



HAL
open science

La validation des méthodes de détection des agents pathogènes des plantes - Essai inter-laboratoires pour la détection de *Phoma tracheiphila* dans les rameaux de citronnier par PCR

Jean-Luc Ribouchon

► To cite this version:

Jean-Luc Ribouchon. La validation des méthodes de détection des agents pathogènes des plantes - Essai inter-laboratoires pour la détection de *Phoma tracheiphila* dans les rameaux de citronnier par PCR. Journées Jean Chevaugnon. 7. Rencontres de phytopathologie / mycologie de la Société Française de Phytopathologie., Jan 2008, Aussois, France. 2008. hal-02824538

HAL Id: hal-02824538

<https://hal.inrae.fr/hal-02824538>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La validation des méthodes de détection des agents pathogènes dans les plantes

Essai inter-laboratoires pour la détection de *Phoma tracheiphila* dans les rameaux de citronnier par PCR

Si la validation des méthodes analytiques quantitatives est bien connue, la validation des méthodes analytiques qualitatives est peu documentée. Les réponses des méthodes analytiques qualitatives sont de type binaire. La validation d'une méthode qualitative alternative s'appuiera sur la comparaison avec la méthode de référence, complétée par un essai inter-laboratoires (EIL).

Le but de l'essai décrit ici est de détecter *Phoma tracheiphila* dans des rameaux de citronniers présentant des symptômes visuels par une méthode PCR (Balmas 2005) et de valider cette méthode par une étude statistique. Les résultats présentés ici proviennent d'essais réalisés dans quatre laboratoires européens.

Résultats	Méthode Ref+(R+)	Méthode Ref-(R-)
Méth Alt+(A+)	Accord positif +/- PA = 67	Déviat. positive +/- PD = 3 (R-/A+)
Méth Alt- (A-)	Déviat. négative ND = 3 (A-/R+)	Accord négatif NA = 67
total	PA+ND=70	NA+PD=70

Éléments de validation de l'EIL :

140 échantillons codés : 70 positifs et 70 négatifs
méthode de référence : symptômes visuels
méthode alternative : PCR

Exactitude relative : AC = 95.71 %
p > 90% la loi binomiale est utilisée pour obtenir la limite de confiance inférieure à 95% (LCL).
Soit LCL = 93 % (n=70, p=0.96).

Spécificité relative : SP = 95.71 %
p > 90% la loi binomiale est utilisée pour obtenir la limite de confiance inférieure à 95% (LCL).
Soit LCL = 93 % (n=70, p=0.96).

Sensibilité relative : SE = 95.71 %
p > 90% la loi binomiale est utilisée pour obtenir la limite de confiance inférieure à 95% (LCL).
Soit LCL = 93 % (n=70, p=0.96).



Phoma tracheiphila est une trachéomycose responsable du « mal sec ». Fortement dommageable pour tout le groupe *Agrume*, ce champignon est considéré comme l'agent pathogène le plus destructeur des vergers de citronniers.

L'objectif d'une méthode analytique qualitative est de fournir une réponse de présence ou d'absence de l'analyte détecté directement ou indirectement dans une quantité d'échantillon donné. L'EIL participe à la validation de la méthode (exactitude, spécificité-sélectivité, sensibilité, fidélité, reproductibilité).

Définitions et calculs pour l'analyse statistique :

Déviat. positive (PD)

La méthode alternative présente une déviat. positive si elle donne un résultat positif lorsque la méthode de référence donne un résultat négatif.

Déviat. négative (ND)

La méthode alternative présente une déviat. négative si elle donne un résultat négatif lorsque la méthode de référence donne un résultat positif.

Détermination de l'exactitude relative

L'exactitude relative (AC) représente le niveau de correspondance entre la réponse obtenue avec la méthode de référence et la réponse obtenue avec la méthode alternative sur des échantillons identiques.

Avec N = PA+NA+PD+ND

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

Détermination de la spécificité relative

La spécificité relative (SP) est la capacité de la méthode alternative à ne pas détecter l'analyte lorsque la méthode de référence ne le détecte pas.

Avec N- = NA+PD

$$SP = \frac{(NA)}{N-} \times 100$$

Détermination de la sensibilité relative

La sensibilité relative (SE) est la capacité de la méthode alternative à détecter l'analyte lorsque la méthode de référence le détecte.

Avec N+ = PA+ND

$$SE = \frac{(PA)}{N+} \times 100$$

Calcul des intervalles de confiance (IC)

Les intervalles de confiance sont calculés pour les pourcentages p obtenus pour AC, SE et SP, avec respectivement n = N, N+, N-.

- Si p > 90%, on utilisera les tables de la loi binomiale.
- Si 10% < p < 90%, p suivra une loi normale. L'intervalle de confiance à 95% est approché par :

$$IC \ 95 \% \approx p \pm 2 \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Bibliographie :

- Norme ISO 16140 (2003) : Protocole de validation des méthodes alternatives.
- *Phoma tracheiphila* (2007) EPPO Bulletin 37 (3), 521-527
- Balmas, V., Scherm, B., Ghignone, S., Salem, A. O. M., Cacciola, S. O., & Migheli, Q. (2005). Characterisation of *Phoma tracheiphila* by RAPD-PCR, microsatellite-primed PCR and ITS rDNA sequencing and development of specific primers for *in planta* PCR detection. European Journal of Plant Pathology, 111, 235-247
- Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewe, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat. STP Pharma pratiques- volume 13- N° mai/juin 2003 Validation des procédures analytiques quantitatives. Harmonisation des démarches.



J.L. RIBOUCHON
INRA-GEQA – 20 230
San Giuliano FRANCE (Corsica)



INRA