustacés	15	17	33
	poissons fumés	8	12	20
	plats cuisinés à base de poisson	7	8	15
	Total	30	37	67
Produits végétaux	surgelés	11	7	18
	frais ou 4ème gamme	11	11	22
	légumes cuits, préparés	8	18	26
	Total	30	36	66
Environnement	eaux diverses	11	5	16
	prélèvements de surface	12	21	33
	résidus	7	7	14
	Total	30	33	63
TOTAL		150	169	319

* il s'agit des résultats positifs par l'une ou l'autre des méthodes

Contamination artificielle des échantillons et pourcentage

Des contaminations artificielles ont été réalisées à l'aide de souches stressées selon les exigences de la norme EN ISO 16140 et du bureau technique de la validation AFNOR.

Elles concernent 44 résultats positifs. Au total, sur 150 résultats positifs en *Listeria spp.*, 29 % ont été obtenus suite à des contaminations artificielles.

Résultats des essais

Les analyses ont été réalisées en simple par les deux méthodes. Les résultats obtenus pour les 319 échantillons analysés se répartissent de la manière suivante :

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 144	Déviations positives (R-/A+) PD = 1
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 5*	Accord négatif (A-/R-) NA = 169**
Total	149	170

A+ = positifs confirmés

A- = négatifs immédiats et négatifs après confirmation quand présomptifs positifs

* dont aucun résultat positif non confirmé

** dont 1 résultat positif non confirmé après isolement du bouillon BLEB

Les tableaux de résultats par catégorie d'échantillons figurent ci-dessous :

Produits carnés (61)		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 28	Déviations positives (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 2	Accord négatif (A-/R-) NA = 31

Produits laitiers (62)		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 29	Déviations positives (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 1	Accord négatif (A-/R-) NA = 32

Produits de la pêche (67)		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 30	Déviations positives (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 0	Accord négatif (A-/R-) NA = 37

Produits végétaux (66)		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 28	Déviations positives (R-/A+) PD = 1
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 1	Accord négatif (A-/R-) NA = 36

Prélèvements d'environnement (63)		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 29	Déviations positives (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 1	Accord négatif (A-/R-) NA = 33

□ **Calcul de l'exactitude relative, de la spécificité relative et de la sensibilité relative**

L'ensemble de ces résultats permet de calculer l'exactitude relative, la sensibilité relative et la spécificité relative pour chacune des catégories et pour l'ensemble des catégories, selon les formules de la norme EN ISO 16140.

Catégorie	PA	NA	ND	PD	Somme N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA)]/N	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA]/N+	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA]/N-
Produits carnés	28	31	2	0	61	96,7	30	93,3	31	100,0
Produits laitiers	29	32	1	0	62	98,4	30	96,7	32	100,0
Produits de la Pêche	30	37	0	0	67	100,0	30	100,0	37	100,0
Produits végétaux	28	36	1	1	66	97,0	29	96,6	37	97,3
Environnement	29	33	1	0	63	98,4	30	96,7	33	100,0
TOTAL	144	169	5	1	319	98,1	149	96,6	170	99,4

Pour la méthode alternative, les valeurs en pourcentage calculées pour les trois critères suivants selon la norme NF EN ISO 16140 sont :

<i>exactitude relative</i> : AC	98,1 %
<i>spécificité relative</i> : SP	99,4 %
<i>sensibilité relative</i> : SE	96,9 %

La sensibilité des deux méthodes 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 :
sensibilité	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 96,7 \%$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 99,3 \%$

Analyse des discordances

6 résultats discordants entre la méthode de référence et la méthode alternative ont été obtenus.

Selon l'annexe F de la norme EN ISO 16140, le nombre de discordants pour lequel un test statistique doit être réalisé afin de comparer les deux méthodes est de 6.

Il s'agit donc de déterminer M, en fonction du nombre total de discordants et en fonction de la norme ISO 16140 (annexe F) et de comparer M à une valeur m, plus petite des deux valeurs de PD et de ND.

Les deux méthodes seront considérées comme équivalentes si $m > M$.

Nombre de résultats discordants	M	m	Conclusion
6	0	1	Equivalence

Les deux méthodes sont considérées comme équivalentes.

Commentaires sur la conservation des bouillons BLEB pendant 72 heures à 2-8°C

Les échantillons positifs ont été retestés par le test OLRT et reconfirmés après une conservation du bouillon BLEB pendant 72 heures à 2-8°C. Globalement, les résultats sont équivalents à ceux retrouvés lorsque le test est réalisé directement après incubation.

- Deux résultats faux négatifs deviennent positifs concordants
- Un résultat positif concordant avec la méthode de référence devient faux négatif : il s'agit d'un prélèvement d'environnement naturellement contaminé par *Listeria seeligeri*. Il est à noter que pour cet échantillon, la confirmation sur gélose OCLA s'était révélée négative et que ces *Listeria seeligeri* n'avaient pu être mises en évidence qu'après isolement du bouillon BLEB sur gélose PALCAM, et en faible quantité. La souche n'a peut-être pas survécu lors de la conservation du bouillon BLEB.
- Le résultat faux positif de l'échantillon de crevettes est devenu négatif concordant. Il est possible qu'il y ait eu un problème de manipulation lors du premier test, d'autant plus qu'aucune colonie n'a été retrouvée sur les géloses sélectives isolées à partir du bouillon BLEB.

Enfin, les identifications réalisées suite à la conservation du bouillon BLEB sont identiques à celles réalisées directement après incubation, sauf un échantillon de terrine de poisson pour lequel deux espèces de *Listeria* avaient été identifiées en première confirmation (*Listeria monocytogenes* et *Listeria innocua*) et seule *Listeria innocua* a été retrouvée en deuxième confirmation.

❑ **Commentaires sur les confirmations**

Les isolements du bouillon BLEB sur gélose OCLA, après un test OLRT positif, ont toujours permis d'observer des colonies typiques de *Listeria*, sauf pour deux échantillons (un résultat non confirmé positif et un prélèvement d'environnement contaminé par *Listeria seeligeri*).

Il est à noter que pour un échantillon de chipolatas, un échantillon de filet de saumon et un échantillon de chou rouge vinaigrette, il a été nécessaire de réincuber le bouillon BLEB pendant 24 supplémentaires pour retrouver des colonies typiques de *Listeria* (*Listeria welshimeri*, *Listeria welshimeri* et *Listeria innocua* respectivement).

Enfin, pour un échantillon de fromage de chèvre contaminé artificiellement par *Listeria monocytogenes*, il a été nécessaire d'incuber les géloses OCLA 48 heures afin de bien distinguer les halos. En 24 heures d'incubation, les colonies étaient trop petites pour statuer.

Les galeries d'identification ont été réalisées à partir des colonies typiques isolées sur gélose OCLA sans que cela ne pose de problème d'interprétation.

1.4.1.2 Niveau de détection relatif

L'objectif est de déterminer le niveau de contamination pour lequel moins de 50% des réponses obtenues sont positives et celui pour lequel plus de 50% des réponses obtenues sont positives.

Différents couples « matrice alimentaire-souche » doivent être étudiés en parallèle avec la méthode de référence et la méthode OLRT, pour cinq catégories.

Ces essais n'ont pas été réalisés lors des études précédentes.

Les contaminations artificielles ont été réalisées selon les exigences de la norme EN ISO 16140 et du Bureau Technique Microbiologie.

Les niveaux de détection, calculés selon la méthode de Spearman – Kärber (LOD50), obtenus pour chaque combinaison « matrice – souche » sont les suivants :

Couples (souche, matrice)	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g ou 25 ml) selon le test de Spearman-Kärber ¹	
	Méthode de référence	Méthode alternative
Rillettes / <i>L. welshimeri</i>	0,4 [0,2 – 0,8]	0,4 [0,2 – 0,8]
Lait cru / <i>L. ivanovii</i>	0,4 [0,3 – 0,7]	0,4 [0,3 – 0,7]
Saumon fumé / <i>L. monocytogenes</i> 1/2a	0,6 [0,4 – 0,9]	0,6 [0,4 – 0,9]
Mélange de légumes crus / <i>L. monocytogenes</i> 4b	0,8 [0,5 – 1,3]	0,8 [0,5 – 1,3]
Eau de process / <i>L. innocua</i>	0,5 [0,3 – 0,9]	0,5 [0,3 – 0,9]

Le niveau de détection obtenu pour la méthode alternative est identique à celui obtenu pour la méthode de référence : il est compris entre à 0,2 et 1,3 cellules par 25 grammes.

1.4.1.3 Inclusivité / exclusivité

L'inclusivité et l'exclusivité de la méthode sont définies par l'analyse, respectivement, de 50 souches positives et de 30 souches négatives.

50 souches de *Listeria* et 42 souches non *Listeria* ont été testées à partir d'une culture en BLEB sans antibiotique :

- aucune réaction croisée n'a été observée
- à l'exception d'une souche de *Listeria grayi* qui n'a pas été mise en évidence (fait partie des restrictions d'emploi), l'ensemble des *Listeria* testées a été détecté.

Les résultats sont détaillés en annexe 3.

La méthode est sélective et spécifique.

¹ "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".

1.4.2 Etude interlaboratoire (réalisée par l'Institut Pasteur de Lille)

1.4.2.1 Organisation de l'étude

12 laboratoires étaient destinataires des échantillons.

La matrice « lait pasteurisé » a été utilisée pour la réalisation de l'étude interlaboratoire.

La souche utilisée pour les contaminations est une souche de *Listeria innocua* (L64), origine « fromage au lait cru ».

24 échantillons par laboratoire ont été préparés, répartis en 3 niveaux, avec 8 échantillons par niveau.

1.4.2.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

Taux de contamination obtenus après contamination artificielle

Les taux de contaminations obtenus et les estimations des précisions figurent dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (b/25ml)	Taux réel (b/25ml d'échantillon)	Estimation de la limite inférieure de la contamination	Estimation de la limite supérieure de la contamination
Niveau 0 (L0)	1-4-7-8- 13-16-17-22	0	0	/	/
Niveau bas (L1)	2-5-9-10 14-18-19-23	3	3,6	2,1	5,7
Niveau haut (L2)	3-6-11-12- 15-20-21-24	30	41,8	36	48

Problèmes de température relevée au cours du transport, température à réception et délais de réception

- Analyse des courbes de suivi de température au cours du transport

Les courbes de températures obtenues suite à l'exploitation des données des thermoboutons montrent que les températures sont stables au cours du transport et comprises entre 1,7°C et 9,2°C pour l'ensemble des laboratoires.

- *Températures à réception et délais de réception*

Les températures obtenues sont reprises dans les tableaux ci-dessous :

Laboratoire	Températures à réception (°C)		Commentaires
	communiquée par le laboratoire	indiquée par le thermobouton	
A	6,5	3,6	Echantillons caillés (2,5,9,10,18,19,23,PCA)
B	4,5	4,6	/
C	6,5	5,1	/
D	2,3	1,7	/
E	5,1	2,7	/
F	2,5	1,7	/
G	13,2	2,1	/
H	4,1	4,2	Echantillons caillés
I	8,0	9,2	/
J	2,1	3,6	Echantillons caillés (3,6,11,12,15,20,21,24)
K	4,7	3,1	/
L	11,5	4,2	/

□ **Conclusion : description des problèmes éventuels rencontrés et motif d'exclusion des laboratoires**

Parmi les 12 laboratoires, le laboratoire L avait annoncé une température à réception de 11,5°C et le laboratoire G, une température à réception de 13,2°C. L'analyse de la température pendant le transport et à réception montre une température comprise entre -0,9°C et 5,0°C pour le laboratoire L et comprise entre -1,4°C et 0°C pour le laboratoire G. Leurs résultats peuvent donc être exploités.

Les laboratoires A, H et J ont annoncé la présence d'échantillons caillés probablement dus à une flore interférente importante. Il conviendra donc de prendre ce paramètre en compte lors de l'exploitation des résultats.

Le laboratoire I avait annoncé une température à réception de 8,0°C. Suite à l'analyse du thermobouton, il a en fait reçu les échantillons à une température de 9,2°C. Ses résultats ne sont donc pas exploités.

Parmi les 12 laboratoires participants, il est donc possible d'analyser les résultats de 11 laboratoires à l'issue des conditions relatives au transport.

1.4.2.3 Résultats des analyses

 Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Les résultats positifs après confirmation obtenus par les laboratoires collaborateurs sont repris dans les tableaux suivants :

Résultats positifs obtenus par la méthode de référence

Laboratoires	Niveaux de contamination					
	L0		L1		L2	
	Obtenu	Nb échantillons	Obtenu	Nb échantillons	Obtenu	Nb échantillons
Laboratoire A	0	8	8	8	8	8
Laboratoire B	0	8	8	8	8	8
Laboratoire C	0	8	8	8	8	8
Laboratoire D	0	8	8	8	8	8
Laboratoire E	0	8	8	8	8	8
Laboratoire F	0	8	8	8	8	8
Laboratoire G	0	8	8	8	8	8
Laboratoire H	0	8	8	8	8	8
Laboratoire I	0	8	8	8	8	8
Laboratoire J	0	8	8	8	8	8
Laboratoire K	0	8	8	8	8	8
Laboratoire L	0	8	8	8	8	8
Total (résultats exploités)	0	88	88	88	88	88
	(a)		(b)		(c)	

Résultats positifs obtenus par la méthode alternative

Laboratoires	Niveaux de contamination					
	L0		L1		L2	
	Obtenu	Nb échantillons	Obtenu	Nb échantillons	Obtenu	Nb échantillons
Laboratoire A	0	8	8	8	8	8
Laboratoire B	0	8	8	8	8	8
Laboratoire C	0	8	8	8	8	8
Laboratoire D	0	8	8	8	8	8
Laboratoire E	0	8	7	8	8	8
Laboratoire F	0	8	8	8	8	8
Laboratoire G	0	8	8	8	8	8
Laboratoire H	0	8	8	8	8	8
Laboratoire I	0	8	8	8	8	8
Laboratoire J	0	8	8	8	8	8
Laboratoire K	0	8	8	8	8	8
Laboratoire L	0	8	8	8	8	8
Total (résultats exploités)	0	88	87	88	88	88
	(a)		(b)		(c)	

(a) : faux positif

(b) : vrai positif obtenu au niveau 1

(c) : vrai positif obtenu au niveau 2

Les résultats de la méthode de référence et de la méthode alternative sont **concordants** entre la méthode de référence et la méthode alternative pour **10** laboratoires.

Il est à noter que le laboratoire J a retrouvé six des échantillons contaminés au taux fort, douteux par la méthode alternative (un signal faible dans la fenêtre « résultat » du test OLRT a été signalé). Néanmoins, il a considéré ces résultats comme suspects et a engagé les confirmations qui se sont révélées positives. Ce laboratoire avait signalé que les échantillons concernés étaient arrivés « caillés » à leur arrivée. L'importance de la flore interférente a vraisemblablement influencé la nature du résultat OLRT.

Quant au onzième laboratoire, le laboratoire E, il a retrouvé un échantillon contaminé au faible taux, négatif par la méthode alternative et positif par la méthode de référence.

1.4.2.4 Calculs

☐ Calcul des pourcentages de spécificité (%SP) et de sensibilité (%SE) pour les deux méthodes

Les pourcentages de spécificité (SP) et de sensibilité (SE) pour les deux méthodes ont été calculés selon les formules données par la norme EN ISO 16140.

Pour le niveau L0, il est demandé de calculer le pourcentage de spécificité (%SP) de chacune des méthodes :

$$SP = \{1 - (FP/N_-)\} \times 100$$

avec FP, nombre de faux positifs
N₋, nombre total des essais L0

Pour les niveaux L1 et L2, il est demandé de calculer le pourcentage de sensibilité (%SE) de chacune des méthodes, par rapport au nombre de résultats positifs attendus :

$$SE = (TP/N_+) \times 100$$

avec TP, nombre de vrais positifs
N₊, nombre total des essais L1 ou L2

Les résultats sont repris dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Méthode de référence		Méthode alternative	
	SP/SE	LCL* %	SP/SE	LCL* %
L0	SP % = 100	98	SP % = 100	98
L1	SE % = 100	98	SE % = 98,9	96
L2	SE % = 100	98	SE % = 100	98
L1 + L2	SE % = 100	98	SE % = 99,5	98

* LCL : low critical value, définie par la norme ISO 16140

Calcul de l'exactitude relative (AC)

L'exactitude relative est calculée selon la formule suivante :

$$AC = \{(PA + NA) / N\} \times 100$$

avec PA, nombre d'accords positifs

NA, nombre d'accords négatifs

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)	Total
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 191	Déviaton positive (R-/A+) PD = 0	(N+) = 191
Méthode alternative négative (A-)	Déviaton négative (A-/R+) ND = 1 *	Accord négatif (A-/R-) NA = 96*	(N-) = 97
TOTAL	(N+) = 192	(N-) = 96	N = 288

* dont aucun échantillon positif, non confirmé

Dans cette étude, l'exactitude relative est de 99,7%.

Etude des résultats discordants

Selon l'annexe F de la norme EN ISO 16140, le nombre de discordants au delà duquel un test statistique doit être réalisé afin de comparer les deux méthodes est de 6. Ce test statistique n'est donc pas mis en œuvre puisqu'une seule discordance entre les deux méthodes a été observée.

1.4.2.5 Interprétation

Comparaison des valeurs d'exactitude relative(AC), de spécificité (SP) et de sensibilité (SE)

Les valeurs obtenues dans les deux parties de l'étude de validation sont reportées dans le tableau ci-dessous :

	Etude interlaboratoire	Etude comparative des méthodes
Exactitude relative (AC)	99,7 %	98,1 %
Sensibilité (SE)	99,5 %	99,4 %
Spécificité (SP)	100,0 %	96,6 %

Les valeurs obtenues suite à l'étude interlaboratoire sont du même ordre que celles obtenues lors de l'étude comparative des méthodes pour l'exactitude relative et la spécificité.

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

	Méthode alternative	Méthode de référence
Sensibilité	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 99,5 \%$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 100 \%$

Degré d'accord (DA)

Le degré d'accord est le pourcentage de chances de trouver le même résultat pour deux prises d'essai identiques analysées dans le même laboratoire dans des conditions de répétabilité, c'est-à-dire un seul opérateur utilisant le même appareillage et les mêmes réactifs dans l'intervalle de temps le plus court possible.

Pour calculer le degré d'accord, il faut calculer la probabilité que deux échantillons identiques donnent le même résultat, et ceci pour chacun des laboratoires participants, et déterminer ensuite la moyenne des probabilités de l'ensemble des laboratoires.

Les différents tableaux permettant de déduire le degré d'accord figurent en annexe 4 et les degrés d'accord pour chacune des méthodes, à chacun des niveaux sont repris dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	DA % = 100	DA % = 100
L1	DA % = 100	DA % = 98
L2	DA % = 100	DA % = 100

Concordance

La concordance est le pourcentage de chances de trouver le même résultat pour deux échantillons identiques analysés dans deux laboratoires différents. Il s'agit donc de calculer le pourcentage de toutes les paires donnant les mêmes résultats sur toutes les paires possibles de résultats.

Les tableaux de résultats permettant de réaliser ces calculs figurent en annexe 5 et les pourcentages de concordance pour chacune des méthodes et à chacun des niveaux sont repris dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	Concordance % = 100	Concordance % = 100
L1	Concordance % = 100	Concordance % = 97,8
L2	Concordance % = 100	Concordance % = 100

☐ **Odds Ratio (COR)**

Il est calculé selon la formule suivante :

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

Les odds ratio pour chacune des méthodes et à chacun des niveaux figurent dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	COR = 1,00	COR = 1,00
L1	COR = 1,00	COR = 1,15
L2	COR = 1,00	COR = 1,00

Une valeur pour le odds ratio de 1,00 signifie que le degré d'accord et la concordance sont égaux. Plus le Odds ratio est élevé, plus la variation interlaboratoire est prédominante.

1.4.3 Praticabilité

La praticabilité est étudiée en fonction des 13 critères définis par le bureau technique en comparant la méthode de référence à la méthode OLRT.

Les critères définis par l'AFNOR sont renseignés ci-dessous :

1. Mode de conditionnement des éléments de la méthode (cf notice)	Les 50 tests unitaires et les 3 flacons de contrôles positifs sont conditionnés en coffrets.
2. Volume des réactifs (cf notice et emballage des flacons)	Les tests unitaires sont conditionnés individuellement. Les contrôles positifs sont à reconstituer dans 2ml d'eau distillé stérile.
3. Condition de stockage des éléments (cf notice) – Péréemption des produits non ouverts (cf notice)	La température de stockage est de 2-8 °C. Les péremptions sont précisées sur le coffret et sur chaque test unitaire.
4. Modalités d'utilisation après première utilisation (cf notice)	Les contrôles positifs reconstitués peuvent être conservés à 2-8°C pendant 4 mois.
5. Equipements ou locaux spécifiques nécessaires (cf notice)	- étuve à 30°C - bain d'eau bouillante à 80°C
6. Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer (cf notice)	Seuls les contrôles positifs sont à reconstituer.
7. Durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode	Pour un opérateur formé aux techniques classiques de microbiologie, la formation à la technique ne nécessite aucune formation particulière.

8. Temps réel de manipulation - Flexibilité de la méthode par rapport au nombre d'échantillons à analyser

Etapas	Temps moyen pour un échantillon (min)		Temps moyen pour 30 échantillon (min)	
	Norme	Alternative	Norme	Alternative
Préparation, pesée, dilution et broyage	7	7	90	90
Repiquage sur bouillons sélectif	1	1	20	20
Isolement du Fraser ½ et du Fraser sur géloses sélectives : Agar Listeria et autre milieu	2	/	30	/
Lectures et sélection des colonies à identifier	2	/	15	/
Réalisation du test OLRT	/	1	/	20
TOTAL (par échantillon)	12 minutes	9 minutes	5,2 minutes	4,3 minutes

Dans le cas d'échantillons positifs, il faut rajouter le temps nécessaire aux confirmations. Le temps moyen pour la confirmation d'une colonie suspecte à partir d'une gélose sélective a été estimé à environ 5 minutes.

Pour la méthode alternative, il faut ajouter le temps nécessaire à l'isolement sur gélose sélective, soit environ 1 minute par échantillon.

L'intérêt de la méthode alternative réside notamment dans la possibilité de trier les échantillons négatifs des échantillons suspects et d'alléger ainsi les confirmations, ainsi que dans le gain de temps technique lorsqu'il s'agit d'analyser des séries d'échantillons.

9. Délai d'obtention des résultats

échantillons négatifs

Etape	Délai obtenu méthode OLRT	Délai obtenu méthode ISO 11290-1
Réalisation du l'enrichissement primaire	J0	J0
Ensemencements des différents bouillons d'enrichissement secondaire	J1	J1
Réalisation du test OLRT	J2	/
Isolement des bouillons sélectifs sur géloses sélectives	/	J1 & J3
Obtention des résultats négatifs		
- si aucune colonie caractéristique		
- si test OLRT négatif	J2	J5

échantillons positifs :

Etape	Délai obtenu méthode OLRT	Délai obtenu méthode ISO 11290-1
Réalisation du l'enrichissement primaire	J0	J0
Ensemencements des différents bouillons d'enrichissement secondaire	J1	J1
Réalisation du test OLRT et isolement sur géloses sélectives	J2	/
Isolement des bouillons sélectifs sur géloses sélectives	/	J1 & J3
Tests de confirmation :		
Genre		
- Isolement sur TSAYE, si nécessaire	J3	J2 à J5
- Gram, catalase	J3 à J4	J3 à J6
Espèce		
- Camp-test, hémolyse, bouillon TSBYE	J4	J3 à J6
- Utilisation des glucides	J4 à J5	J3 à J7
ou		
- réalisation d'une galerie	J3	J3 à J6
Obtention des résultats positifs		
Genre :		
- lecture des géloses OCLA	J3 à J4	
- tests de la méthode de référence	J3 à J4	J3 à J6
Espèce		
- après confirmation par les tests de la méthode de référence	J9 à J10	J9 à J11
- si utilisation de galeries miniaturisées	J4	J4 à J7

10. Type de qualification de l'opérateur	niveau identique à celui nécessaire pour la méthode de référence
11. Etapes communes avec la méthode de référence	étape d'enrichissement primaire en Fraser ½
12. Traçabilité des résultats d'analyse	/
13. Maintenance par le laboratoire	/

1.4.4 Conclusion

L'étude de validation a été réalisée selon le référentiel EN ISO 16140.

L'étude comparative des méthodes a permis d'obtenir des résultats :

- d'exactitude relative, de spécificité relative et de sensibilité relative,
- de niveau de détection relative,
- d'inclusivité et d'exclusivité.

Les résultats de **l'étude interlaboratoire** obtenus pour l'ensemble des 11 laboratoires retenus montrent que la variabilité de la méthode alternative (degré d'accord, concordance, odds ratio) est identique à celle de la méthode de référence.

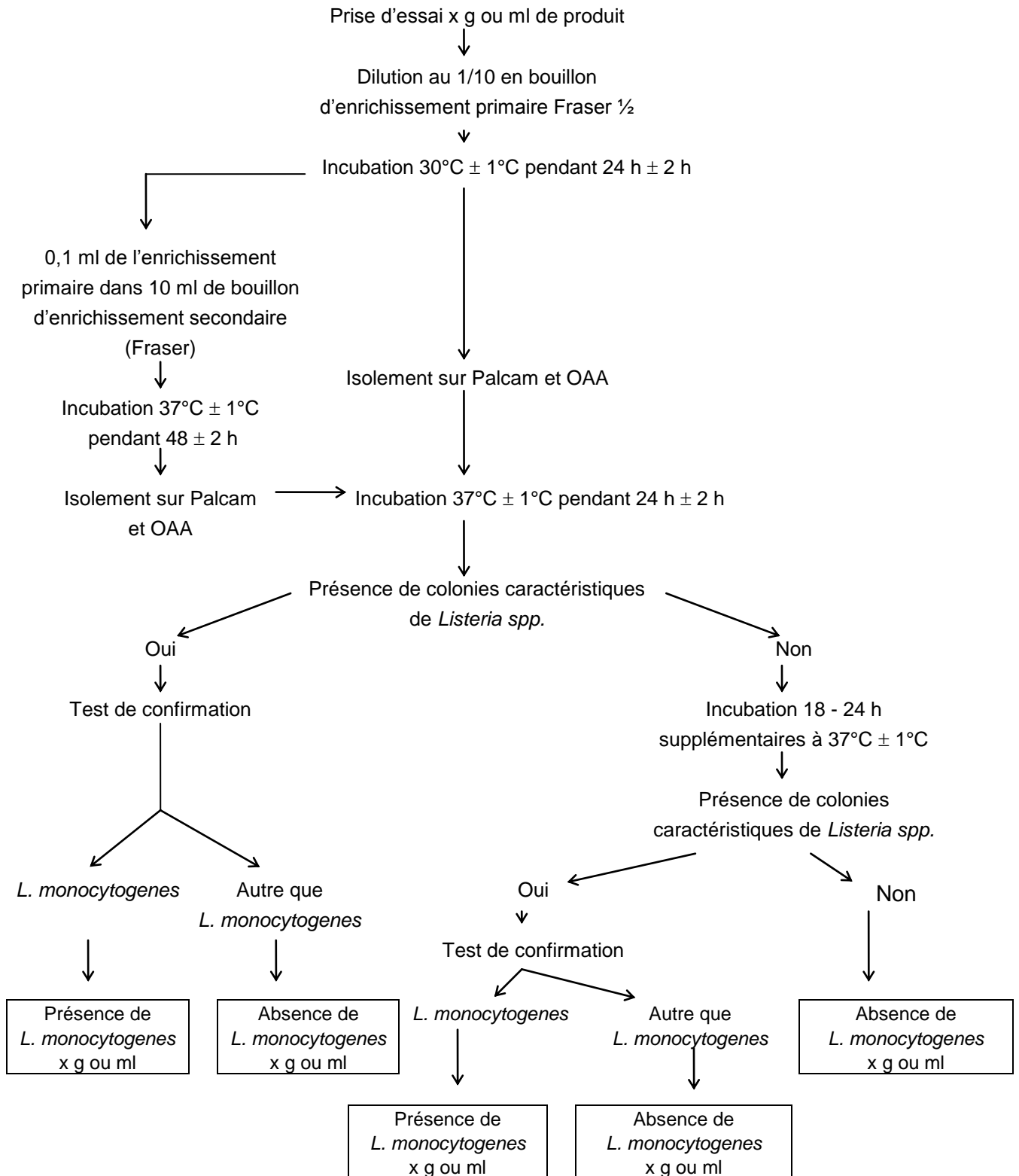
1.5 Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation

Aucune modification n'est intervenue dans la méthode depuis la dernière validation.

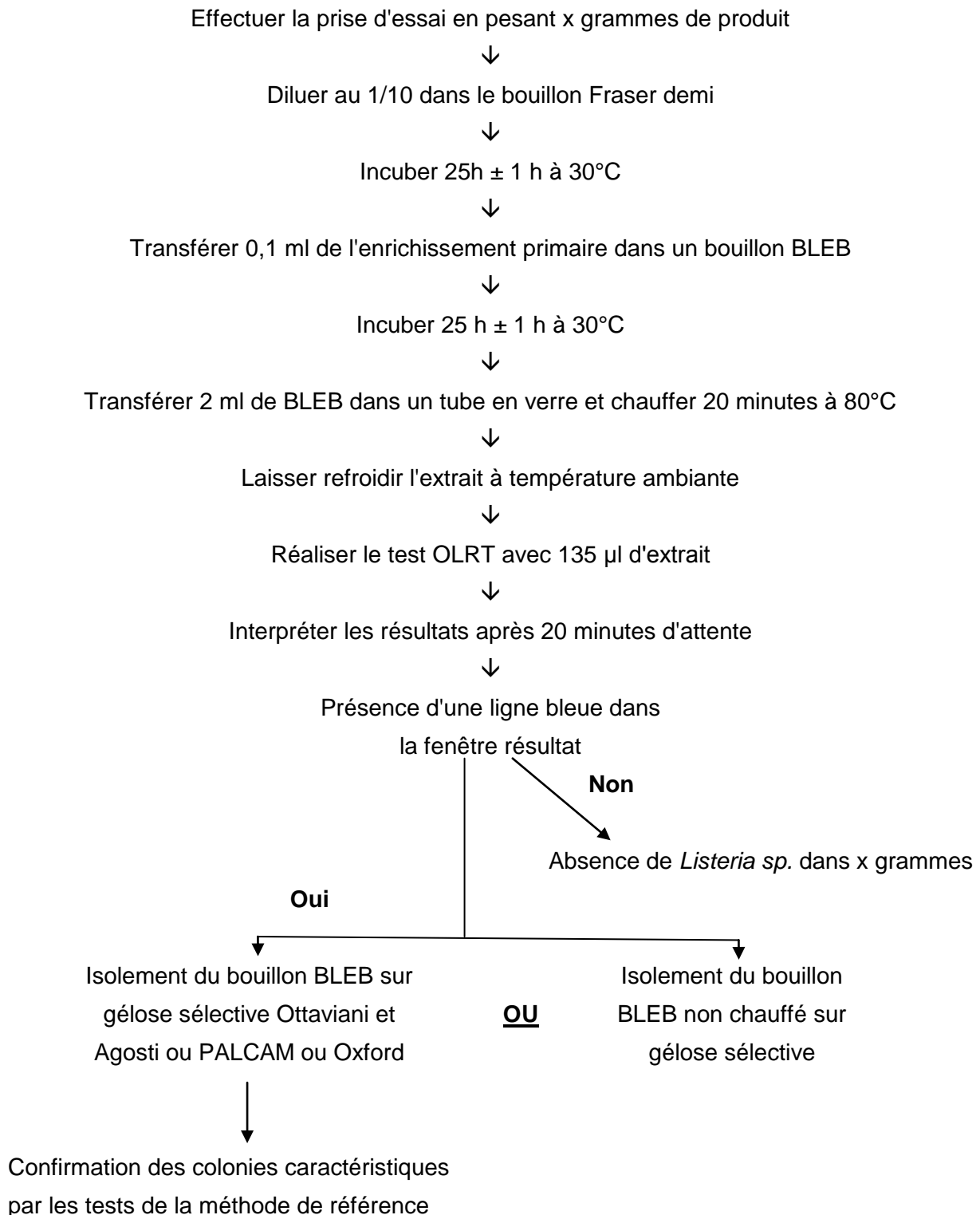
2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Aucun article n'est paru depuis la dernière reconduction de validation sur les performances de la méthode.

**Annexe 1 - Méthode de référence NF EN ISO 11290-1/A1 :
méthode de recherche de *Listeria monocytogenes***



Tests de confirmation : Gram, Catalase, Hémolyse, Camp Test, mini-galerie biochimique Listeria

Annexe 2 - Méthode alternative

Annexe 3 - Exclusivité / Inclusivité : résultats

Souche	Origine	Résultat du test
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	Steak de bœuf	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	Maroilles	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	Escalope de poulet	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	ATCC 35152	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2b	Langue de porc	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2b	SLCC 2755	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2c	Steak haché	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 3b	SLCC 2540	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 3c	SLCC 2479	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 4a	ATCC 19114	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	ATCC 19115	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	Salade	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 4d	ATCC 19117	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 4e	ATCC 19118	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 7	SLCC 2482	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Poule	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Pain de levure	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Pommes à rissoler	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Petit saucisson	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Persil	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Saucisson	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Oignons	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Rillettes	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Pâté pimenté	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Hareng fumé	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Saucisson cuit	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Environnement	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Environnement	+
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2	Environnement	+
<i>Listeria innocua</i> 6a	ATCC 33090	+
<i>Listeria innocua</i> 6a	Chou	+
<i>Listeria innocua</i> 6a	Saucisse	+
<i>Listeria innocua</i> 6a	Levure	+
<i>Listeria innocua</i> 6a	Gésiers	+
<i>Listeria innocua</i> 6b	Environnement	+
<i>Listeria innocua</i> 6b	Steak haché	+
<i>Listeria innocua</i> non typable	Camembert	+
<i>Listeria innocua</i> non typable	Hareng fumé	+
<i>Listeria innocua</i> non typable	Saucisse	+
<i>Listeria innocua</i> non typable	Levure	+
<i>Listeria seeligeri</i> 1/2b	Langue de porc	+
<i>Listeria seeligeri</i> 1/2b	ATCC 35967	+
<i>Listeria seeligeri</i> 6b	Harengs	+
<i>Listeria welshimeri</i> 6b	ATCC 35897	+
<i>Listeria welshimeri</i> 6b	Steak haché	+
<i>Listeria welshimeri</i> 6b	Steak haché	+
<i>Listeria grayi</i>	ATCC 19120	-
<i>Listeria grayi</i>	ATCC 19120	-
<i>L. ivanovii</i>	ATCC 19119	+
<i>L. ivanovii</i>	Viande	+

Etude	Souche	Résultat du test
Holbrook	<i>Bacillus licheniformis</i>	-
Holbrook	<i>Bacillus circulans</i>	-
Holbrook	<i>Bacillus macerans</i>	-
Holbrook	<i>Citrobacter koseri</i>	-
Holbrook	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-
Holbrook	<i>Enterobacter cloacae</i>	-
Holbrook	<i>Hafnia alvei</i>	-
Holbrook	<i>Proteus stuartii</i>	-
Holbrook	<i>Edwardsiella tarda</i>	-
Holbrook	<i>Azizona sp.</i>	-
Holbrook	<i>Aerococcus viridans</i>	-
IPL 1995	<i>Bacillus cereus</i>	-
IPL 1995	<i>Bacillus cereus</i>	-
IPL 1995	<i>Bacillus subtilis</i>	-
IPL 1995	<i>Bacillus megaterium</i>	-
IPL 1995	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	-
IPL 1996	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-
IPL 1995	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
IPL 1995	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
IPL 1995	<i>Streptococcus durans</i>	-
IPL 1995	<i>Streptococcus liquefaciens</i>	-
IPL 1995	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
IPL 1995	<i>Staphylococcus intermedius</i>	-
IPL 1995	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-
IPL 1995	<i>Rhodococcus equi</i>	-
IPL 1995	<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	-
IPL 1995	<i>Brochothrix rhusiopathiae</i>	-
IPL 1995	<i>Erysipelotrix campestris</i>	-
IPL 1995	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	-
IPL 1995	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
IPL 1995	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-
IPL 1995	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	-
IPL 1995	<i>Comamonas acidovorans</i>	-
IPL 1995	<i>Citrobacter cloacae</i>	-
IPL 1995	<i>Citrobacter freundii</i>	-
IPL 1995	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
IPL 1995	<i>Providencia reutteri</i>	-
IPL 1995	<i>Escherichia coli</i>	-
IPL 1995	<i>Salmonella</i> Typhimurium	-
IPL 1995	<i>Salmonella</i> Enteritidis	-
IPL 1995	<i>Acinetobacter anitravus</i>	-
IPL 1995	<i>Kurthia sp.</i>	-

Annexe 4 - Degré d'accord

Méthode alternative

Niveau L0

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							1,00
Degré d'accord :							100 %

Niveau L1

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	7	0,88	0,77	0,13	0,02	0,78
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							0,98
Degré d'accord :							98 %

Niveau L2

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							1,00
Degré d'accord :							100 %

Méthode de référence**Niveau L0**

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							1,00
Degré d'accord :							100 %

Niveau L1

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							1,00
Degré d'accord :							100 %

Niveau L2

Laboratoire	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
B	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
C	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
D	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
E	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
F	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
G	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
H	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
J	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
K	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
L	8	8	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00
Moyenne :							1,00
Degré d'accord :							100 %

Annexe 5 - Concordance

Méthode alternative

Niveau L0

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	640	640
B	8	8	640	640
C	8	8	640	640
D	8	8	640	640
E	8	8	640	640
F	8	8	640	640
G	8	8	640	640
H	8	8	640	640
J	8	8	640	640
K	8	8	640	640
L	8	8	640	640
TOTAL			7 040	7 040
Concordance	100,00 %			

Niveau L1

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	632	640
B	8	8	632	640
C	8	8	632	640
D	8	8	632	640
E	8	7	560	640
F	8	8	632	640
G	8	8	632	640
H	8	8	632	640
J	8	8	632	640
K	8	8	632	640
L	8	8	632	640
TOTAL			6 880	7 040
Concordance	97,73 %			

Niveau L2

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	640	640
B	8	8	640	640
C	8	8	640	640
D	8	8	640	640
E	8	8	640	640
F	8	8	640	640
G	8	8	640	640
H	8	8	640	640
J	8	8	640	640
K	8	8	640	640
L	8	8	640	640
TOTAL			7 040	7 040
Concordance	100,00 %			

Méthode de référence**Niveau L0**

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	640	640
B	8	8	640	640
C	8	8	640	640
D	8	8	640	640
E	8	8	640	640
F	8	8	640	640
G	8	8	640	640
H	8	8	640	640
J	8	8	640	640
K	8	8	640	640
L	8	8	640	640
TOTAL			7 040	7 040
Concordance	100,00 %			

Niveau L1

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	640	640
B	8	8	640	640
C	8	8	640	640
D	8	8	640	640
E	8	8	640	640
F	8	8	640	640
G	8	8	640	640
H	8	8	640	640
J	8	8	640	640
K	8	8	640	640
L	8	8	640	640
TOTAL			7 040	7 040
Concordance	97,73 %			

Niveau L2

Nombre de laboratoires : 11

Nombre de négatifs par laboratoire : 8

Laboratoires	Nombre de négatifs attendus	Nombre de négatifs obtenus	Paires interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	8	640	640
B	8	8	640	640
C	8	8	640	640
D	8	8	640	640
E	8	8	640	640
F	8	8	640	640
G	8	8	640	640
H	8	8	640	640
J	8	8	640	640
K	8	8	640	640
L	8	8	640	640
TOTAL			7 040	7 040
Concordance	100,00 %			