

# RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE  
JUN 2015

PT – 2 DENOMBREMENT DANS LE SURIMI

Ce rapport est distribué par l'ISP exclusivement aux participants de cet essai d'aptitude. L'ISP décline toute responsabilité quant à l'utilisation de ce document par ses détenteurs. Les destinataires de ce rapport sont les seuls responsables de son usage.

Section: Pathogènes alimentaires  
Auteur : Marie Polet  
Responsable scientifique : Marie Polet  
Responsable technique : Astrid Huwaert  
Approbation scientifique : Nadine Botteldoorn  
Rue J. Wytsman 14  
1050 Bruxelles | Belgique



Cet essai d'aptitude portait sur l'énumération de 5 germes dans une matrice alimentaire naturellement contaminée en flore mésophile. Cette année, la matrice choisie était le surimi en miettes.

Cette étude a été organisée par le Laboratoire National de Référence (LNR) en microbiologie alimentaire en collaboration avec l'AFSCA et était destinée aux laboratoires agréés par l'AFSCA.

## 1. Déroulement de l'étude

lundi 15 juin 2015	préparation et inoculation des échantillons
mardi 16 juin 2015	transport des colis vers les 2 dispatchings de l'AFSCA (Melle et Gembloux) par un chauffeur de l'ISP et retrait des échantillons par les laboratoires participants
mercredi 17 juin 2015	laboratoires débutent les analyses
mercredi 1 juillet 2015	date limite pour rendre les résultats à l'ISP
vendredi 17 juillet 2015	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
lundi 28 septembre 2015	rapport final envoyé aux laboratoires par l'ISP

Chaque colis contenait :

- 6 tubes (1, 2, 3, 4, 5 et 6) contenant chacun environ 30 g de surimi
- un traceur de température (pour la moitié des laboratoires)
- un bloc réfrigérant
- les instructions



ILVO – VOEDING	Melle
SGS	Anvers
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
ISP	Bruxelles
BIOTOX	Jabbeke
LARECO	Marche-en-Famenne
EUROFINS	Brugge
BRULABO	Bruxelles
CARAH	Ath
HVS	Mons

21 laboratoires ont participé.



## 2. Composition des échantillons

Le surimi en miettes a été acheté en grand magasin (deux lots différents) et a été congelé pendant une période de 1 semaine. Le jour de la préparation des échantillons, le surimi a été décongelé pendant 3h à température ambiante et ensuite contaminé par différents germes . L'inoculation artificielle a eu lieu avec les souches suivantes:

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

Ces souches proviennent de la collection de l'ISP .

### Contamination artificielle des 6 échantillons :

Chaque échantillon a été contaminé à une concentration de x log cfu/g/germe (voir tableau 1), afin de mimer des contaminations faible et moyenne. La quantité de germes dans l'inoculum a été déterminée par un dénombrement en triple sur un milieu TSA.

Certains échantillons n'ont pas été contaminés pour certains paramètres = blancs.

Tableau 1 : Aperçu de la contamination des échantillons 1-6 (quantité en 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	/	/

Après contamination, les échantillons ont été conservés au frigo pendant une nuit avant leur envoi.



### 3. Procédure d'analyse

Pour les 6 échantillons, 5 paramètres étaient à analyser. La procédure était identique pour chaque échantillon, à savoir :

- . Sous-échantillonner 10g du pot et préparer la suspension mère (SM) à partir de ceux-ci
- . Pour la suite, procéder de la même manière que lors des analyses de routine
- . Dénombrer : *Pseudomonas spp*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus coagulase positive (CPS)*, *B. cereus*, *E. coli*

Tous les laboratoires ont effectué le dénombrement de CPS, *L. monocytogenes*, *E. coli*.

1 laboratoire n'a pas effectué le dénombrement de *B. cereus*.

10 laboratoires n'ont pas effectué le dénombrement de *Pseudomonas spp*.

### 4. Analyses associées

#### ➤ Tests d'homogénéité et de stabilité

Les échantillons ont été préparés le lundi 15 juin et un test d'homogénéité a été réalisé le jour-même sur 5 échantillons de chaque type pour chaque paramètre. Tous les paramètres des différents échantillons étaient homogènes. Des tests de stabilité et d'homogénéité ont été réalisés le mercredi 17 juin sur les 5 types d'échantillons, en triple. Les échantillons étaient stables, excepté pour *Pseudomonas spp* mais ceux-ci étaient toujours homogènes, sauf pour l'échantillon n°2 qui n'est donc pas rentré en compte dans l'évaluation des laboratoires. Les données sont disponibles dans la feuille Excel « homogénéité-stabilité-EAsurimi2015 ».



➤ Vérification de la contamination naturelle des échantillons

Un échantillon blanc par lot a été analysé (dénombrement) pour tous les paramètres ainsi que la flore totale. Tous les résultats étaient inférieurs à la limite de détection pour les paramètres de l'essai d'aptitude et la contamination était inférieure à la limite de détection ou faible pour la flore totale. De plus, lors des tests d'homogénéité, pour chaque type d'échantillon, deux analyses ont été réalisées pour les paramètres non inoculés. Les résultats étaient inférieurs à la limite de détection.

## **5. Performance des laboratoires : z-scores**

L'analyse statistique a été réalisée par le service « Qualité des laboratoires médicaux ».

Le z-score par paramètre est calculé à l'aide de la moyenne robuste et de l'écart-type robuste des résultats de tous les participants.



### Tableau récapitulatif des z-scores des laboratoires

CPS = *Staphylococcus coagulase positive*

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 entre 2 et 3 ou entre -2 et -3  
 Z-score > 3 ou < -3  
 analyse non réalisée



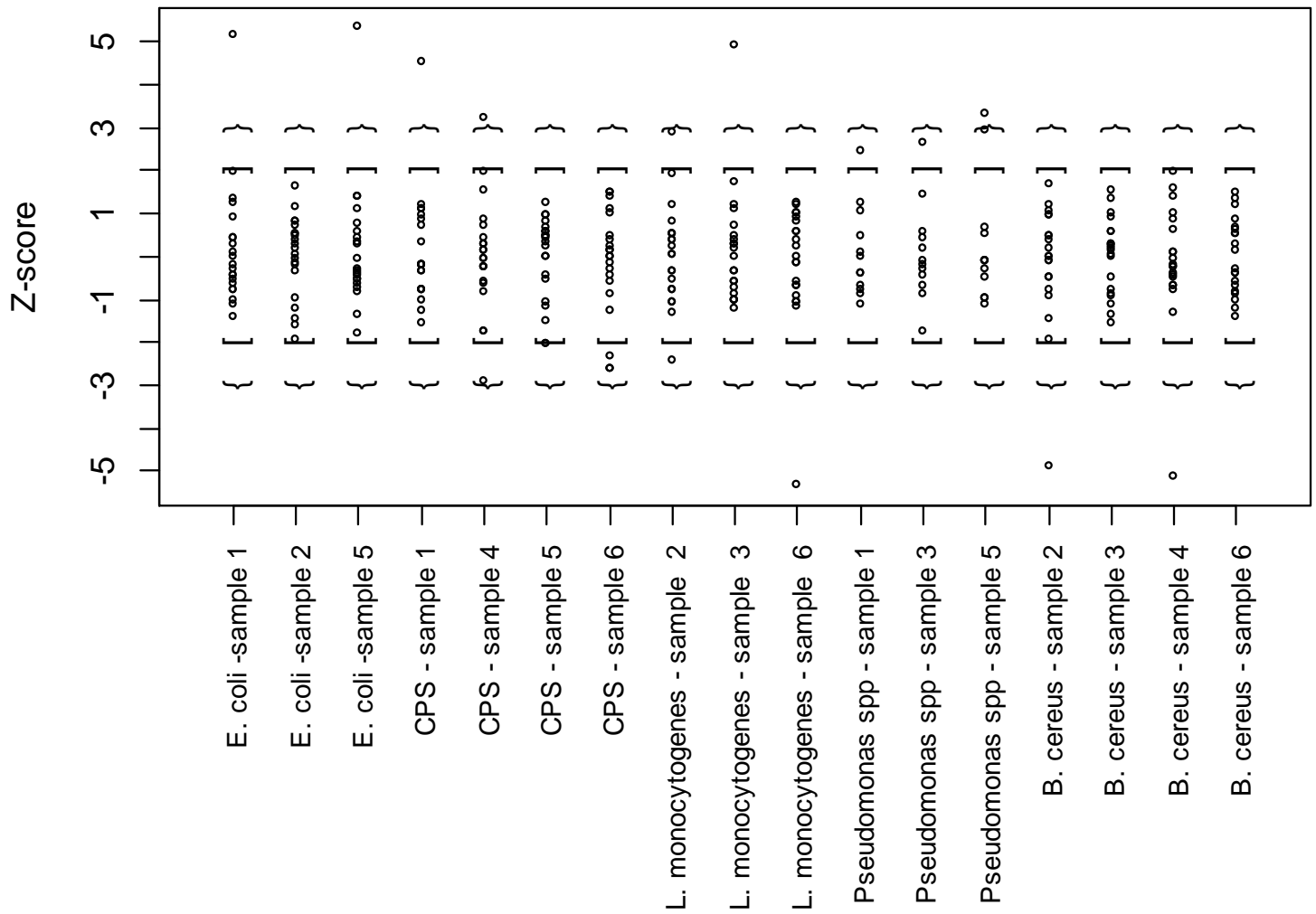
N° labo	Pseudomonas 1	Pseudomonas 3	Pseudomonas 5	B. cereus 2	B. cereus 3	B. cereus 4	B. cereus 6
1	1.04	1.42	2.94	1.71	1.53	1.39	1.49
2				-0.11	0.05	-0.38	-1.03
3	0.47	-0.20	-0.10	1.08	-0.48	-0.26	0.52
4	-0.02	-0.70	-0.50	-0.91	-1.54	-0.50	-1.40
5	-1.13	-0.30	-0.97	-1.46	-1.14	-0.70	-0.67
6				-0.48	-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 entre 2 et 3 ou entre -2 et -3  
 Z-score > 3 ou < - 3  
 analyse non réalisée





Graphique des z-scores des laboratoires



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

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



### Faux-positifs, faux-négatifs

Le laboratoire 22 a rapporté un résultat faux-positif pour CPS - échantillon 3.

Le laboratoire 4 a rapporté un résultat faux-positif pour *L. monocytogenes* - échantillon 4.

Le laboratoire 6 a rapporté un résultat faux-positif pour *L. monocytogenes* - échantillon 5.

Le laboratoire 28 a rapporté un résultat faux-positif pour *L. monocytogenes* - échantillons 4 et 5 et *B. cereus* – échantillon 5.

### **6. Moyenne robuste (X) et écart-type robuste (SD)**

<b>Germe (échantillon)</b>	<b>X robuste</b>	<b>SD robuste</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



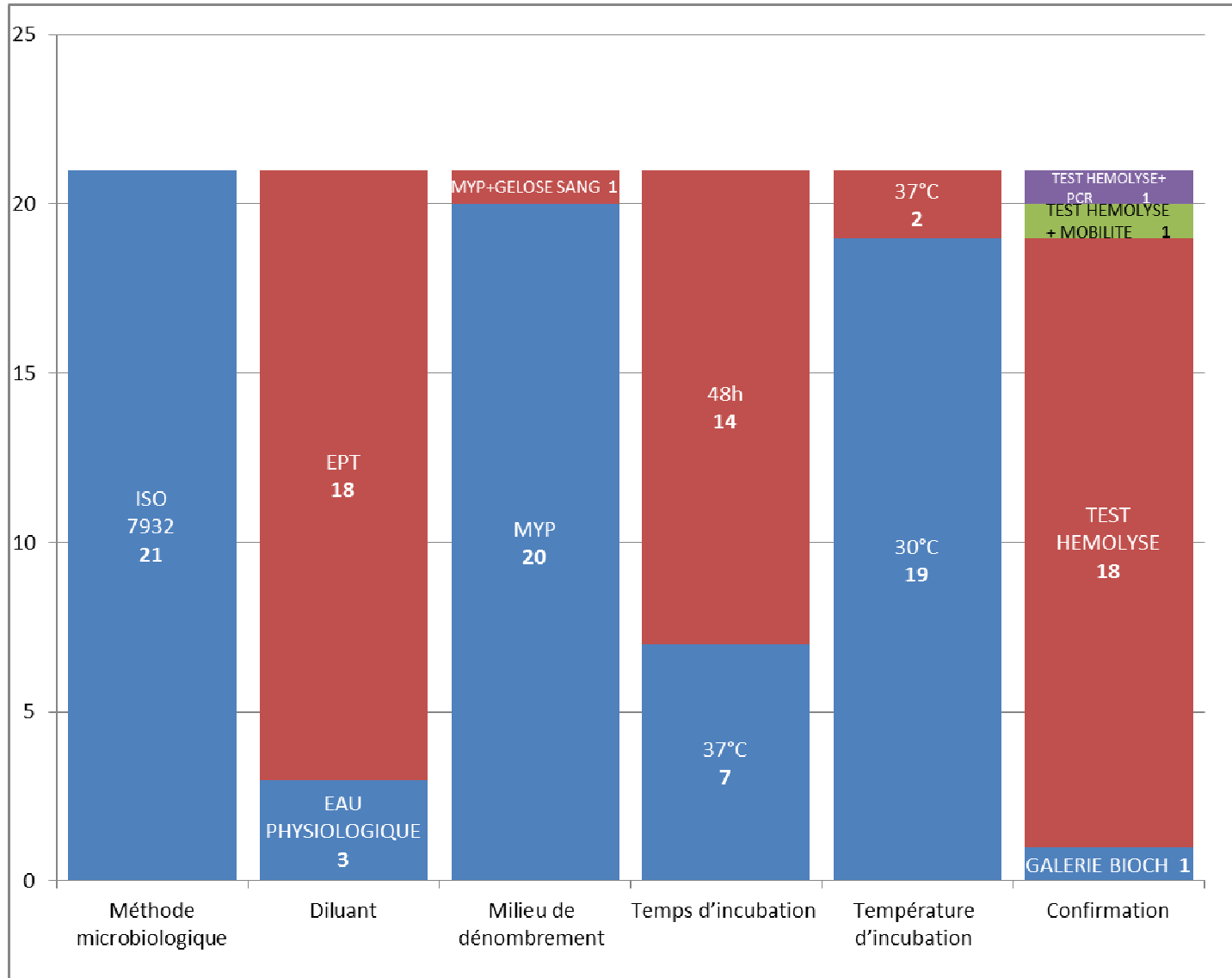
Voici à titre indicatif un tableau comparatif des écarts-types robustes (SD robustes) de l'essai de juin 2015 avec les écarts-types robustes calculés lors des EIL RAEMA 38 et Requasud et lors des essais de juin 2013 et 2014 de l'ISP.

	<b>moyenne SD robustes ISP juin 2013</b>	<b>moyenne SD robustes ISP juin 2014</b>	<b>moyenne SD robustes ISP juin 2015</b>	<b>moyenne SD robustes RAEMA 38</b>	<b>moyenne SD robustes 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



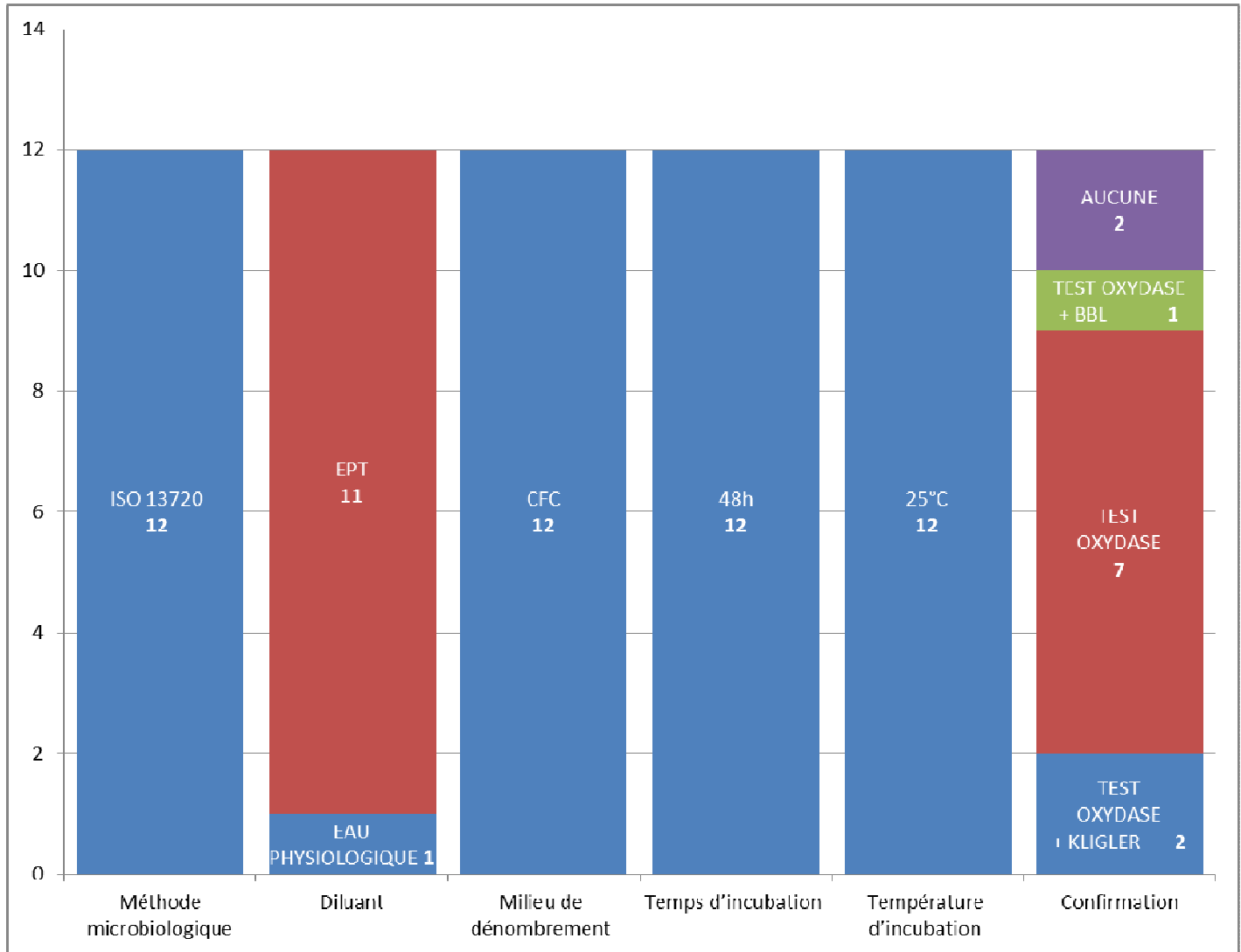
## 7. Informations complémentaires

### *Bacillus cereus*



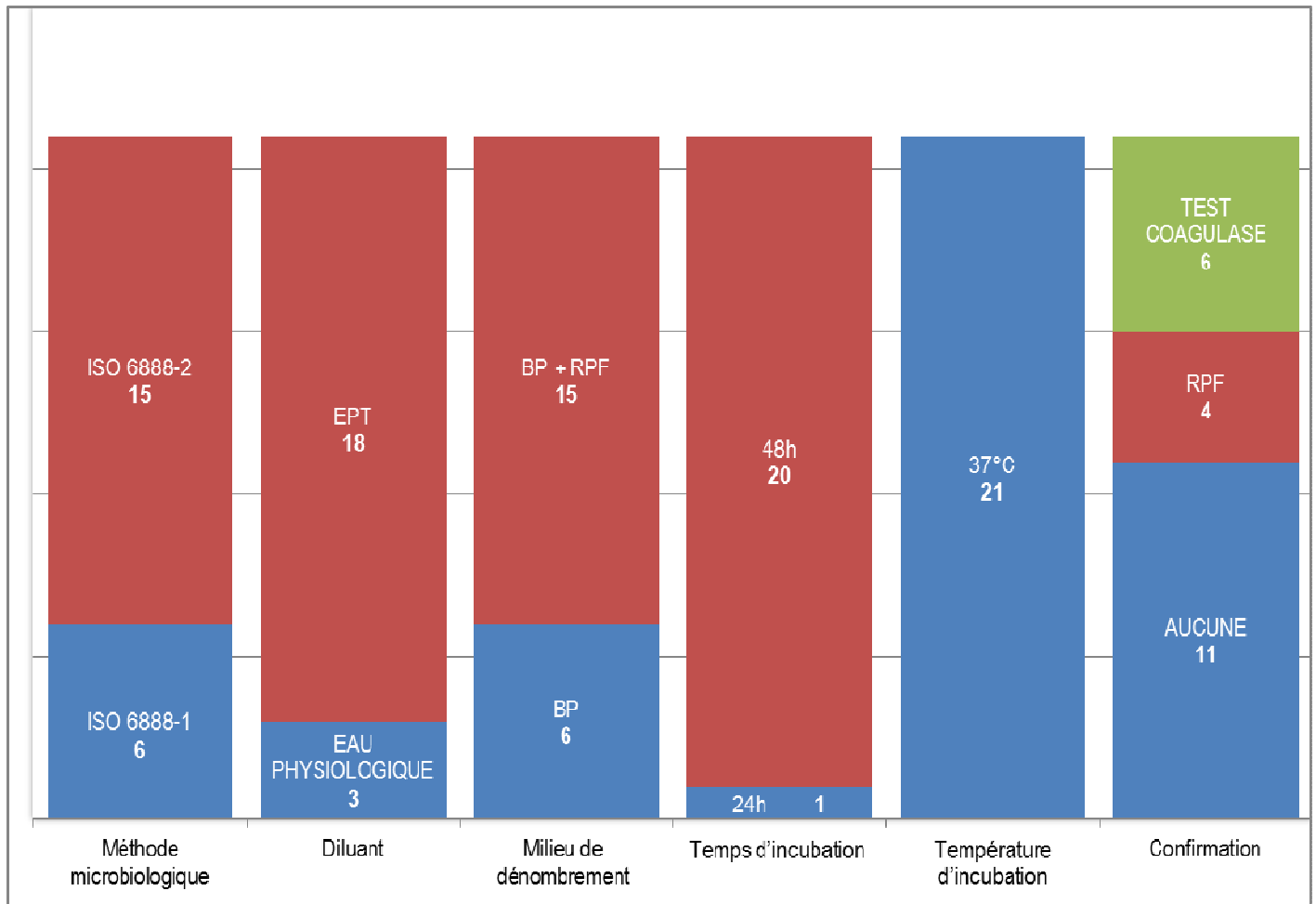


*Pseudomonas spp.*



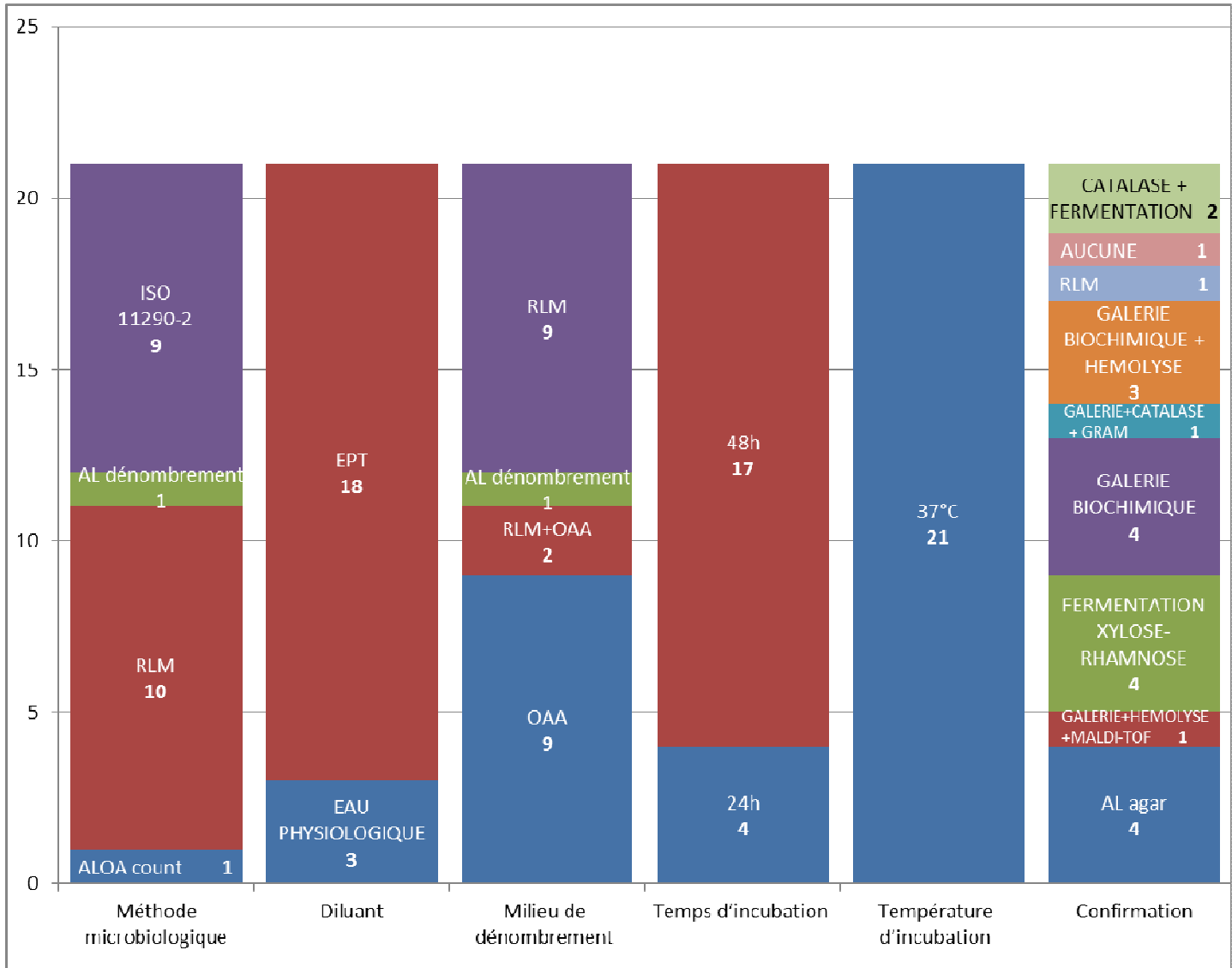


### *Staphylococcus aureus*



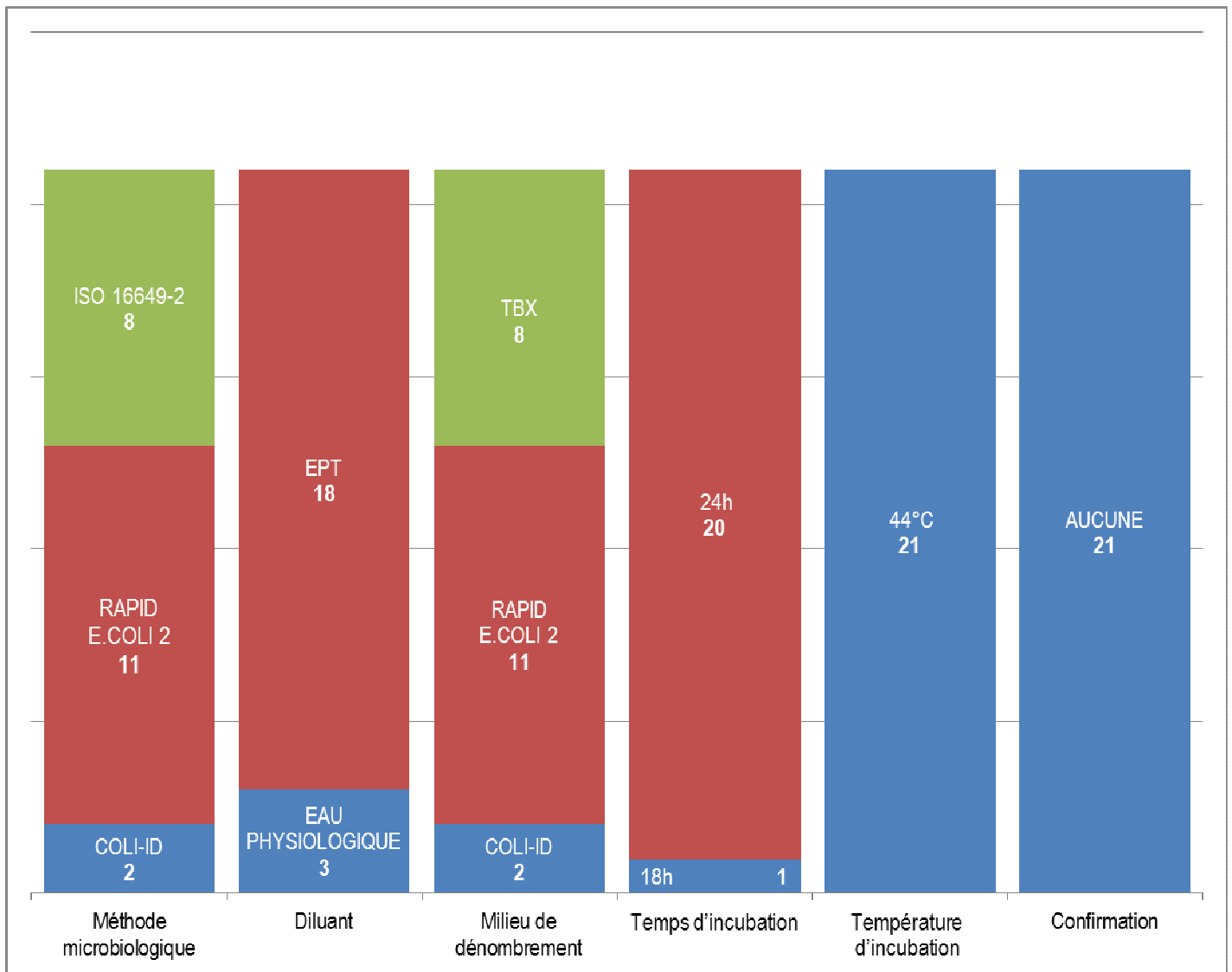


*Listeria monocytogenes*





### *Escherichia coli*







## 8. Discussion et conclusions

Le surimi est une matrice très peu contaminée naturellement.

L'essai d'aptitude s'est dans l'ensemble bien déroulé.

Beaucoup de laboratoires ont pu retrouver la cause de leur résultat non-satisfaisant.

Voici les principales causes :

- Erreur lors de la transmission des résultats à l'ISP
- Erreur de calcul
- Utilisation de réactifs périmés
- Non-suivi de la procédure d'analyse par le technicien
- Technicien en formation
- Pas de cause trouvée

Tous les échantillons confondus,

95 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *L. monocytogenes*

98,4 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *E. coli*

98 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *Pseudomonas spp.*

97,6 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *Staphylococcus*  
coagulase positive

97,5 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *B. cereus*

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 14 juillet 2015. Le rapport final est envoyé le lundi 28 septembre 2015 en version électronique. Une version papier est disponible sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « dénombrement » sur une matrice différente sera organisé en juin 2016.