

**EINDRAPPORT**

**PROFICIENCY TEST VOOR  
LEVENSMIDDELENMICROBIOLOGIE  
JUNI 2015**

**PT – 2 TELLING IN SURIMI**

Dit rapport wordt door het WIV uitsluitend verdeeld aan de deelnemers van dit ringonderzoek. Het WIV is niet verantwoordelijk voor het gebruik van dit document door de houders ervan. De ontvangers van dit rapport zijn zelf verantwoordelijk voor het gebruik ervan.

Dienst: Voedselpathogenen  
Auteur van het rapport : Marie Polet  
Wetenschappelijke verantwoordelijke: Marie Polet  
Technische verantwoordelijke: Astrid Huwaert  
Wetenschappelijke goedkeuring: Nadine Botteldoorn  
J. Wytsmanstraat 14  
1050 Brussel | België

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)



Deze inter-laboratorium studie is gericht op de telling van 5 verschillende kiemen in een voedingsmatrix die natuurlijk besmet is met een mesofiele flora. Dit jaar werd er gekozen voor surimi in stukjes.

Deze studie werd georganiseerd door het Nationaal Referentielaboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in samenwerking met het FAVV en was bedoeld voor de erkende laboratoria van het FAVV.

## 1. Verloop van de studie

maandag 15 juni 2015	Vorbereiding en inoculeren van de stalen
dinsdag 16 juni 2015	Vervoer van de pakketten naar de 2 dispatchingcentra van het FAVV (Melle et Gembloux) door een chauffeur van het WIV en het ophalen van de stalen door de deelnemende laboratoria.
woensdag 17 juni 2015	De laboratoria starten de analyses
woensdag 1 juli 2015	Limietdatum voor het rapporteren van de resultaten naar het WIV
vrijdag 17 juli 2014	Intermediair rapport verstuurd naar de deelnemende laboratoria door het WIV
maandag 28 september 2015	Eindrapport verstuurd naar de laboratoria door het WIV

Ieder pakket bevatte:

- 6 stalen (1, 2, 3, 4, 5, 6) met ongeveer 30 g vermalen surimi
- Een datalogger voor temperatuursregistratie (voor de helft van de laboratoria)
- Een koelelement
- De instructies



Deelnemende laboratoria :

ILVO – VOEDING	Melle
SGS	Antwerpen
AGROLAB	Battice
LOVAP	Geel
ECCA	Merelbeke
IEM	Liège
QUALITY PARTNER	Herstal
EURACETA	Villers-le-Bouillet
FLVVM	Melle
LEQ	Bastogne
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
SHA	Mouscron
LFSAGx	Gembloux
LAVETAN	Turnhout
WIV	Brussel
BIOTOX	Jabbeke
LARECO	Marche-en-Famenne
EUROFINS	Brugge
BRULABO	Brussel
CARAH	Ath
HVS	Mons

21 laboratoria hebben deelgenomen



## 2. Samenstelling van de stalen

De surimi werd aangekocht in de supermarkt (twee verschillende loten) en bevroren bewaard gedurende een week.. De dag van het klaarmaken van de stalen werd de surimi ontdooid gedurende 3h bij kamertemperatuur en daarna beënt met de verschillende kiemen. De artificiële besmetting gebeurde direct met de volgende stammen :

stammen	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria ivanovii</i>
referentie	TIAC 2598	TIAC 958	TIAC 2647	TIAC 2445	TIAC 2481	TIAC 716

Deze stammen zijn afkomstig uit de collectie van het WIV.

### Artificiële besmetting van de 6 stalen:

Elk monster werd besmet aan een concentratie van x log cfu/g/kiem (zie tabel 1), om zowel een lage en een middelmatige contaminatie van het staal te bekomen. Het aantal kiemen in het inoculum werd bepaald door een drievoudige uitplating op TSA medium.

Sommige monsters werden niet besmet voor bepaalde parameters en dienden als blanco.

Tabel 1: Overzicht van de besmetting van stalen 1-6 met de 5 geselecteerde kiemen (aantal in log cfu/g)

	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. ivanovii</i>
1	4.52	/	4.48	/	5.45	/
2	/	4.04	3.48	6.58	6.45	/
3	/	5.04	4.48	5.58	/	/
4	5.52	/	/	5.58	/	4.94
5	6.52	/	3.48	/	4.45	3.94
6	5.52	5.04	/	5.58	/	/

Na besmetting werden de stalen gedurende een nacht in de koelkast bewaard vooraleer ze werden doorgezonden naar de twee dispatchingcentra.



### 3. Analyse procedure

Voor de 6 stalen dienden de 5 parameters geanalyseerd te worden. De procedure was dezelfde voor ieder staal namelijk :

- . neem een deelmonster van 10 g om de moederoplossing (1/10) te maken
- . voor het vervolg worden de stalen verdund zoals tijdens een routine analyse binnen het laboratorium
- . **Telling** : *Pseudomonas spp*, *L. monocytogenes*, coagulase positieve *Staphylococcus* (CPS), *B. cereus*, *E. coli*

Alle laboratoria hebben de telling van CPS, *L. monocytogenes* en *E. coli* uitgevoerd.

1 laboratorium heeft de telling van *B. cereus* niet uitgevoerd.

10 laboratoria hebben de telling van *Pseudomonas spp.* niet uitgevoerd.

### 4. Geassocieerde testen

#### ➤ Homogeniteitstest en stabiliteitstest

Nadat de stalen werden bereid op maandag 15 juni, werd de homogeniteit bepaald dezelfde dag op 5 herhalingen van de verschillende stalen voor elke parameter. Alle stalen waren homogeen voor alle parameters.

Stabiliteits- en homogeniteitstesten werden uitgevoerd op woensdag 17 juni op 5 stalen in drievoud. De waarden waren stabiel behalve voor *Pseudomonas spp* waarbij de kiem niet stabiel was maar wel homogeen bleef, behalve voor staal n°2 dat daarom niet in rekening genomen werd voor de beoordeling van de laboratoria. De data zijn beschikbaar in het Excel blad « homogénéité-stabilité-EAsurimi2015 ».

#### ➤ Verificatie van de natuurlijke besmetting van de stalen

Eén staal per lot werd geanalyseerd (telling) voor alle parameters evenals de totale flora. Al de resultaten waren kleiner dan de detectielimiet voor de parameters van de proficiency test en de besmetting was kleiner dan the detectielimiet of laag voor de



Eindrapport PT-2 2015 Telling in surimi |NRL Levensmiddelenmicrobiologie |  
 totale flora. Ook voor de homogeniteitstesten werden twee analyses uitgevoerd voor  
 niet geïnoculeerde parameters in elk staal.

## 5. Performantie van de laboratoria : z-scores

De statistische analyses werden uitgevoerd door de dienst «kwaliteit van de medische laboratoria» van het WIV.

De z-score per parameter werd berekend op basis van het robuuste gemiddelde en de robuuste standaard deviatie van alle resultaten van de deelnemende laboratoria.

### Overzichtstabel van de z-scores van de laboratoria

CPS = Coagulase positieve *Staphylococcus*

N° labo	E. coli 1	E. coli 2	E. coli 5	CPS 1	CPS 4	CPS 5	CPS 6	L. monocytogenes 2	L. monocytogenes 3	L. monocytogenes 6
1	-0.02	0.51	0.77	0.86	0.74	0.94	1.49	0.54	1.73	1.26
2	0.08	-0.15	-0.04	-0.18	-0.23	-0.03	-0.90	1.21	0.29	-1.19
3	-0.42	-1.20	-0.65	-0.18	0.44	-1.19	0.00	0.39	-0.34	-1.05
4	0.43	0.29	-0.81	-0.18	-1.72	-1.05	-2.61	0.54	-1.20	-1.05
5	-0.21	-1.94	-1.38	4.55	-1.72	-2.02	-2.61	-0.56	-1.03	-0.68
6	-0.53	-1.59	-0.41	-1.27	0.28	-2.02	-0.27	-1.34	-1.03	-0.18
9	-0.42	0.51	0.33	-0.78	-2.89	-0.03	-1.26	1.93	-0.88	1.21
10	-0.32	-0.95	-0.46	-0.18	1.53	0.65	0.13	-1.05	-0.34	0.89
11	1.26	0.47	-0.37	1.09	-0.05	0.58	0.49	0.05	0.00	1.00
12	-1.13	-0.06	-0.76	-0.36	0.12	0.58	1.03	-2.44	0.17	0.39
13	5.17	1.62	1.40	1.09	3.21	-0.44	0.38	2.91	4.92	-0.92
15	-0.76	0.04	-0.55	-0.78	0.28	0.50	-0.13	-0.34	-0.73	-5.32
16	0.26	0.36	-0.55	-1.56	-0.23	0.42	0.13	-0.79	-0.59	-0.18
17	1.98	0.71	1.40	-1.02	1.99	0.25	-0.57	0.05	1.19	0.84
18	-1.00	1.15	-0.28	-0.21	-0.65	0.50	0.00	0.83	-0.59	-0.68
20	1.32	0.21	1.11	-0.36	0.88	0.94	-0.42	0.23	0.71	0.24
21	-1.41	-0.36	0.27	1.21	-0.05	1.26	0.26	-0.79	0.47	0.00
22	0.43	0.83	0.56	0.98	0.12	0.33	1.41	0.39	0.38	0.59
23	-0.64	-0.20	5.36	0.32	-0.61	0.80	1.49	-0.34	0.29	0.59
27	0.91	0.83	0.42	0.73	-0.23	-0.55	1.13	0.54	1.12	1.00
28	-0.76	-1.48	-1.79	-0.78	-0.81	-1.49	-2.35	-1.05	-1.03	-0.57

Z-score tussen 2 et 3 of tussen -2 en -3  
 Z-score > 3 of < - 3  
 analyse niet uitgevoerd

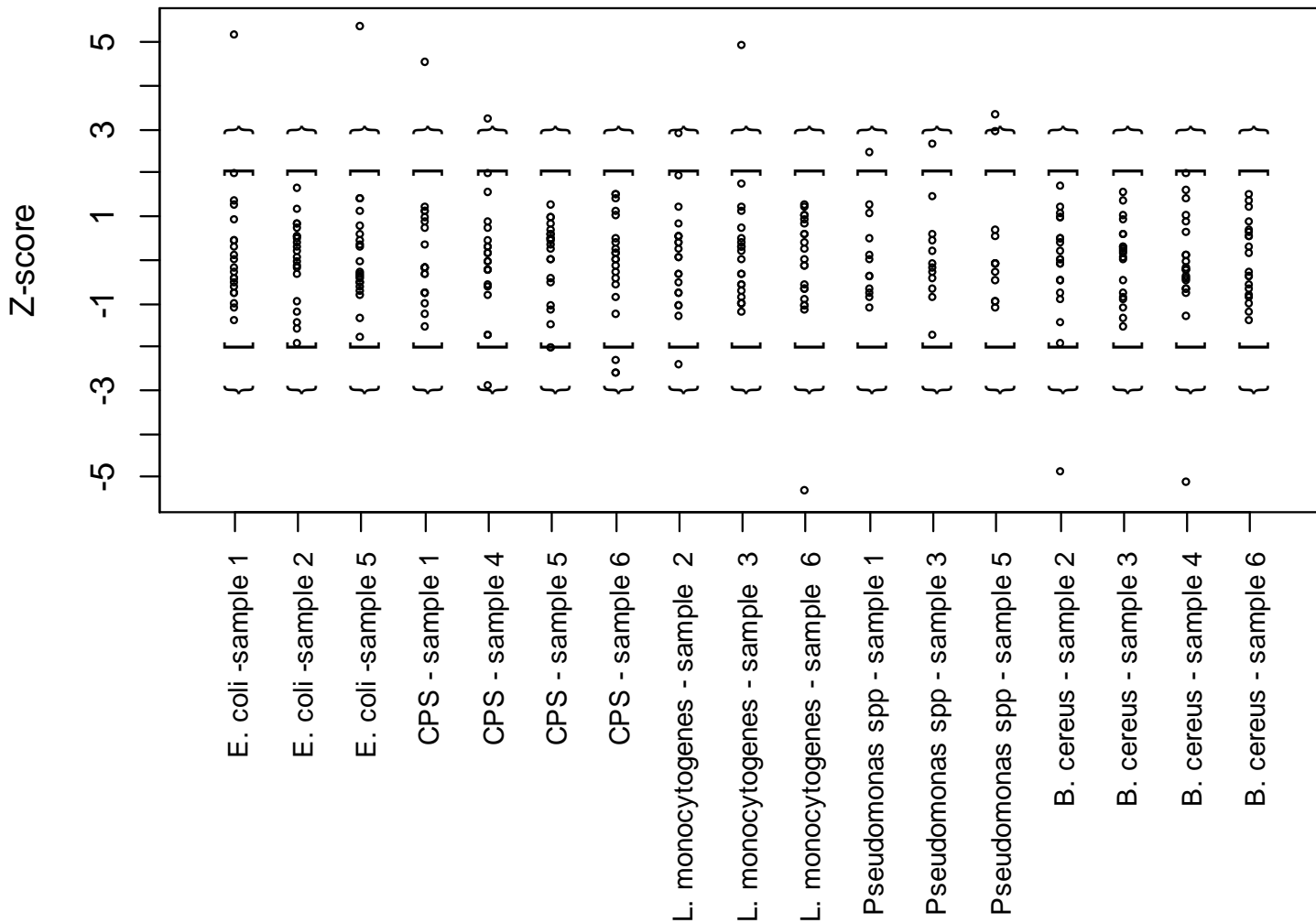


N° labo	Pseudomonas 1	Pseudomonas 3	Pseudomonas 5	B. cereus 2	B. cereus 3	B. cereus 4	B. cereus 6
1	1.04	1.42	2.94	1.71	1.53	1.39	1.49
2				-0.11	0.05	-0.38	-1.03
3	0.47	-0.20	-0.10	1.08	-0.48	-0.26	0.52
4	-0.02	-0.70	-0.50	-0.91	-1.54	-0.50	-1.40
5	-1.13	-0.30	-0.97	-1.46	-1.14	-0.70	-0.67
6				-0.48	-1.37	-5.14	-0.41
9				-0.11	0.15	-0.44	0.13
10	-0.41	0.43	-0.97	0.20	0.92	1.03	0.88
11				0.94	1.01	-0.78	0.66
12				0.00	0.28	-1.29	-0.86
13	2.47	2.67	3.31	-1.96	0.59	1.98	-1.21
15	0.09	0.17	-0.10	0.39	-0.89	-0.26	-0.30
16	-0.38	-0.08	-0.10	-4.87	-0.93	0.10	-0.37
17				0.94	1.33	1.61	1.20
18				-0.50	-0.79	0.10	-0.58
20							
21	-0.89	0.59	-0.30	1.21	0.28	0.85	0.27
22	1.24	-0.88	0.65	0.48	0.17	-0.05	1.35
23	-0.69	-1.75	0.52	0.48	0.01	0.62	0.62
27				0.00	0.22	-0.21	0.52
28	-0.80	-0.44	-1.10	-0.76	0.59	-0.70	-0.81

Z-score tussen 2 en 3 of tussen -2 en -3  
 Z-score > 3 of < -3  
 analyse niet uitgevoerd



Grafische voorstelling van de z-scores van de verschillende laboratoria



[ ] limieten z-scores (+2 ; -2)

{ } limieten z-scores (+3 ; -3)





### Vals-positieve en vals-negatieve resultaten

Het laboratorium 22 rapporteerde een vals positief resultaat voor CPS - staal 3.

Het laboratorium 4 rapporteerde een vals positief resultaat voor *L. monocytogenes* - staal 4.

Het laboratorium 6 rapporteerde een vals positief resultaat voor *L. monocytogenes* - staal 5.

Het laboratorium 28 rapporteerde een vals positief resultaat voor *L. monocytogenes* – stalen 4 en 5 en *B. cereus* – staal 5.

### **6. Robuust gemiddelde (X) en robuuste standaardafwijking (SD)**

<b>Kiem (staal)</b>	<b>robuust X</b>	<b>robuuste SD</b>
<i>L. monocytogenes</i> (2)	2.168	0.16
<i>L. monocytogenes</i> (3)	3.343	0.19
<i>L. monocytogenes</i> (6)	4.431	0.191
CPS (1)	3.204	0.16
CPS (4)	3.403	0.1
CPS (5)	4.481	0.151
CPS (6)	3.431	0.121
<i>Pseudomonas</i> (1)	3.756	0.404
<i>Pseudomonas</i> (3)	4.038	0.447
<i>Pseudomonas</i> (5)	2.98	0.256
<i>E. coli</i> (1)	3.57	0.123
<i>E. coli</i> (2)	4.604	0.236
<i>E. coli</i> (5)	2.734	0.219
<i>B. cereus</i> (2)	4.323	0.194
<i>B. cereus</i> (3)	3.854	0.319
<i>B. cereus</i> (4)	3.579	0.233
<i>B. cereus</i> (6)	3.745	0.247



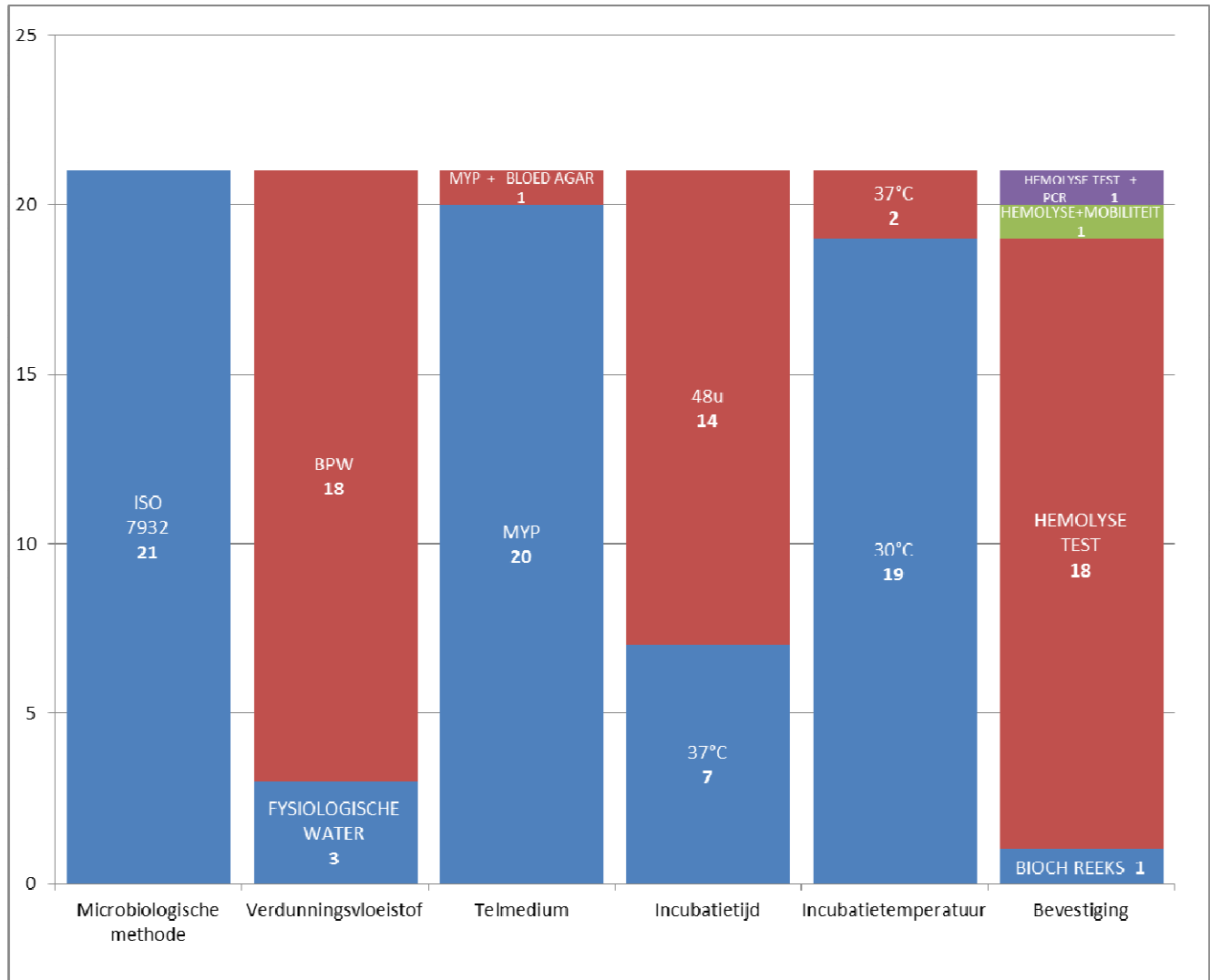
Hierbij een illustratieve vergelijkingstabel voor de robuuste standaardafwijking (robuuste SD) van de ringonderzoek van juni 2015 met die van RAEMA 38 en Requasud en de ringonderzoeken van juni 2013 en 2014 georganiseerd door het WIV.

	<b>Gemiddelde robuuste SD WIV juni 2013</b>	<b>Gemiddelde robuuste SD WIV juni 2014</b>	<b>Gemiddelde robuuste SD WIV juni 2015</b>	<b>Gemiddelde robuuste SD RAEMA 38</b>	<b>Gemiddelde robuuste SD Requasud</b>
CPS	0,17	0,22	<b>0,13</b>	0,15	0,25
<i>L. monocytogenes</i>	0,15	0,13	<b>0,18</b>	/	/
<i>Pseudomonas spp</i>	0,27	0,28	<b>0,37</b>	/	/
<i>E. coli</i>	0,4	0,16	<b>0,19</b>	0,28	0,25
<i>B. cereus</i>	0,5	/	<b>0,25</b>	0,25	0,25



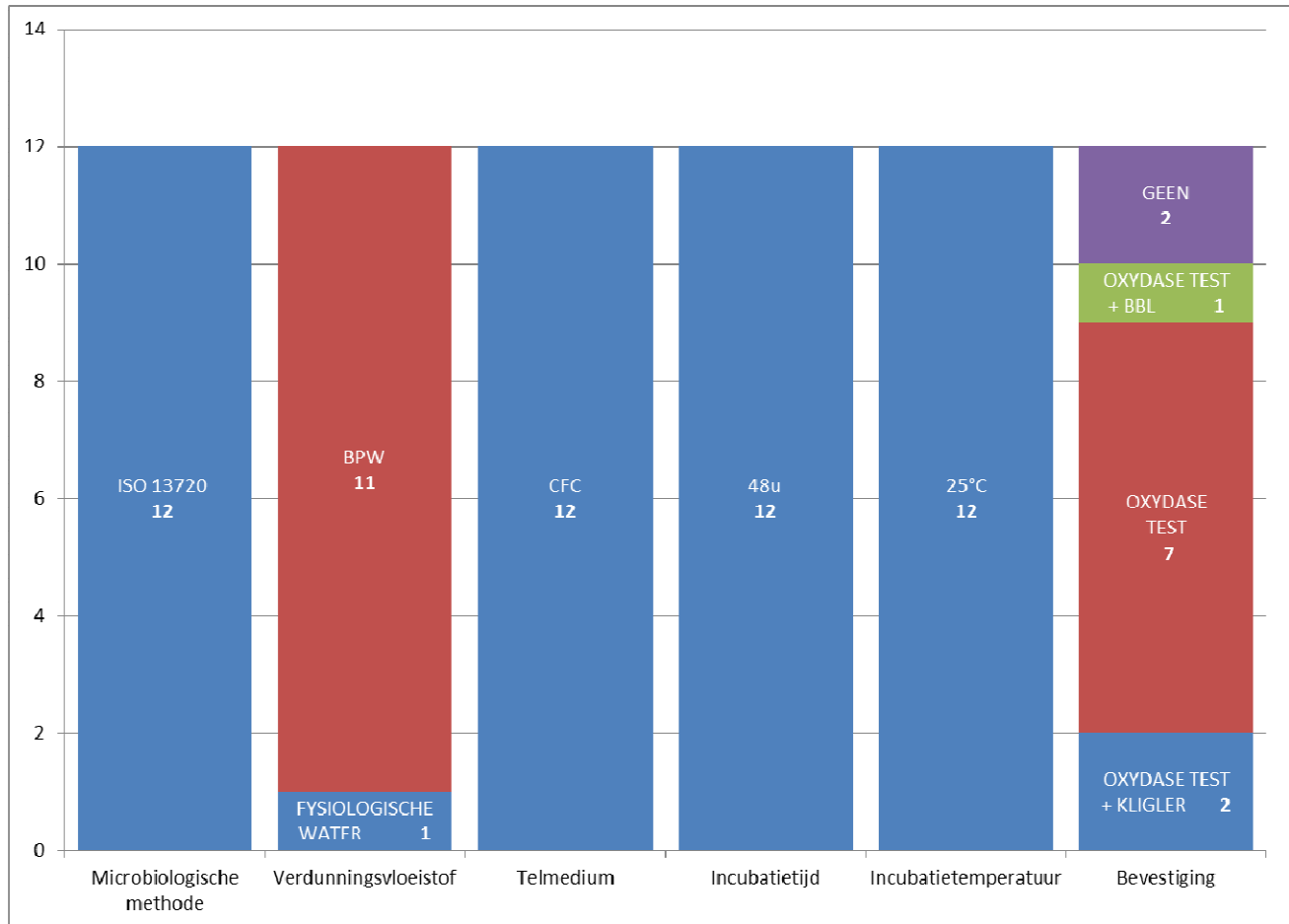
## 7. Bijkomende informatie

### *Bacillus cereus*



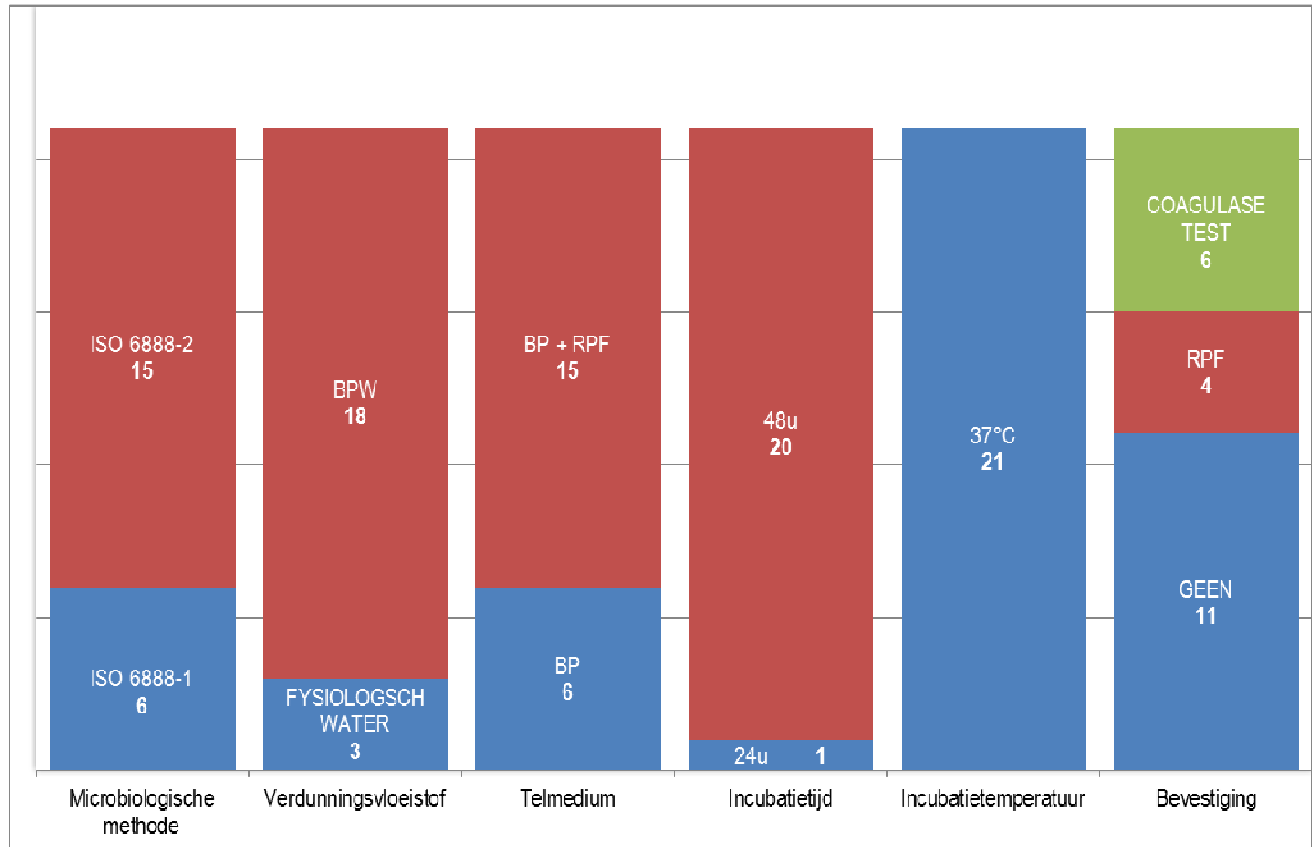


### *Pseudomonas spp.*



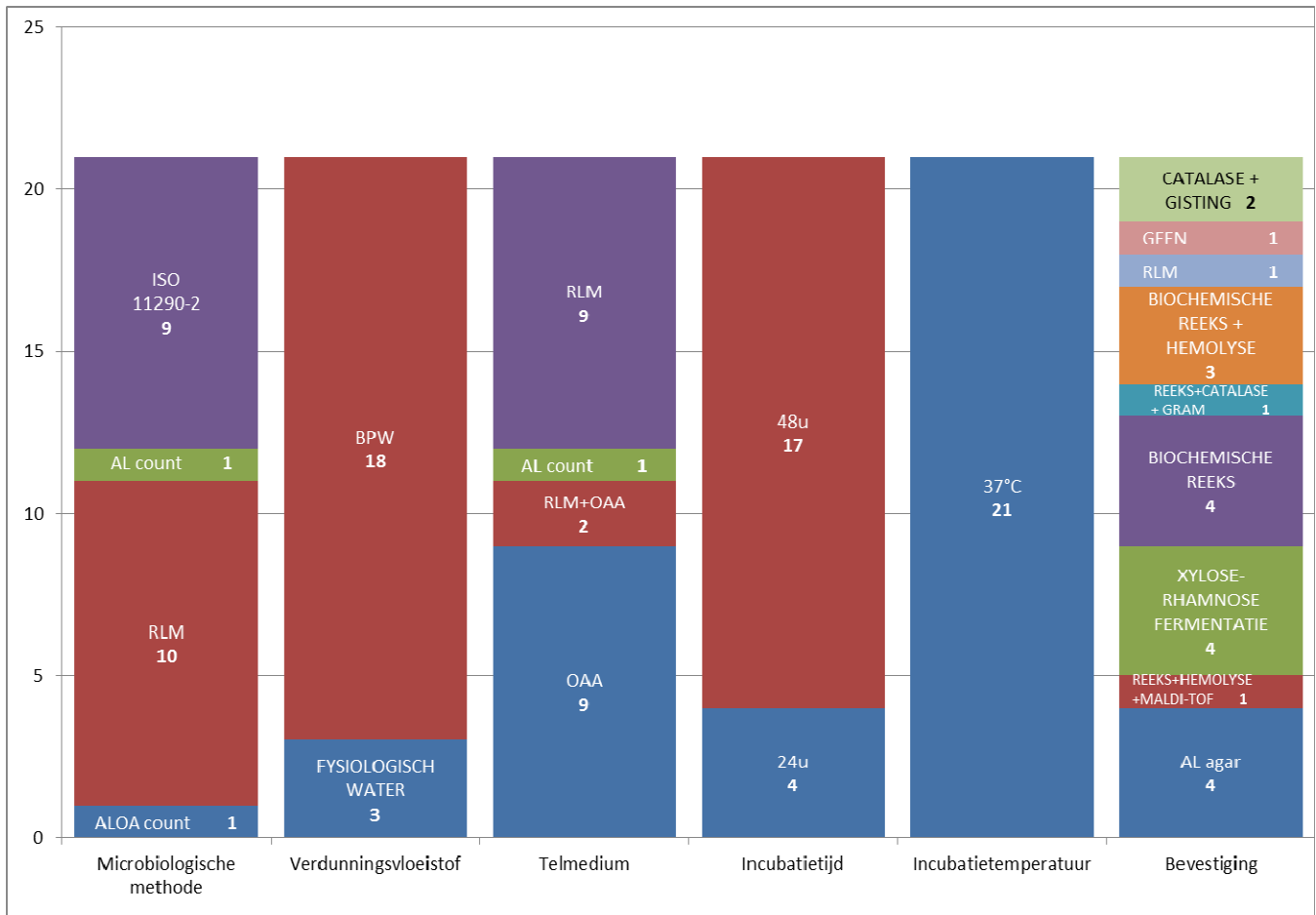


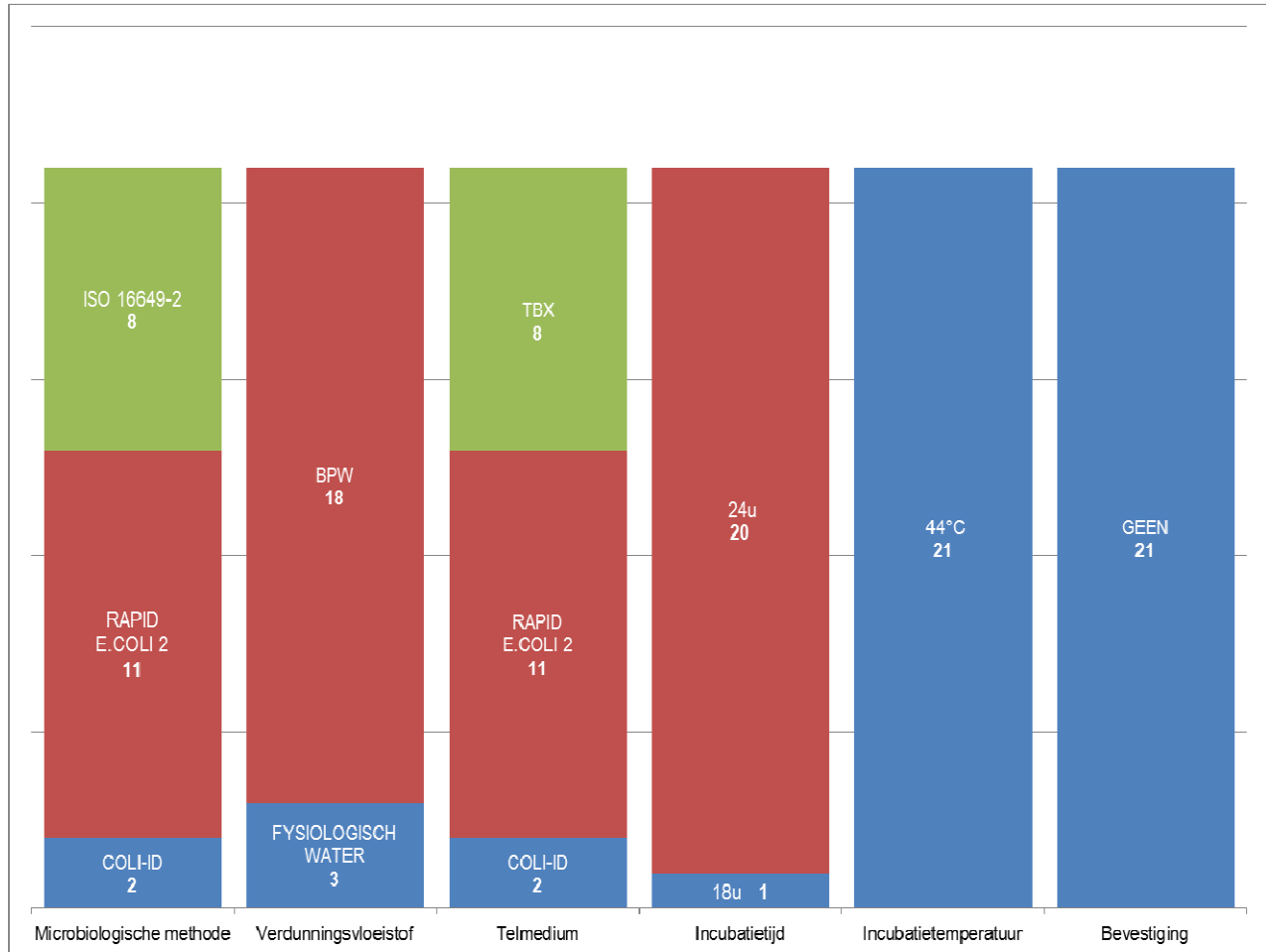
### *Staphylococcus aureus*





*Listeria monocytogenes*





## 8. Discussie en besluit

De matrix “surimi” is een matrix met een lage natuurlijke besmetting. De proficiency test is goed verlopen.

Veel laboratoria hebben de oorzaak van een non-conform resultaat gevonden.

Hierna volgen de voornaamste oorzaken:

- Vergissing tijdens het ingeven van de resultaten in de webapplicatie
- Een fout tijdens de berekening van de resultaten
- Gebruik van vervallen reagentia
- Geen correcte uitvoering van de procedure door de laborant
- Laborant in opleiding en de procedure niet correct uitgevoerd
- Geen specifieke oorzaak gevonden



Alle stalen,

95% van de resultaten waren aanvaardbaar voor de telling van *L. monocytogenes*

98,4 % van de resultaten waren aanvaardbaar voor de telling van *E. coli*

98 % van de resultaten waren aanvaardbaar voor de telling van *Pseudomonas spp.*

97,6 % van de resultaten waren aanvaardbaar voor de telling van Coagulase positieve  
*Staphylococcus*

97,5 % van de resultaten waren aanvaardbaar voor de telling van *B. cereus*

Een tussentijdsrapport met de individuele resultaten per laboratorium werd op 14 juli 2015 elektronisch verzonden. Het eindrapport werd elektronisch verzonden op 28 september 2015. Een papieren versie is beschikbaar op aanvraag.

De ringtest « telling » voor een specifieke voedingsmatrix zal opnieuw worden georganiseerd in juni 2016.