

# RAPPORT FINAL

TEST D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE  
JUN 2013

MATRICE: CREME PATISSIERE

DENOMBREMENT

Section: Pathogènes alimentaires  
Polet Marie  
Botteldoorn Nadine  
Rue J. Wytsman 14  
1050 Bruxelles | Belgique

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



Cette étude inter-laboratoires porte sur l'énumération de 5 germes dans une matrice alimentaire réelle. Cette année, la matrice choisie était de la crème pâtissière.

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 17 juin 2013	préparation et inoculation des échantillons de crème pâtissière
mardi 18 juin 2013	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 19 juin 2013	laboratoires débutent les analyses
vendredi 21 juin 2013	contact (mail) pris avec les laboratoires pour signaler un incident technique survenu avec les échantillons à l'ISP
lundi 1 <sup>er</sup> juillet 2013	date limite pour rendre les résultats à l'ISP
jeudi 18 juillet 2013	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
4 novembre 2013	rapport final envoyé aux laboratoires par l'ISP

Chaque colis contenait :

- 5 pots (1, 2, 3, 4, 5) contenant chacun environ 30 g de crème pâtissière
- un traceur de température (pour quelques laboratoires)
- un bloc réfrigérant
- le n° du laboratoire



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
AGRO-ANALYSES	Metz, France
CHEMIPHAR	Bruges
CVVH	Vorst-Laakdal
BRULABO	Bruxelles
CARAH	Ath
MICROBIOMETRIX	Sint-Katelijne-Waver
HVS	Mons

24 laboratoires ont participé.



## 2. Composition des échantillons

Les échantillons ont été préparés le lundi 17 juin à partir de crème pâtissière en poudre et de lait achetés en grand magasin. L'inoculation artificielle a eu lieu juste après la préparation de la crème pâtissière 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>
référence	RM LYO 4389	RM 5325	RM 6647	RM 6151	RM LYO 2329
source	ATCC 25923	/	/	/	LMG 8223

Ces souches ont été fournies par le service « Qualité des laboratoires médicaux ».

### Contamination artificielle des 5 échantillons :

Chaque échantillon a été contaminé à une concentration de x log cfu/g/germe, afin de mimer des contaminations faibles et moyennes.

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

[x] : concentration en log cfu/g

	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>
1	3.28	2.92	4.04	absent	3.52
2	4.28	3.92	absent	4.43	absent
3	4.30	absent	5.04	absent	4.52
4	absent	3.92	4.04	4.43	3.52
5	4.30	absent	5.04	absent	4.52

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

Ces concentrations initiales ont varié à la suite d'une coupure de courant du frigo dans lequel étaient conservés les échantillons, dans la nuit du lundi 17 juin au mardi 18 juin.



Les tests de stabilité effectués le mercredi 19 juin sur une série d'échantillons ont démontré que les concentrations des différents germes ont augmenté par rapport aux concentrations initiales, mais de manière similaire pour chaque échantillon (voir test stabilité point 4).

### 3. Procédure d'analyse

Pour les 5 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 +* (CPS), *B. cereus*, *E. coli*

Tous les laboratoires ont effectué le dénombrement de *Staphylococcus coagulase +*.

Tous les laboratoires ont effectué le dénombrement d'*E. coli*.

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

12 laboratoires n'ont pas rapporté le dénombrement de *L. monocytogenes*

16 laboratoires n'ont pas rapporté le dénombrement de *Pseudomonas spp*.

### 4. Tests d'homogénéité et de stabilité

Les échantillons ont été préparés le lundi 17 juin et un test d'homogénéité a été réalisé le jour-même sur 5 pots de chaque type d'échantillon pour chaque paramètre. Tous les paramètres étaient homogènes (voir coefficient de variation dans le tableau ci-dessous).

Les tests de stabilité ont été réalisés le mercredi 19 juin sur les 5 types d'échantillons, en triple. Les valeurs n'étaient pas stables (voir valeurs moyennes de stabilité dans le



Rapport final test d'aptitude dénombrement 2013 | LNR Microbiologie alimentaire |  
 tableau ci-dessous). Toutefois, les échantillons étaient toujours homogènes (voir CV  
 de la stabilité dans le tableau ci-dessous).

		Homogénéité		Stabilité	
		17/06/2013		19/06/2013	
		Valeurs moyennes en log cfu/g	CV	Valeurs moyennes en log cfu/g	CV
<b>1</b>	<i>Bacillus cereus</i>	absent	absent	absent	absent
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,86 ± 0.18	0,06	4.34 ± 0.09	0,02
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.18 ± 0.10	0,02	5.52 ± 0.08	0,01
	<i>Listeria monocytogenes</i>	2.29 ± 0.07	0,03	4.31 ± 0.11	0,03
	<i>Escherichia coli</i>	2.93 ± 0.04	0,01	3.59 ± 0.05	0,01
<b>2</b>	<i>Bacillus cereus</i>	3.76 ± 0.05	0.01	4.77 ± 0.15	0.03
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.89 ± 0.10	0.03	5.39 ± 0.19	0.04
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	absent	/	absent	/
	<i>Listeria monocytogenes</i>	3.42 ± 0.10	0.03	5.20 ± 0.03	0.01
	<i>Escherichia coli</i>	absent	/	absent	/
<b>3</b>	<i>Bacillus cereus</i>	absent	/	absent	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.86 ± 0.08	0.02	5.45 ± 0.08	0.02
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.41 ± 0.19	0.04	6.65 ± 0.28	0.04
	<i>Listeria monocytogenes</i>	absent	/	absent	
	<i>Escherichia coli</i>	4.12 ± 0.05	0.01	4.62 ± 0.18	0.04
<b>4</b>	<i>Bacillus cereus</i>	3.79 ± 0.05	0.01	5.30 ± 0.13	0.02
	<i>Staphylococcus aureus</i>	absent	/	absent	/
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.53 ± 0.09	0.02	5.92 ± 0.06	0.01
	<i>Listeria monocytogenes</i>	3.56 ± 0.16	0.05	5.61 ± 0.10	0.02
	<i>Escherichia coli</i>	3.19 ± 0.02	0.01	4.24 ± 0.17	0.04



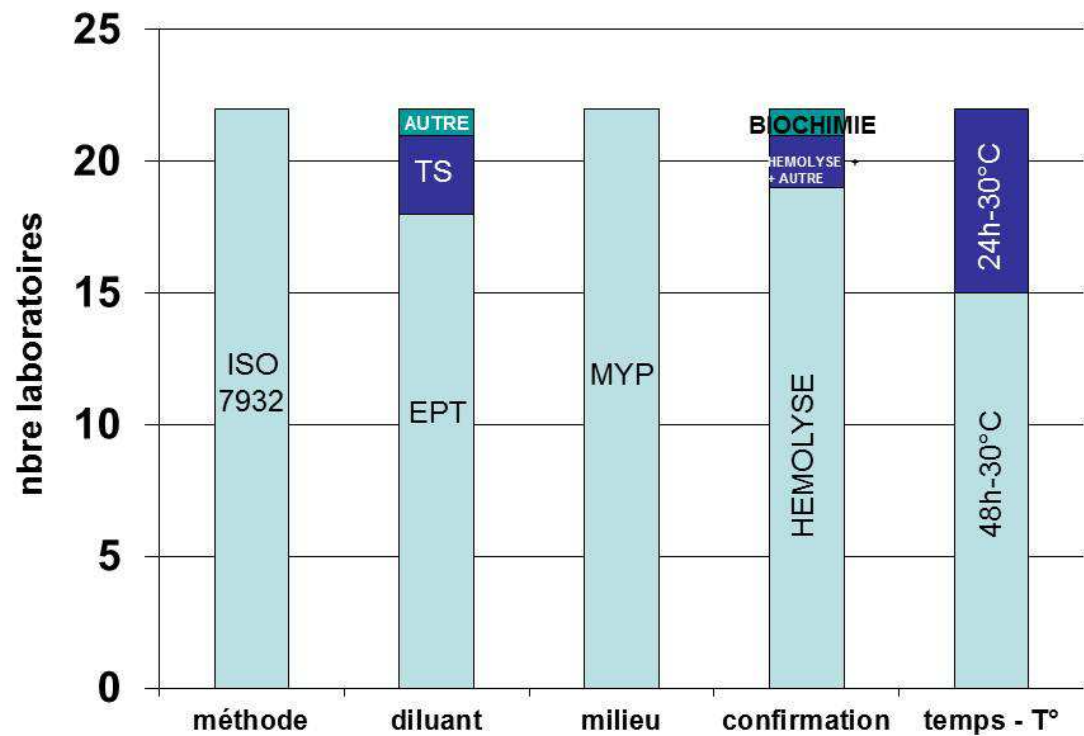
5	<i>Bacillus cereus</i>	absent	/	absent	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.87 ± 0.16	0.04	5.56 ± 0.15	0.03
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.19 ± 0.08	0.02	6.51 ± 0.07	0.01
	<i>Listeria monocytogenes</i>	absent	/	absent	/
	<i>Escherichia coli</i>	4.15 ± 0.03	0.01	4.86 ± 0.08	0.02

CV = coefficient de variation

Critères d'acceptation : CV < 15%

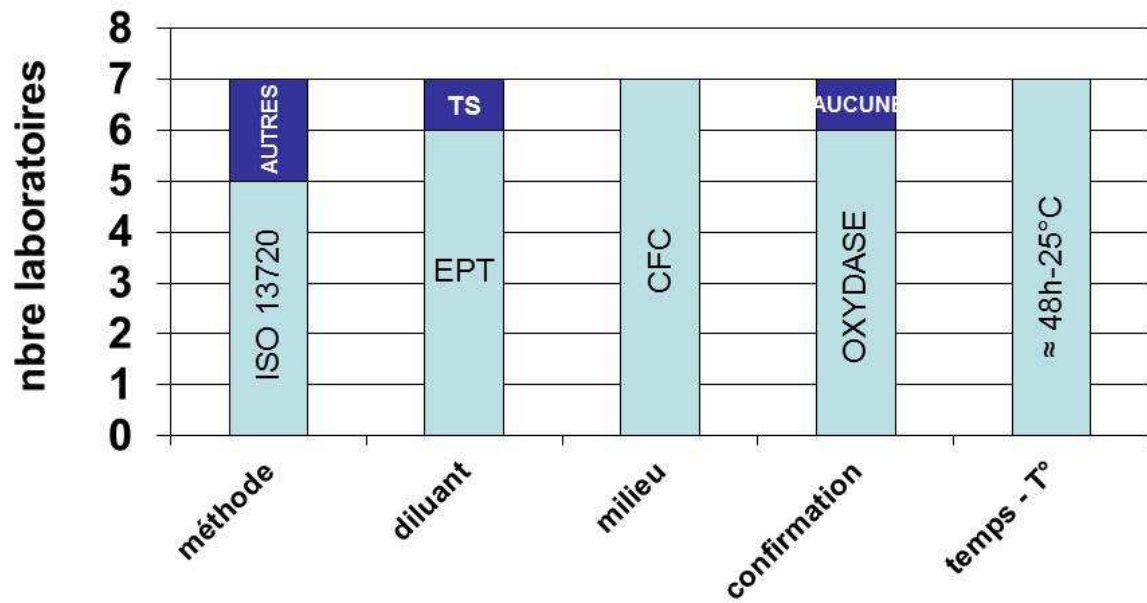
## 5. Compte-rendu des analyses

### *Bacillus cereus*





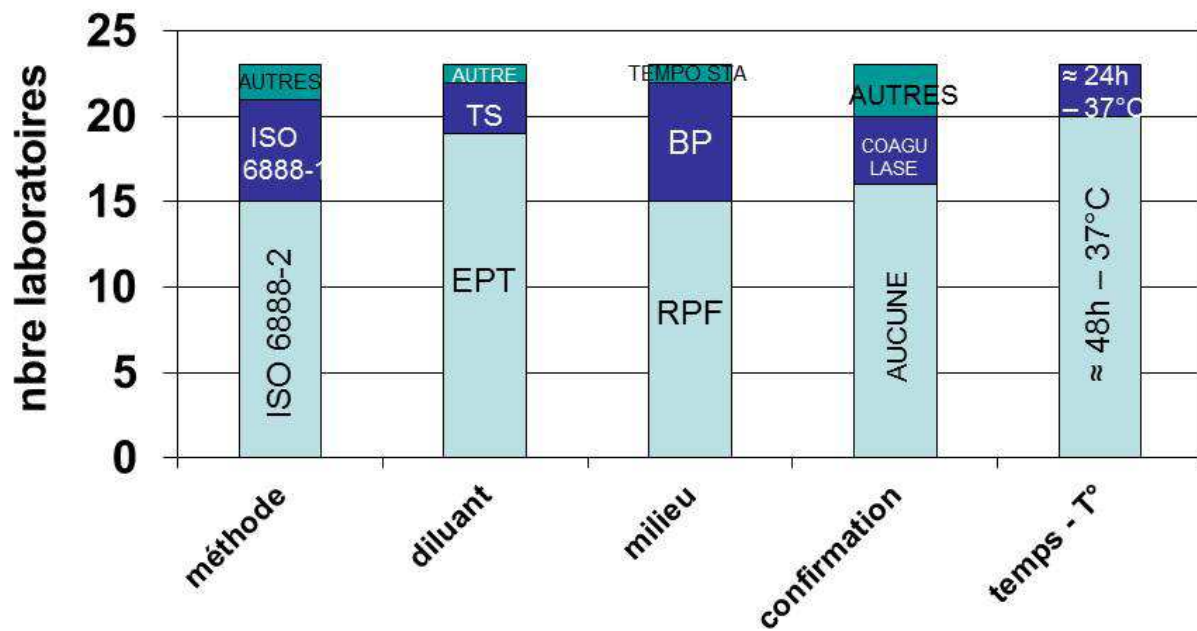
*Pseudomonas spp.*





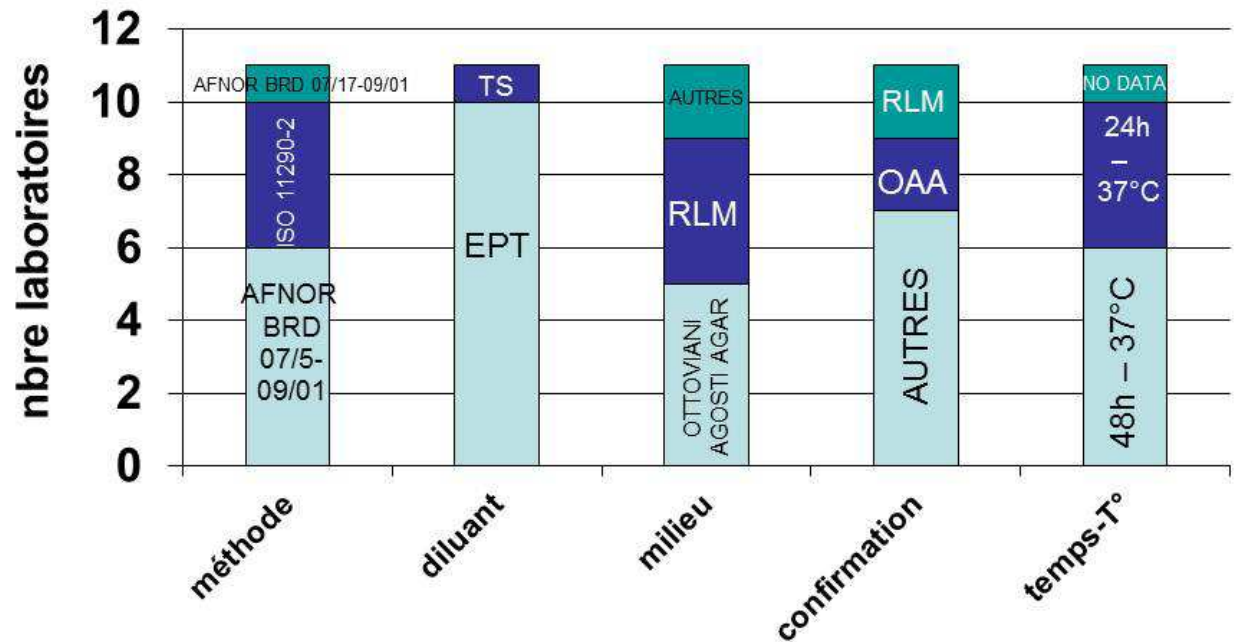


### *Staphylococcus aureus*





### *Listeria monocytogenes*

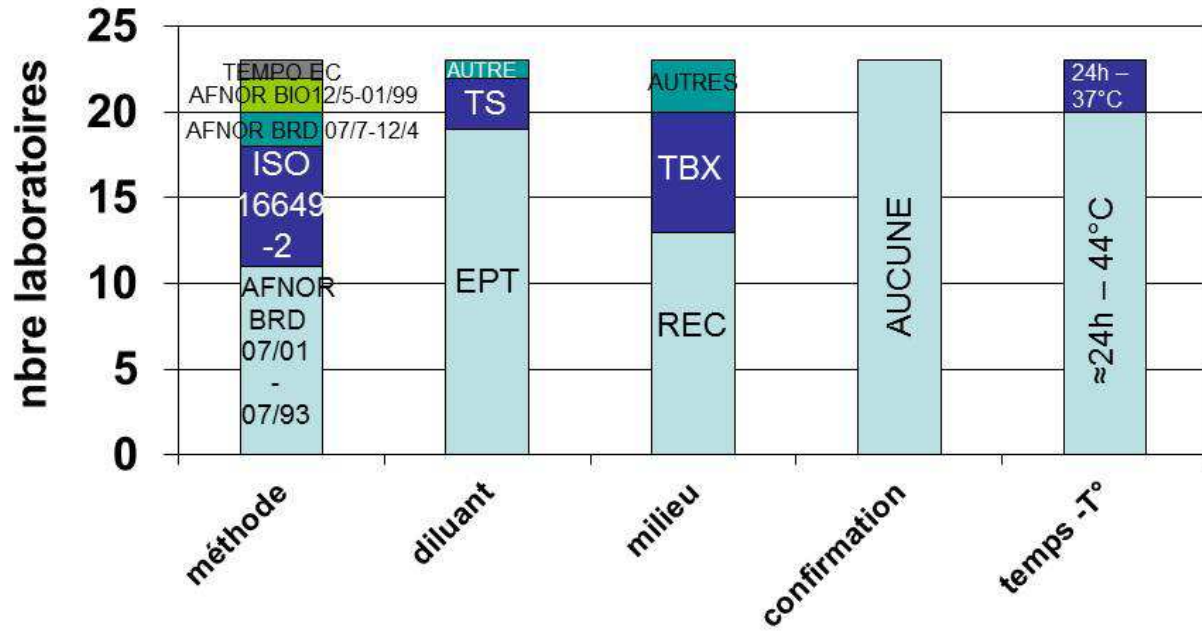


Confirmations « autres » *L. monocytogenes* :

- biochimie 1
- biochimie+hémolyse 1
- fermentation sucre 1
- hémolyse 1
- fermentation sucre + hémolyse + biochimie 1
- fermentation sucre + OA agar 1
- biochimie + hémolyse + test de Camp 1



### *Escherichia coli*





## 6. 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.

Un z-score a aussi été attribué aux résultats faux-négatifs.

Les résultats « < ... ufc/g » ou « > ... cfu/g » ne sont pas pris en compte dans le calcul de la moyenne robuste. Toutefois, afin de pouvoir calculer les z-scores, ces valeurs ont été remplacées par la valeur indiquée (e.g. < 10 cfu/g devient 10 cfu/g).

Pour les résultats non-comptables qui ont été rapportés « > ... cfu/g », un z-score a donc aussi été calculé et seuls les z-scores supérieurs à +3 ont été indiqués sur le rapport intermédiaire.

Tableau récapitulatif des z-scores des laboratoires

CPS = *Staphylococcus aureus*

n° labo	B.cereus 2	B.cereus 4	L. mono 1	L. mono 2	L. mono 4	CPS 1	CPS 2	CPS 3	CPS 5
6	0.762	-0.113	0.141	-0.475	-0.033	-0.104	-0.923	-1.284	0.419
27	-1.112	-0.178	0.041	0.063	0.145	-0.839	-0.563	-1.359	0.470
30	-0.403	1.116				0.926	0.248	0.003	0.369
28	-0.707	2.312	-1.165	0.377	0.677	0.779	0.878	0.835	0.621
4	-0.023	1.526				-1.354	-0.923	-0.527	-1.297
3	1.750	1.034	-1.366	-0.610	0.322	0.264	-0.248	0.003	-0.691
17	-0.099	-0.424				0.632		-0.073	
16	1.218	0.493				-0.251	0.428	0.230	0.773
23	-0.935	-1.260				0.926	1.013	2.045	1.833
2	2.131	0.919				-1.796	-0.428	-1.662	0.167
29	0.610	-5.766	0.744	0.780	-34.528	-2.164	-1.734	-1.284	-18.257
13	0.762	-1.194	-0.060	0.153	-0.387	0.044	1.058	0.608	0.722
18	0.534					6.077			
1	0.180	-0.670				-0.839	-0.113	0.608	0.167
12	0.408	-0.064	-1.266	1.274	-0.387	-0.471	0.743	0.759	-1.044
9	-0.935	-1.964	0.041	-2.852	-3.668	0.411	1.328	-0.527	0.117
5	0.458	0.346				-0.839	-1.148	-3.326	-1.398
22	-0.580	-0.604	0.844	-0.341	0.677	1.074	0.022	0.003	0.621
21	-1.569	-0.178	0.543	-0.161	0.411	1.662	0.833	1.138	1.126
10	0.028	-0.473				1.000	0.022	0.154	0.419
11	-3.215	-0.899	3.256	1.633	2.539	0.411	0.383	0.835	0.268
15	-0.175	0.330	0.041	-1.058	-1.718	-0.471	-0.743	-0.300	-1.953
20						-0.251	-4.345	0.154	-0.540
24	-3.874	0.330				0.485	1.148	9.082	-1.297

	Z-score entre 2 et 3 ou entre -2 et -3
	Z-score > 3 ou < -3
	non réalisé
	pas de z-score indiqué car non-comptable

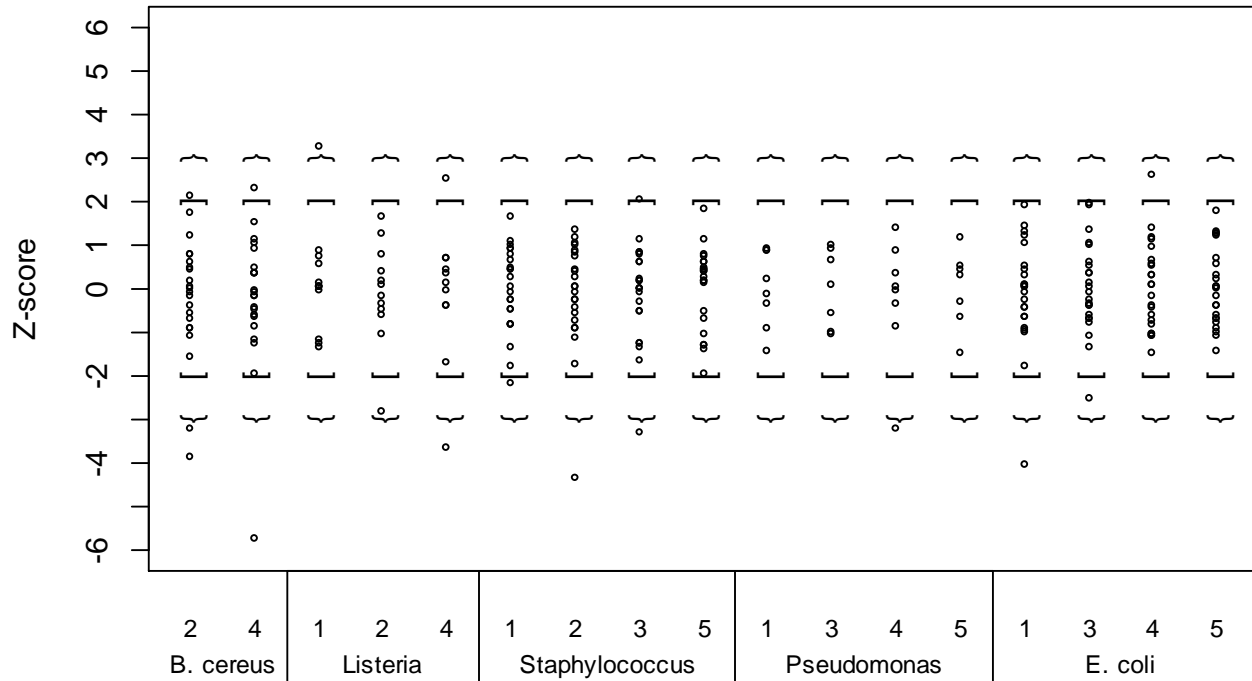


n° labo	Pseudo 1	Pseudo 3	Pseudo 4	Pseudo 5	E. coli 1	E. coli 3	E. coli 4	E. coli 5
6					-1.012	-0.810	-1.104	-0.689
27					-0.665	-0.385	-0.855	0.054
30					1.037	-0.268	0.090	0.212
28	0.861	0.988	1.409	0.430	0.438	0.981	1.110	1.248
4					1.226	-1.375	0.637	-1.117
3	-0.362	-0.594	-0.876	-0.330	1.415	1.971	1.383	1.788
17					0.091	0.322	0.090	0.032
16					0.280	-0.103	-0.183	-0.419
23					0.533	0.015	0.314	0.279
2					0.091	0.133	0.936	1.315
29					-0.098	0.604	2.602	-0.779
13	0.205	0.657	0.038	0.518	-1.800	1.052	0.513	0.685
18					0.533		0.389	
1					-0.445	-0.621	-1.054	-1.455
12	-1.436	0.914	0.343	1.191	0.028	1.901	1.184	1.225
9	-0.928	-0.998	-0.343	-0.652	-0.665	-0.338	-1.104	-0.013
5					-0.981	-2.554	-1.477	-1.027
22	0.921	-1.035	-3.236	0.313	1.920	0.322	0.563	0.572
21	0.861		0.876		-0.918	-0.715	-0.731	-0.621
10					-0.445	-0.385	-1.054	-0.194
11					-0.287	-0.715	-0.407	-0.419
15	-0.123	0.068	-0.038	-1.471	0.028	0.534	-0.432	-0.689
20					1.289	1.359	0.289	1.248
24					-4.070	-1.093	-0.606	-0.937

	Z-score entre 2 et 3 ou entre -2 et -3
	Z-score > 3 ou < -3
	non réalisé
	pas de z-score indiqué car non-comptable



### Graphique des z-scores des laboratoires



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

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

### Faux-positifs, faux-négatifs

le laboratoire 18 a rapporté un faux-positif pour *B. cereus* - échantillon 1

le laboratoire 18 a rapporté un faux-positif pour *B. cereus* - échantillon 3

les laboratoires 18 et 29 ont rapporté un faux-positif pour *B. cereus* - échantillon 5

le laboratoire 29 a rapporté un faux-positif pour *L. monocytogenes* - échantillon 5

le laboratoire 29 a rapporté un faux-positif pour *L. monocytogenes* - échantillon 4

le laboratoire 29 a rapporté un faux-négatif pour *B. cereus* - échantillon 4



le laboratoire 29 a rapporté un faux-négatif pour *L. monocytogenes* - échantillon 4

le laboratoire 29 a rapporté un faux-négatif pour *Staphylococcus* coagulase positive - échantillon 5

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

Germe (échantillon)	X robuste	SD robuste
<i>B. cereus</i> (2)	5.269	0.395
<i>B. cereus</i> (4)	5.519	0.61
<i>L. monocytogenes</i> (1)	4.716	0.1
<i>L. monocytogenes</i> (2)	5.716	0.223
<i>L. monocytogenes</i> (4)	5.894	0.113
<i>Staphylococcus</i> (1)	4.654	0.136
<i>Staphylococcus</i> (2)	5.745	0.222
<i>Staphylococcus</i> (3)	5.7	0.132
<i>Staphylococcus</i> (5)	5.617	0.198
<i>Pseudomonas</i> (1)	5.631	0.335
<i>Pseudomonas</i> (3)	6.731	0.272
<i>Pseudomonas</i> (4)	5.995	0.131
<i>Pseudomonas</i> (5)	6.703	0.342
<i>E. coli</i> (1)	4.291	0.317
<i>E. coli</i> (3)	5.344	0.424
<i>E. coli</i> (4)	4.704	0.402
<i>E. coli</i> (5)	5.386	0.444

Voici à titre indicatif un tableau comparatif des écarts-types robustes (SD robustes) de l'essai de juin 2013 avec les écarts-types robustes calculés lors des EIL RAEMA 38 et 44 et lors de l'essai de juin 2012 de l'ISP.

	moyenne SD robustes ISP juin 2012	moyenne SD robustes ISP juin 2013	moyenne SD robustes ISP RAEMA 38	moyenne SD robustes RAEMA 44
<i>B. cereus</i>	0,26	0,5	0,25	/
CPS	0,15	0,17	0,15	0,22
<i>L. monocytogenes</i>	0,13	0,15	/	0,14
<i>Pseudomonas spp</i>	0,5	0,27	/	/
<i>E. coli</i>	0,18	0,4	0,28	0,17



## 8. Discussion et conclusions

Comme les années précédentes, on remarque une grande diversité dans la combinaison des tests de confirmation réalisés pour le dénombrement de *L. monocytogenes*.

L'écart-type robuste de *B. cereus* est élevé. Cela peut venir du fait que le milieu MYP utilisé par la majorité des laboratoires pour le dénombrement de *B. cereus*, , permet une croissance élevée de la flore annexe. Le dénombrement de *B. cereus* est alors plus fastidieux et la variabilité des résultats augmente.

Malgré l'incident technique qui s'est produit avec les échantillons pendant leur stockage à l'ISP, la performance des laboratoires ayant envoyé tous leurs résultats a pu être calculée par analyse statistique pour tous les paramètres présents dans l'essai.

Tous les échantillons confondus,

93 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *B. cereus*

92 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *L. monocytogenes*

99 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *E. coli*

97 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *Pseudomonas spp.*

95 % des résultats étaient satisfaisants pour le dénombrement de *Staphylococcus* coagulase positive

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 18 juillet 2013. Le rapport final est envoyé le 4 novembre 2013 en version électronique. Une version papier est aussi envoyée aux laboratoires avec le rapport intermédiaire en attaché.

Un nouvel essai d'aptitude « dénombrement » a été organisé fin octobre 2013 sur la même matrice avec comme paramètres *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas spp.*





Le prochain essai d'aptitude « dénombrement » sur une matrice différente sera organisé en juin 2014.