



EINDRAPPORT

PROFICIENCY TEST
PT 2 - 2018

TELLING
IN VISSERIJPRODUCTEN

WIE WE ZIJN

SCIENSANO telt meer dan 700 medewerkers die zich elke dag opnieuw inzetten voor ons motto: levenslang gezond. Zoals uit onze naam blijkt, vormen wetenschap en gezondheid de kern van ons bestaan. De kracht van Sciensano ligt in de holistische en multidisciplinaire benadering van gezondheid. Onze aandacht gaat daarbij uit naar het nauwe en onlosmakelijke verband tussen de gezondheid van mensen en die van dieren, en hun omgeving (het “One health” concept). Daarom combineren we meerdere invalshoeken in ons onderzoek om op een unieke manier bij te dragen aan ieders gezondheid.

Sciensano kan hiervoor verder bouwen op de meer dan 100 jaar wetenschappelijke expertise van het voormalige Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA) en het vroegere Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV).

Sciensano
Infectieziekten mens - Voedselpathogenen

juni 2018 • Elsene • België



WETENSCHAPPELIJK VERANTWOORDELIJKE: MARIE POLET



TECHNISCHE VERANTWOORDELIJKE: ASTRID HUWAERT



WETENSCHAPPELIJKE GOEDKEURING: NADINE BOTTELDOORN



Dit rapport wordt door Sciensano uitsluitend verdeeld aan de deelnemers van dit ringonderzoek. Sciensano 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.

INTRODUCTIE

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

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

1. VERLOOP VAN DE STUDIE

maandag 25 juni 2018	Bereiding en inoculatie van de stalen
dinsdag 26 juni 2018	Ophalen van de stalen door de deelnemende laboratoria bij Sciensano
woensdag 27 juni 2018	Start analyse door de laboratoria
vrijdag 13 juli 2018	Limietdatum voor het doorsturen van resultaten
donderdag 2 augustus 2018	Preliminair rapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano
donderdag 20 december 2018	Eindrapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- vijf potjes (1, 2, 3, 4, 5) met ongeveer 20 g garnalen
- een datalogger voor temperatuurregistratie (voor de helft van de laboratoria)
- een koelelement
- de instructies

Deelnemende laboratoria :

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

2. SAMENSTELLING VAN DE STALEN

De garnalen werden diepgevroren aangekocht in de supermarkt (van eenzelfde lot) en bewaard bij -19°C. Op de dag van de bereiding van de stalen werden de garnalen ontdooid gedurende twee uur bij kamertemperatuur en daarna beënt met de verschillende kiemen. De garnalen werden artificiël besmet met de volgende stammen:

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

Bovenvermelde stammen zijn afkomstig uit de collectie van het Sciensano.

Artificiële besmetting van de vijf stalen:

Elk staal werd beënt met als doel zowel een lage als een middelmatige contaminatie van het staal te bekomen. Het aantal kiemen in het inoculum werd bepaald door een drievoudige uitplating op een non-selectief medium.

Sommige stalen werden niet beënt en dienden als blanco stalen.

Staal 1: beënt met *E. coli*, *S. aureus* en *L. monocytogenes*

Staal 2: beënt met *B. cereus* en *L. monocytogenes*

Staal 3: beënt met *E. coli*, *S. aureus* en *L. monocytogenes*

Staal 4: beënt met *E. coli* en *B. cereus*

Staal 5: beënt met *S. aureus*, *B. cereus* en *L. ivanovii* (10^2 cfu/g)

Na de beënting werden de stalen gedurende een nacht in de koelkast bewaard.

2. ANALYSE PROCEDURE

Elk staal dient voor de vier parameters geanalyseerd te worden. De procedure voor elk staal is hetzelfde, namelijk:

- . Een monster van 10 g wordt afgenomen waarmee de moederoplossing (1/10) wordt bereid
- . Vervolgens worden de stalen verdund zoals tijdens een routine-analyse binnen het laboratorium
- . Telling: *L. monocytogenes*, coagulase positieve *Staphylococcus* (CPS), *B. cereus*, *E. coli*

Opmerking: Eén laboratorium heeft de telling van CPS en *L. monocytogenes* niet uitgevoerd.

Opmerking: Eén laboratorium heeft de telling van *B. cereus* niet uitgevoerd.

1. GEASSOCIEERDE TESTEN

➤ Homogeniteits- en stabiliteitstest

Voor de ringtest werd een homogeniteitstest uitgevoerd om de beëntingstechniek te valideren. Deze test werd uitgevoerd op elk van de vijf type stalen, voordien geïnoculeerd met de vijf verschillende kiemen. Deze test werd uitgevoerd twee dagen na bereiding van de stalen. De stalen waren homogeen.

Dezelfde dag van de bereiding van de stalen, op maandag 25 juni (dag J), werd het besmettingsniveau bepaald op telkens 1 staal van elk typenummer voor elke kiem.

De homogeniteitstest werd uitgevoerd, op woensdag 27 juni (J+2), op vijf stalen van elk type voor elke beënte kiem. De stalen waren homogeen.

➤ Verificatie van de natuurlijke besmetting van de stalen

Voor de besmetting werd één staal (telling) voor alle geïnoculeerde kiemen evenals voor de totale flora geanalyseerd. Alle resultaten lagen lager dan de detectielimiet voor de kiemen van de proficiency test.

3. PERFORMANTIE VAN DE LABORATORIA : Z-SCORES

De statistische analyses werden uitgevoerd door de dienst « Kwaliteit van de medische laboratoria » van Sciensano.

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

Overzichtstabel van de z-scores van de laboratoria

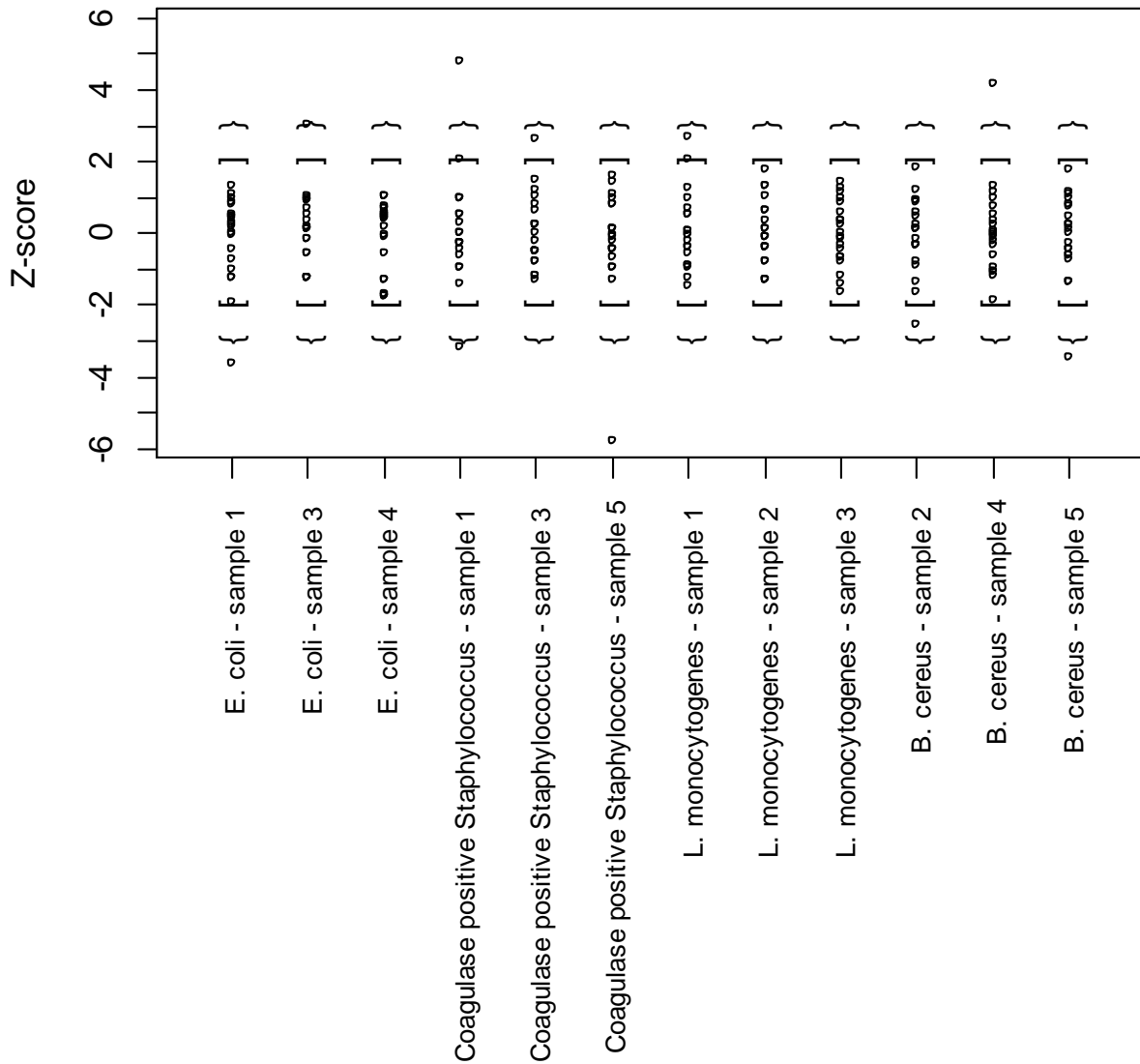
N° Labo	E. coli 1	E. coli 3	E. coli 4	CPS 1	CPS 3	CPS 5	L. monocytogenes 1	L. monocytogenes 2	L. monocytogenes 3	B. cereus 2	B. cereus 4	B. cereus 5
1	-3,64	-0,55	-1,27	-0,61	0,24	-0,45	0,55	0,66	1,13	-0,14	-0,64	-0,59
2	0,20	0,96	0,38	-0,28	0,24	-0,69	-0,40	-0,41	0,88	0,94	-1,04	-0,28
3	-0,03	-0,15	0,19	-3,15	-0,23	0,15	-0,87	0,13	0,25	-0,35	1,00	1,80
4	0,89	0,55	1,05	-0,28	0,65	-0,03	1,27	0,13	1,01	-0,92	-0,24	-0,43
5	-1,21	-1,25	-1,66	0,99	-1,30	-0,24	-0,06	1,77	-0,68	0,94	0,51	1,07
6	0,23	0,95	0,54	-1,40	-1,16	-0,45	-1,46	-0,41	-0,68	0,14	0,09	-0,01
9	0,42	0,95	0,67	0,02	-0,78	-1,28	-0,54	-0,41	-1,41	-0,35	4,16	0,23
10	0,03	-1,25	-1,74							1,85	0,73	-3,43
11	1,34	-1,25	-0,55	-0,98	2,62	1,09	0,06	1,33	1,24	0,57	1,33	1,15
12	-1,02	-0,15	-0,09	0,54	-0,78	-0,94	-0,96	-1,32	-1,20	-0,35	-1,04	0,99
13	0,28	3,00	-1,74	-0,98	-1,16	0,81	-0,87	-0,78	-1,63	-1,33	-1,16	0,44
15	-1,91	0,70	-0,05	0,99	1,01	1,58	0,50	0,66	1,45	1,21	-0,93	-0,75
17	-0,74	-0,55	0,45	0,99	1,18	-5,80	-0,19	-0,11	-0,31	0,87	-0,10	0,73
18	-0,46	0,36	0,38	-0,28	-0,49	-0,09	-0,06	-1,32	-0,11	-2,54	0,36	0,23
20	1,08	1,06	1,05	2,05	-0,49	0,95	2,04	1,03	0,56			
21	-1,21	-1,25	-1,27	4,77	0,24	0,81	2,70	1,33	0,02	0,23	1,18	-1,35
22	0,51	0,14	0,67	0,29	-0,49	0,15	-1,25	-0,11	-0,76	-0,80	0,03	-0,43
23	0,79	0,17	0,75	-0,44	0,01	-0,45	0,95	0,33	0,35	0,49	0,26	0,82
27	0,44	-1,25	0,54	-0,28	0,84	1,46	-0,40	-1,32	-0,17	0,14	-0,04	-0,59
28	0,44	0,14	0,45	0,02	1,50	0,15	0,06	-0,78	-0,45	-1,63	-1,88	-1,35
35	1,00	0,14	0,57	0,54	-0,49	-0,94	0,69	-0,11	0,35	0,14	-0,31	0,11

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

Laboratoria 12, 15 en 21 rapporteerden een vals positief resultaat voor *L. monocytogenes* – staal 5.

Laboratoria 5, 17 et 22 rapporteerden een vals positief resultaat voor *B. cereus* – staal 3, dit echter op zeer lage niveaus (10 kve/g). Een lage heterogene natuurlijke besmetting van de

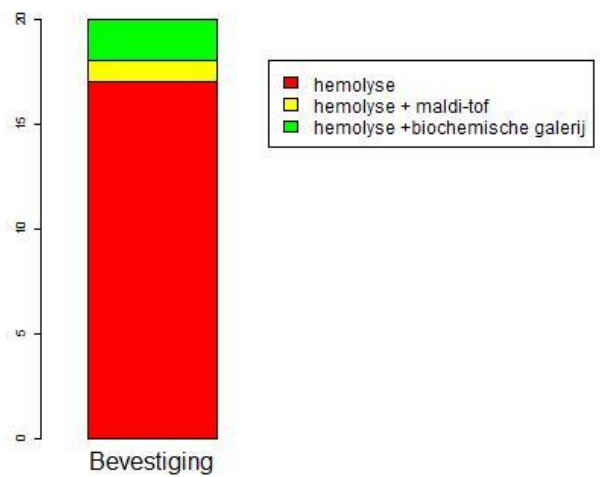
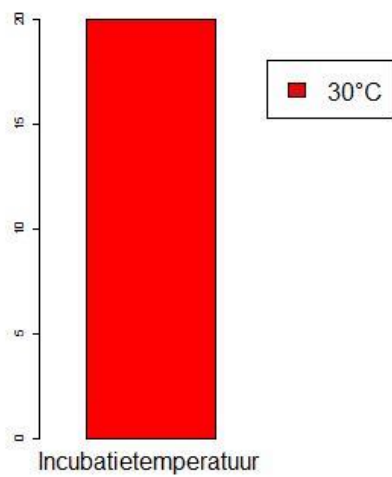
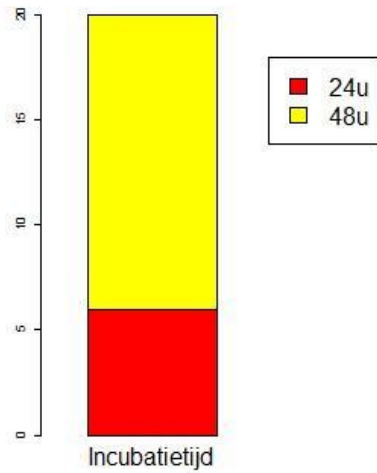
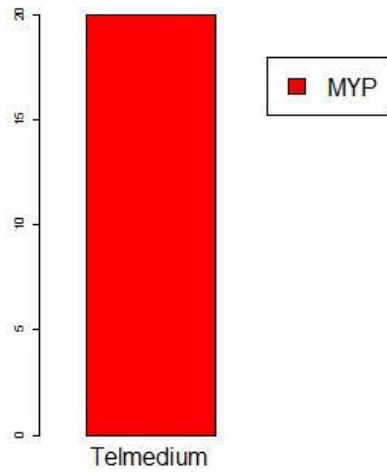
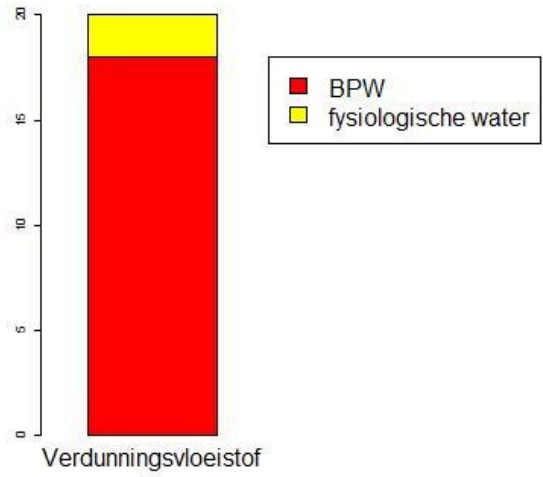
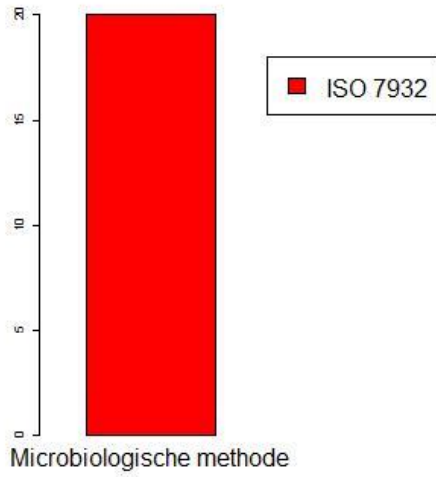
matrix kon niet uitgesloten worden. Dit staal werd dus niet geëvalueerd voor deze laatste drie laboratoria.

2. ROBUUST GEMIDDELDE (X) EN ROBUUSTE STANDAARDAFWIJKING (SD)

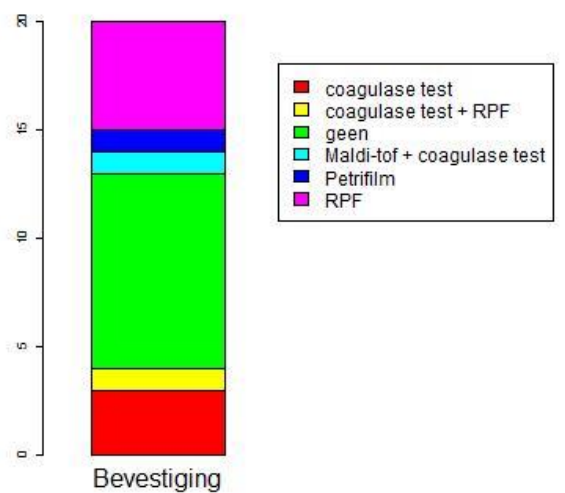
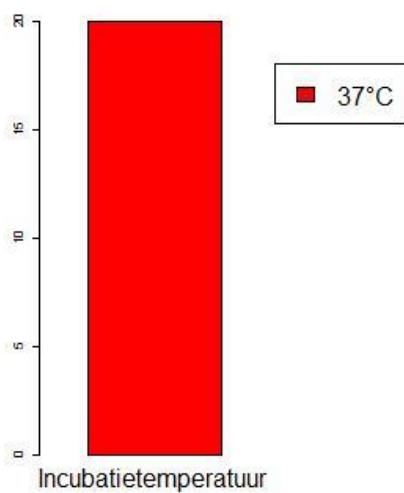
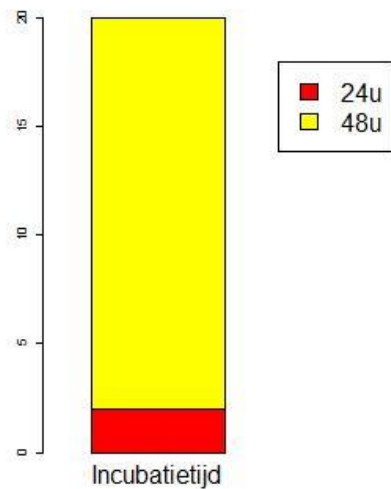
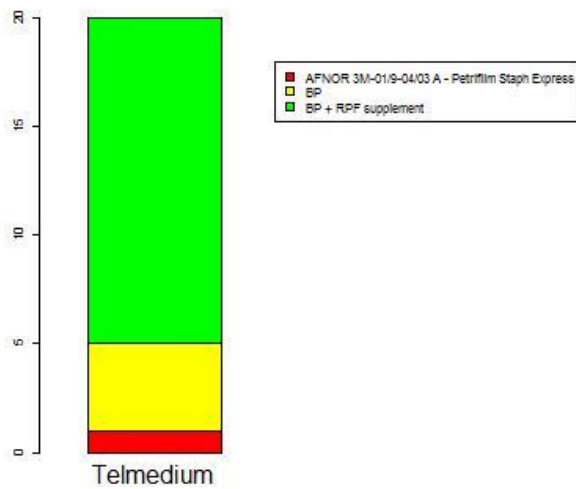
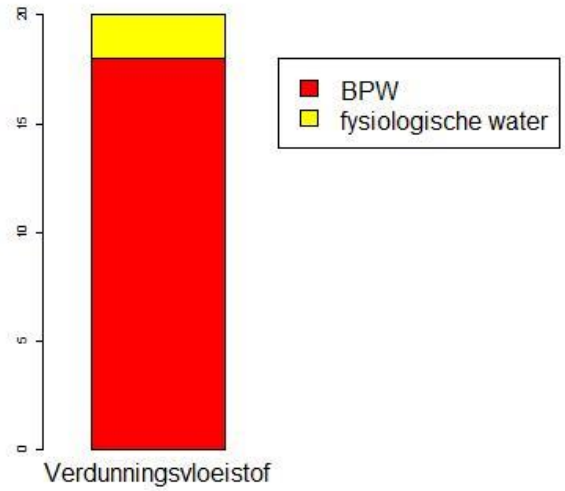
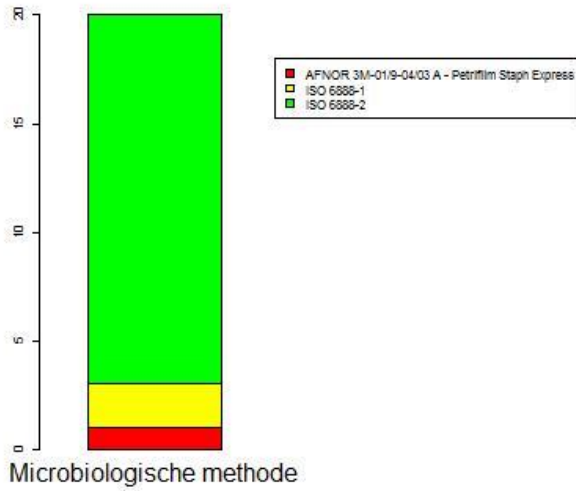
Kiem (staal)	robust X	robuste SD
<i>L. monocytogenes</i> (1)	2.602	0.177
<i>L. monocytogenes</i> (2)	1.737	0.331
<i>L. monocytogenes</i> (3)	2.621	0.171
CPS (1)	2.039	0.138
CPS (3)	3.145	0.132
CPS (5)	3.181	0.148
<i>E. coli</i> (1)	2.681	0.296
<i>E. coli</i> (3)	1.541	0.434
<i>E. coli</i> (4)	2.638	0.539
<i>B. cereus</i> (2)	2.524	0.137
<i>B. cereus</i> (4)	2.456	0.242
<i>B. cereus</i> (5)	2.258	0.191

7. BIJKOMENDE INFORMATIE

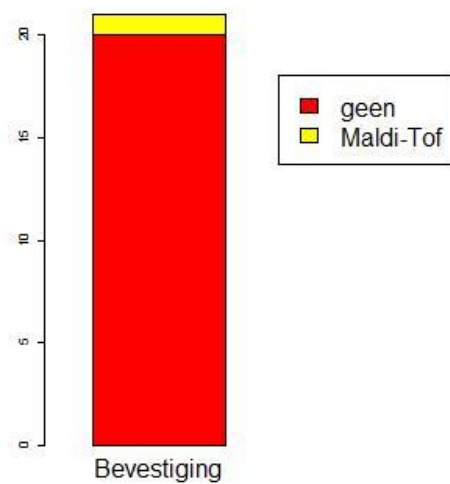
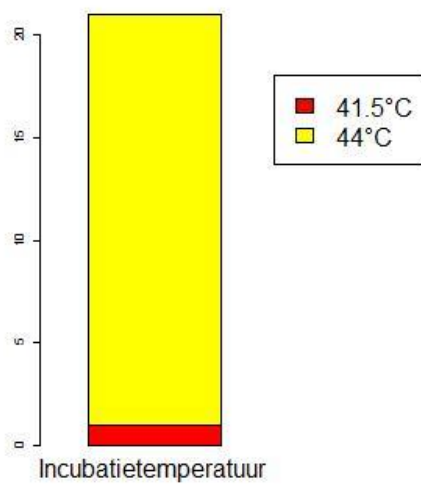
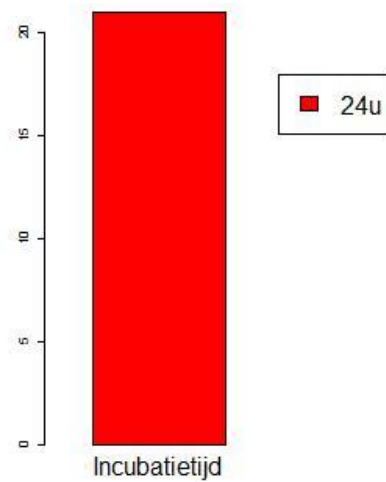
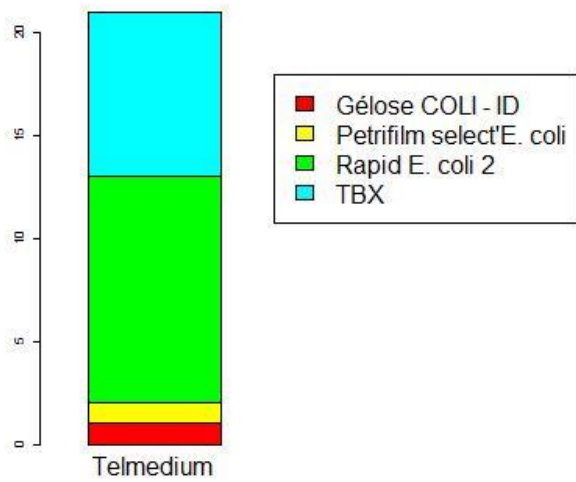
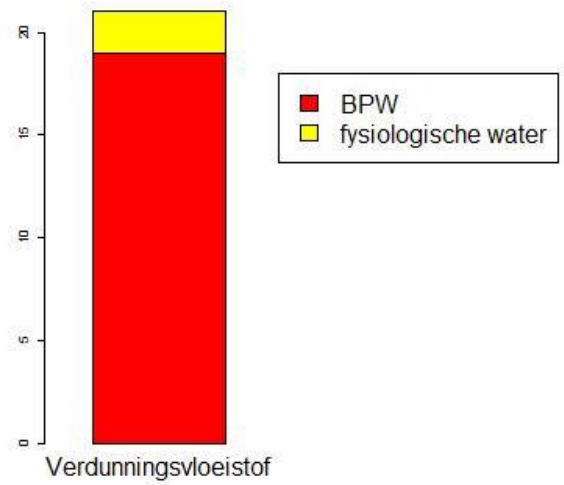
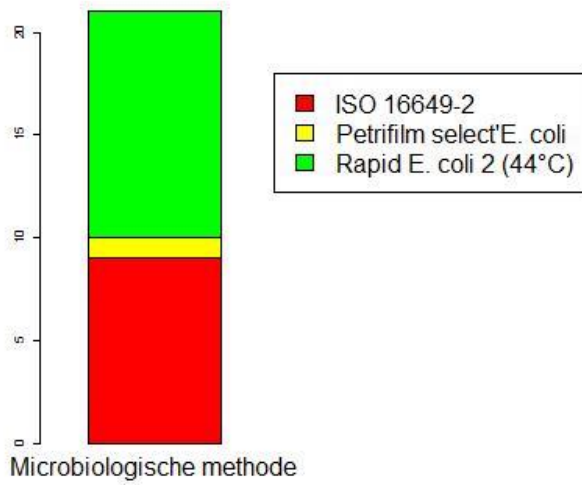
B. cereus



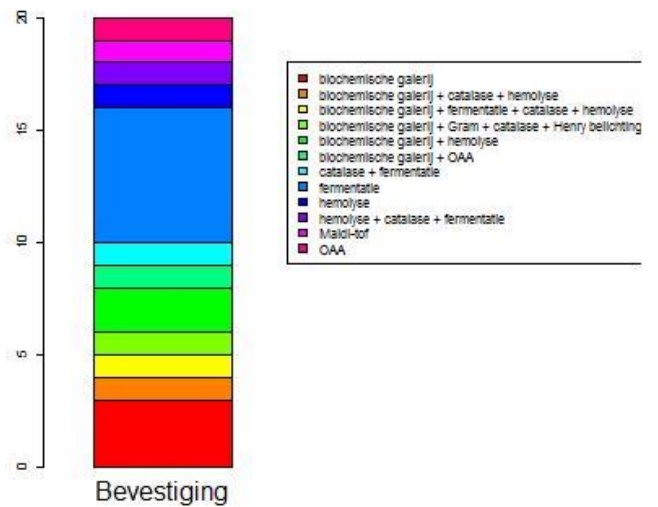
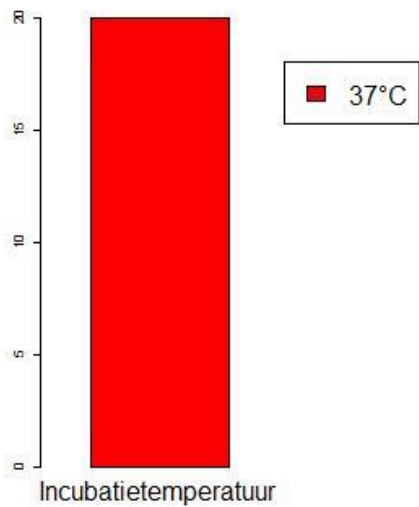
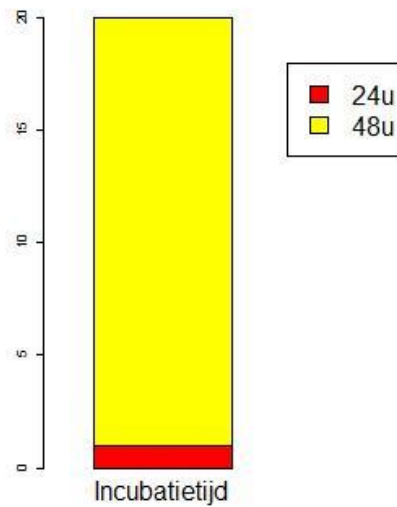
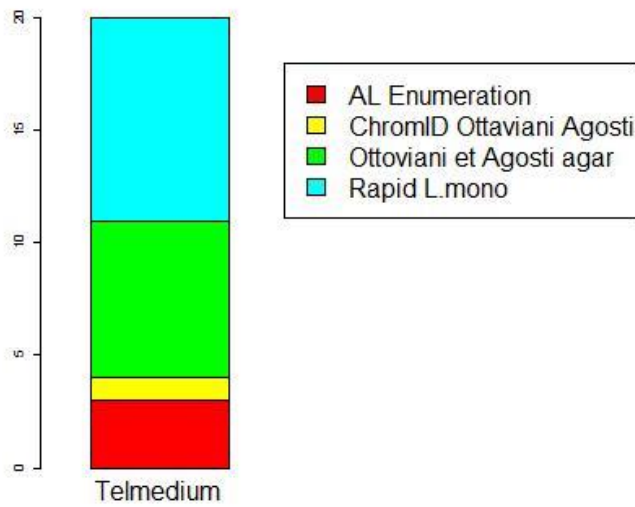
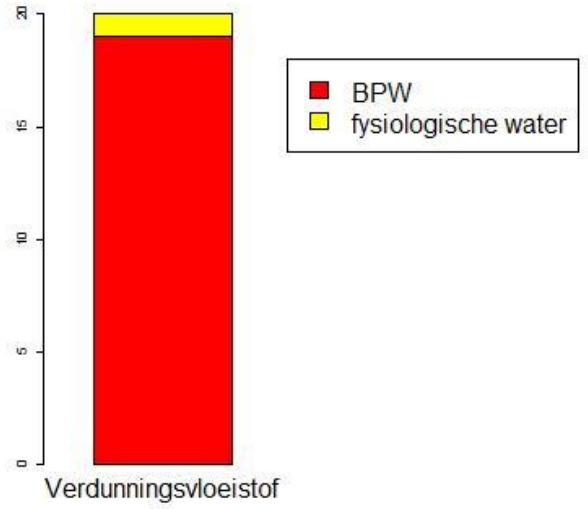
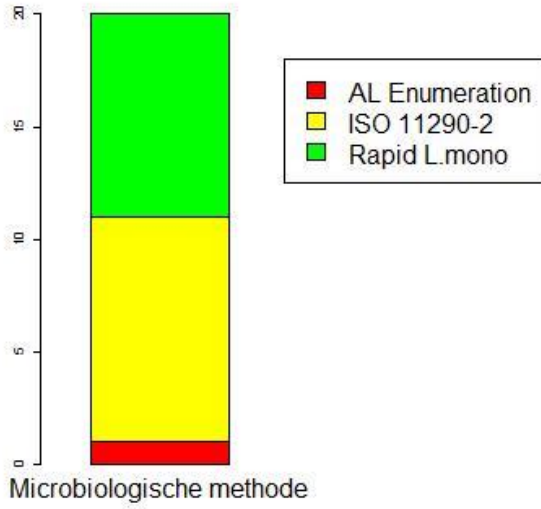
CPS



E. coli



L. monocytogenes



8. DISCUSSION EN BESLUIT

De “garnalen” matrix is op natuurlijke wijze in lage concentraties gecontamineerd (mesofiele aerobe flora met grootteorde 10^2 kve/g op de dag van de besmetting van de stalen).

Tot de resultaten met beoordeling “onvoldoende” behoren voornamelijk de vals positieve resultaten voor de telling van *L. monocytogenes*, staal 5. Dit betreft drie van de 21 laboratoria ondanks dit in het vorige verslag reeds werd vermeld. De vals positieve resultaten vertoonden een identiek contaminatieniveau als de *L. ivanovii* die we in die stalen hadden geïnoculeerd. Het NRL merkt ook de aanwezigheid van drie vals positieve resultaten op voor *B. cereus* (drie laboratoria), echter op zeer lage niveaus (10 kve/g). Zoals voordien al vermeld, is een natuurlijke besmetting op zo'n lage niveaus niet onwaarschijnlijk. Het NRL heeft dus deze resultaten niet in rekening genomen in de beoordeling van de laboratoria.

Onderstaande redenen zijn de voornaamste oorzaken van de resultaten met beoordeling “niet conform”:

- inversie van de stalen tijdens de uitplating van het telmedium
- fouten in de gerapporteerde resultaten in vergelijking met de analyseresultaten (3 laboratoria!)
- mogelijke fouten tijdens het pipetteren
- geen specifieke oorzaak gevonden

Voor alle stalen zijn:

97 % van de resultaten aanvaardbaar voor de telling van *L. monocytogenes*

99 % van de resultaten aanvaardbaar voor de telling van *E. coli*

98 % van de resultaten aanvaardbaar voor de telling van coagulase positieve *Staphylococcus*

98 % van de resultaten aanvaardbaar voor de telling van *B. cereus*

Een individueel preliminair rapport werd op 2 augustus 2018 elektronisch verzonden. Dit rapport evalueert de performantie van het laboratoria, in vergelijking met de andere laboratoria, en de besmetting van de stalen (een overzicht van de besmette stalen en het robuuste gemiddelde van de resultaten van de deelnemers wordt gegeven). Het eindrapport werd elektronisch verzonden op 20 december 2018. Een papieren versie is beschikbaar op aanvraag.

De ringtest « telling » voor een specifieke voedingsmatrix zal opnieuw georganiseerd worden in juni 2019.

CONTACT

Marie Polet • marie.polet@sciensano.be • T +32 2 6425086

MEER INFORMATIE

Afspraak op onze webpagina
www.sciensano.be of contacteer ons
via info@sciensano.be

Sciensano • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België • T +32 2 642 51 11 • T pers +32 2 642 54 20 • info@sciensano.be
• www.sciensano.be

Verantwoordelijke uitgever : Pierre Kerkhofs, Algemeen directeur • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België