

# RAPPORT FINAL

## ESSAI D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE JUN 2016

### PT – 2 DENOMBREMENT DANS LA VIANDE

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 porte sur l'énumération de quatre germes dans une matrice alimentaire naturellement contaminée en flore mésophile. Cette année, la matrice choisie est la suivante : dés de dinde fumés.

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 6 juin 2016	préparation et inoculation des échantillons
mardi 7 juin 2016	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 8 juin 2016	laboratoires débutent les analyses
mercredi 22 juin 2016	date limite pour rendre les résultats à l'ISP
vendredi 15 juillet 2016	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
vendredi 14 octobre 2016	rapport final envoyé aux laboratoires par l'ISP

Chaque colis contenait :

- 5 pots (1, 2, 3, 4 et 5) contenant chacun environ 20 g de dés de dinde
- un traceur de température (pour la moitié des laboratoires)
- un bloc réfrigérant
- les instructions



Laboratoires participants :

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

Les dés de dinde fumés ont été achetés en grand magasin (lots différents) et congelés .  
Le jour de la préparation des échantillons, les dés de dinde ont été décongelés pendant 2h à température ambiante et ensuite contaminés par plusieurs bactéries.  
L'inoculation artificielle a eu lieu avec les souches suivantes:

souches	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria ivanovii</i>
référence	TIAC 2473	TIAC 2647	TIAC 2445	TIAC 2481	TIAC 716

Ces souches proviennent de la collection de l'ISP .

### Contamination artificielle des 5 échantillons :

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

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

Tableau 1 : Aperçu de la contamination des échantillons 1-5(quantité en log cfu/g = moyenne de 5 échantillons)

	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. ivanovii</i>
1	/	/	3.14	3.63	2.41
2	3.99	2.77	/	4.43	/
3	/	3.74	4.36	/	/
4	3.37	2.70	3.46	/	/
5	4.11	/	/	2.93	2.49



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

### 3. Procédure d'analyse

Pour les 5 échantillons, 4 paramètres sont à analyser. La procédure est 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 : *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*.

### 4. Analyses associées

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

Un test d'homogénéité a été réalisé préalablement à l'essai d'aptitude, afin de valider la technique de contamination. Ce test a été effectué sur 5 échantillons de chaque lot pour chaque germe inoculé, 2 jours après la préparation des échantillons (le matin). Les échantillons étaient homogènes. Un test de stabilité a été effectué fin d'après-midi le même jour. Les échantillons étaient stables.

Les échantillons ont été préparés le lundi 6 juin et le niveau de contamination a été vérifié le jour-même sur 1 échantillon de chaque lot pour chaque paramètre. Un test d'homogénéité a été réalisé le mercredi 8 juin sur 5 échantillons de chaque lot pour chaque germe inoculé. Les échantillons étaient homogènes.



➤ Vérification de la contamination naturelle des échantillons

Avant l'inoculation, un échantillon par lot (1, 2, 3, 4, et 5) a été analysé (dénombrement) pour tous les paramètres ainsi que pour la flore totale. De plus, le même nombre d'échantillons a été mis de côté pour répéter ces analyses à J+2, excepté la flore totale. Tous les résultats étaient inférieurs à la limite de détection pour les paramètres de l'essai d'aptitude. De plus, lors du test d'homogénéité, pour chaque lot, 1 dénombrement a été réalisé pour les paramètres non inoculés. Les résultats étaient inférieurs à la limite de détection. Au total, 2 dénombres ont été effectués par paramètre par lot.

## 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

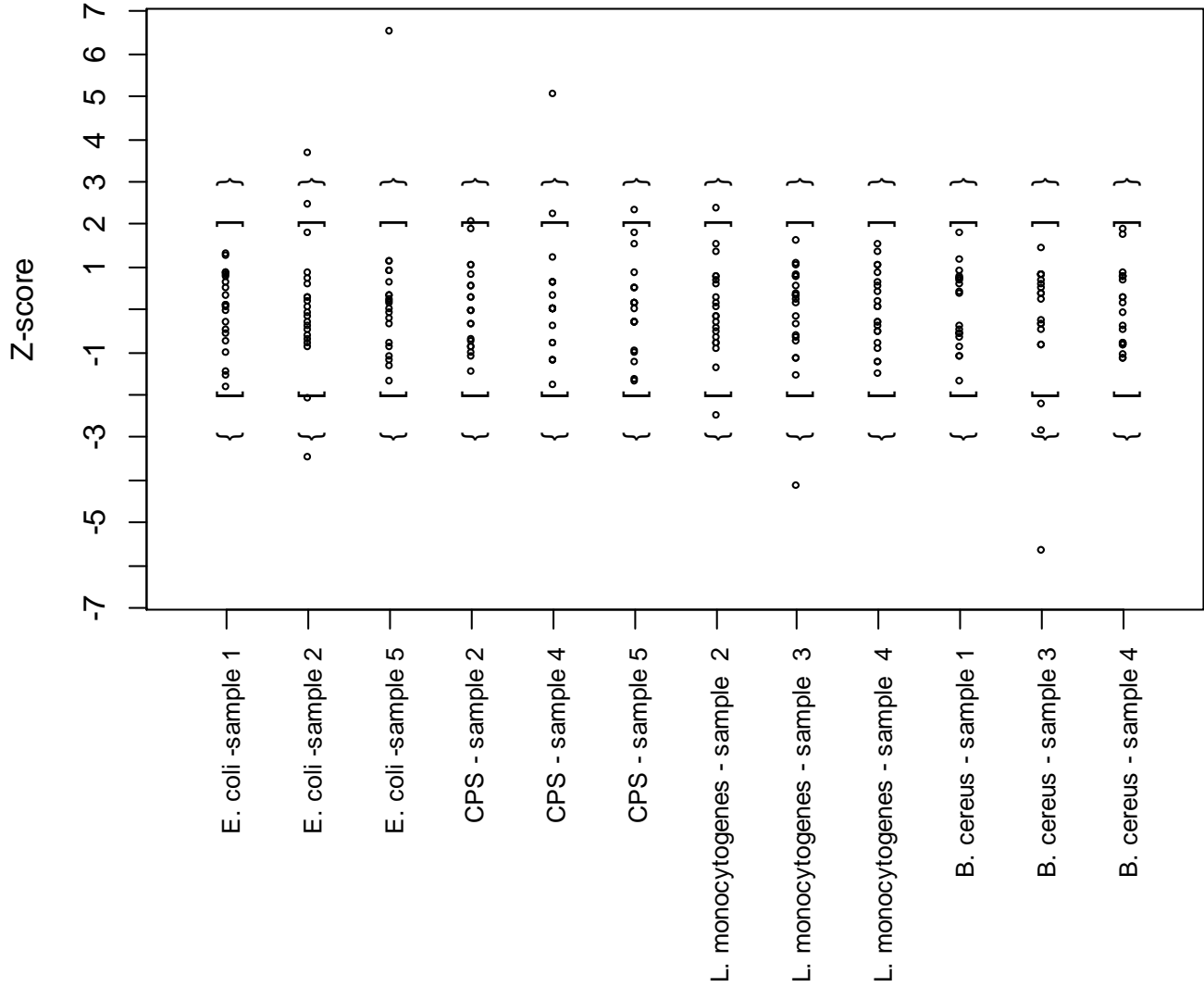
CPS = *Staphylococcus coagulase positive*

N° Labo	E. coli 1	E. coli 2	E. coli 5	CPS 2	CPS 4	CPS 5	L. monocytogenes 2	L. monocytogenes 3	L. monocytogenes 4	B. cereus 1	B. cereus 3	B. cereus 4
1	-1.45	-2.08	-0.90	-1.46	-1.78	-0.99	0.05	0.32	-0.54	-1.12	0.23	0.13
2	0.49	0.88	0.89	-1.03	-0.01	-1.04	1.52	1.63	0.53	0.92	-0.48	1.77
3	0.82	-0.80	0.63	-0.72	-0.01	0.52	-0.80	-1.16	-0.29	-0.58	-0.33	0.79
4	-0.48	-0.72	0.24	0.81	-0.01	-1.63	-0.18	-1.16	1.06	0.78	-5.65	0.26
5	-0.32	0.20	-1.68	-0.87	-1.21	-0.28	-0.42	-1.57	-0.54	-1.70	0.83	-0.08
6	0.11	0.59	0.21	-0.03	1.24	1.81	0.79	-0.36	-1.23	1.16	0.67	0.26
9	1.25	2.48	0.01	1.05	5.07	0.52	-2.49	0.76	0.08	-1.12	0.58	0.88
10	0.30	-0.08	-0.81	2.08	-0.01	0.14	0.59	0.80	-0.81	0.59	0.39	-0.79
11	0.87	0.06	-0.06	-0.36	0.65	1.52	-0.30	0.76	1.35	1.79	1.45	-0.85
12	-1.02	-0.63	-1.09	-1.11	-1.21	-1.69	1.35	-0.19	-1.23	-0.88	-0.33	-0.79
13	-0.74	0.27	-0.20	-0.36	-0.78	-1.25	-0.93	0.13	0.08	-0.67	-0.82	-1.06
15	1.30	-0.90	-0.35	1.05	0.65	0.14	0.69	1.03	0.64	0.73	-2.86	-0.37
16	-0.56	-0.30	-1.19	0.27	0.65	-0.28	-0.80	-0.73	-0.95	-0.58	0.83	-1.16
17	0.87	-0.15	0.89	-0.03	-0.01	-0.28	0.79	0.55	1.54	0.69	0.48	0.79
18	-1.56	0.27	6.54	0.27	-1.21	0.01	0.27	0.23	0.85	-0.48	-0.26	-0.85
20	0.11	0.71	1.14	1.89	-0.38	0.14	-0.18	0.32	1.06			
21	0.04	1.81	1.14	-0.03	-0.78	0.52	2.40	1.10	-0.41	0.43	0.83	-0.50
22	-1.81	-3.47	-1.34	0.55	0.65	2.34	-0.67	-0.60	0.42	-0.39	-2.22	1.89
23	0.76	-0.46	0.14	-0.87	0.33	-0.28	-0.54	-0.67	-0.29	0.37	-0.82	0.79
27	0.66	-0.38	0.33	-0.75	2.23	0.88	0.17	0.37	-1.53	-0.58	0.39	0.70
28	-0.03	3.68	0.33	0.55	-0.01	0.14	-1.35	-4.15	0.19	0.73	0.83	-1.16

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

Les laboratoires 1, 15, 16 et 28 ont rapporté un résultat faux-positif pour *L. monocytogenes* – échantillons 1 et 5.

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

Germe (échantillon)	X robuste	SD robuste
<i>L. monocytogenes</i> (2)	2.677	0.08
<i>L. monocytogenes</i> (3)	3.767	0.143
<i>L. monocytogenes</i> (4)	2.717	0.069
CPS (2)	4.083	0.115
CPS (4)	3.147	0.088
CPS (5)	4.067	0.09
<i>E. coli</i> (1)	3.617	0.151
<i>E. coli</i> (2)	4.7	0.121
<i>E. coli</i> (5)	2.953	0.141
<i>B. cereus</i> (1)	2.433	0.23
<i>B. cereus</i> (3)	4.218	0.216
<i>B. cereus</i> (4)	2.96	0.308

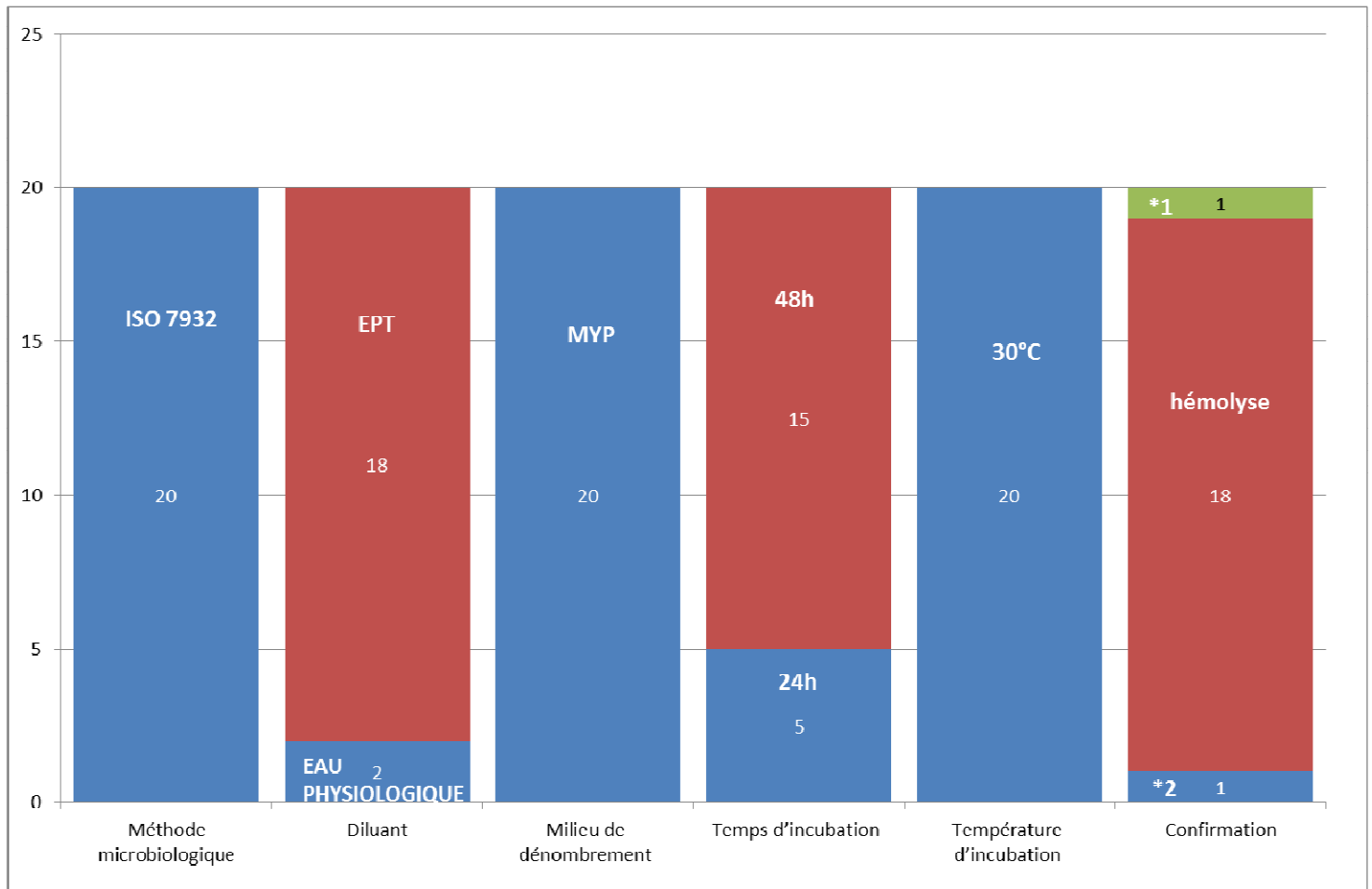
Voici à titre indicatif un tableau comparatif des écarts-types robustes (SD robustes) de l'essai de juin 2016 avec les écarts-types robustes calculés lors des EIL RAEMA 38 et Requasud et lors des essais de juin 2014 et 2015 de l'ISP.

	moyenne SD robustes ISP juin 2014	moyenne SD robustes ISP juin 2015	moyenne SD robustes ISP juin 2016	moyenne SD robustes RAEMA 38	moyenne SD robustes Requasud
CPS	0,22	0,13	<b>0,10</b>	0,15	0,25
<i>L. monocytogenes</i>	0,13	0,18	<b>0,10</b>	/	/
<i>E. coli</i>	0,16	0,19	<b>0,14</b>	0,28	0,25
<i>B. cereus</i>	/	0,25	<b>0,25</b>	0,25	0,25



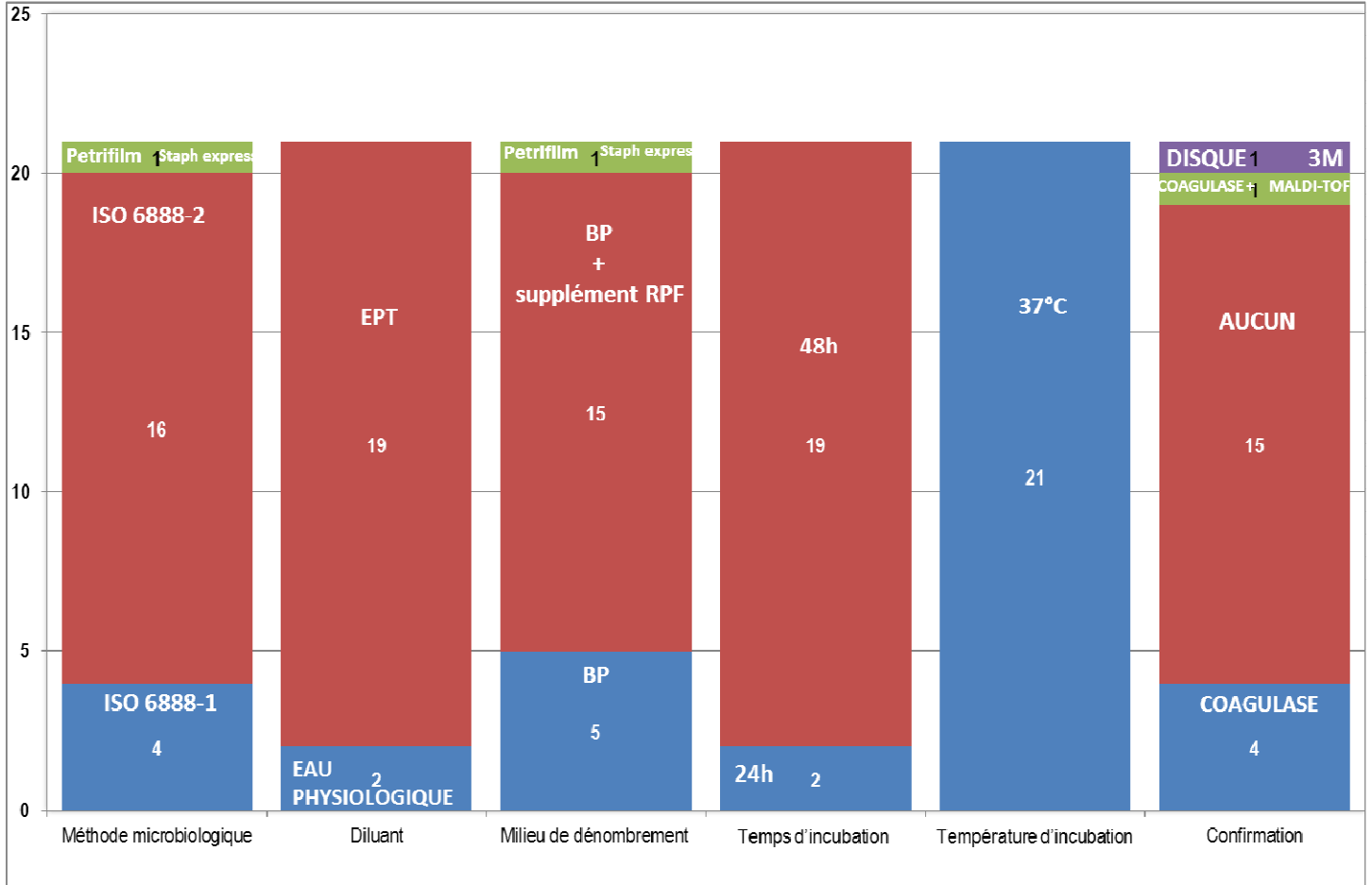
## 7. Informations complémentaires

### *Bacillus cereus*



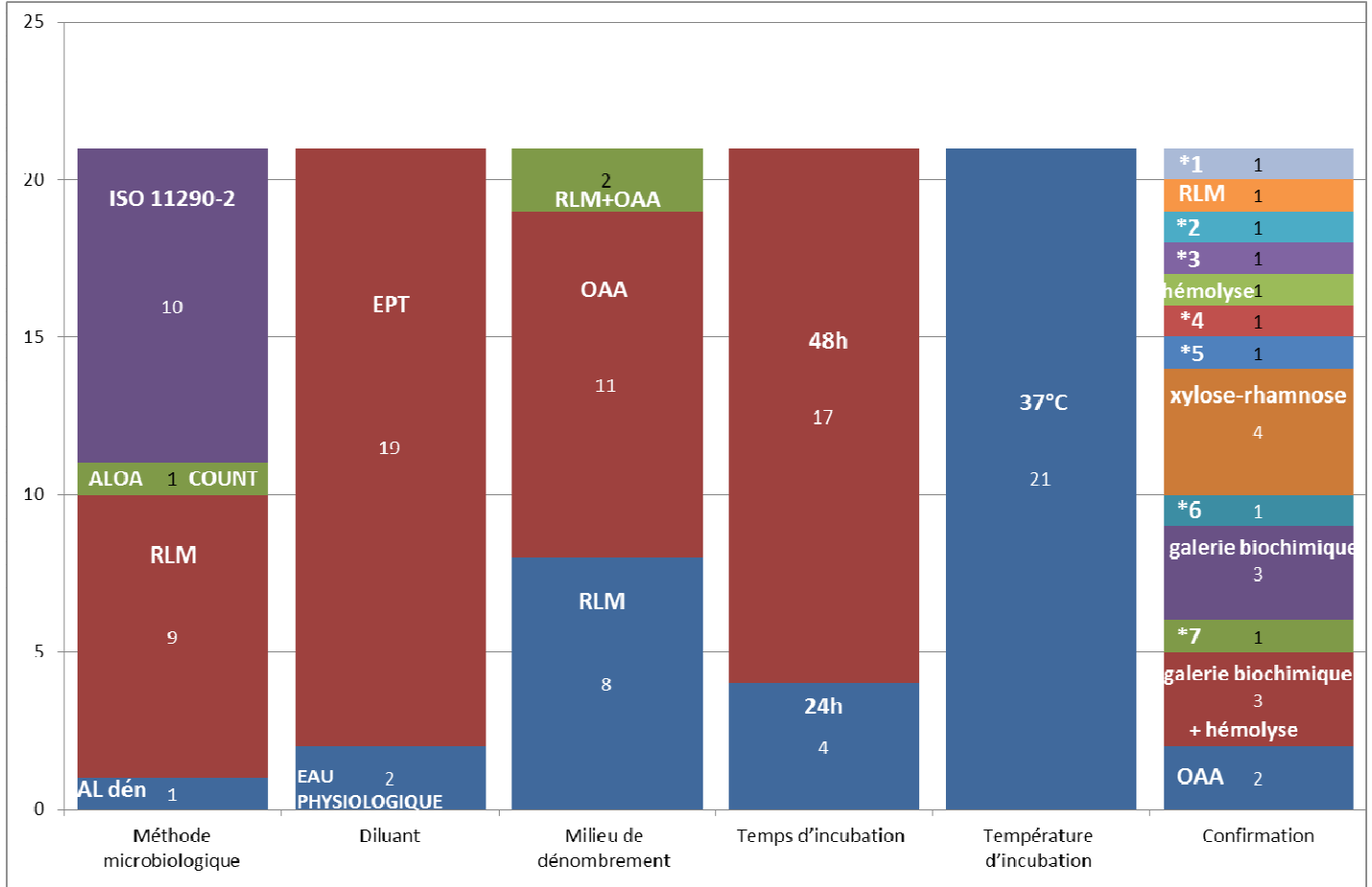


### *Staphylococcus aureus*



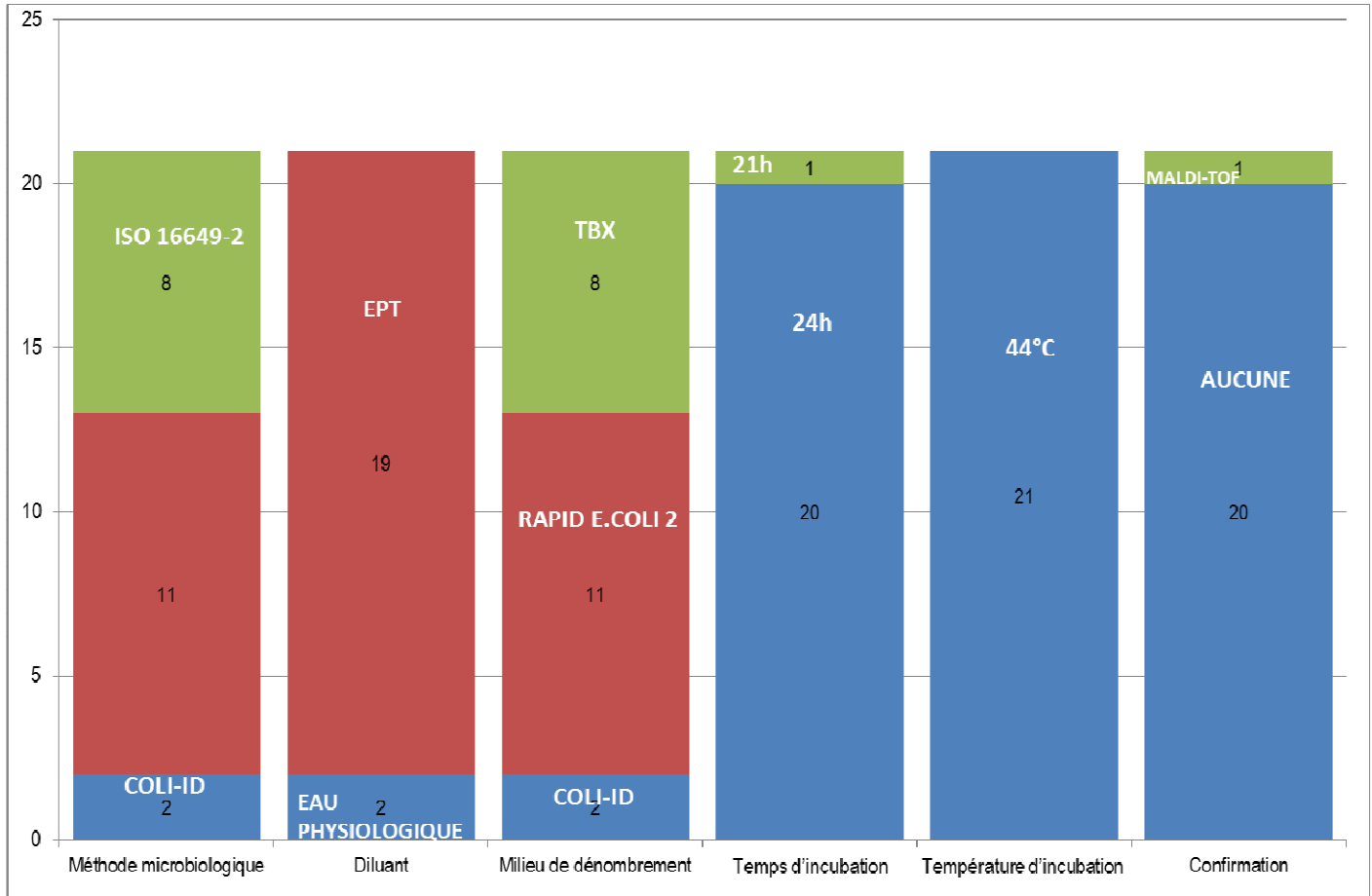


### Listeria monocytogenes





### *Escherichia coli*



## 8. Discussion et conclusions

La matrice « dés de dinde » est une matrice fort contaminée naturellement (environ  $1,5 \cdot 10^7$  ufc/g le jour de la contamination des échantillons).

Les résultats insatisfaisants sont principalement dus aux résultats faux-positifs pour le dénombrement de *L. monocytogenes*. En effet, 4 laboratoires sur 21 sont concernés.



Les principales causes des résultats insatisfaisants sont :

- erreur lors de la transmission des résultats dans l'application web
- mauvaise compréhension des instructions
- étape de confirmation insuffisante
- pas de cause spécifique trouvée

Les résultats des faux-positifs *L. monocytogenes* des échantillons 1 et 5 ont des niveaux identiques à ceux de *L. ivanovii* que nous avons inoculé dans ces mêmes échantillons. La confirmation des colonies caractéristiques doit donc être améliorée dans ces laboratoires car *L. ivanovii* apparaît caractéristique sur le milieu de dénombrement préconisé par la norme ISO 11290.

Tous les échantillons confondus,

91,4 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *L. monocytogenes*

98,1 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *E. coli*

100 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *Staphylococcus* coagulase positive

99 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *B. cereus*

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 15 juillet 2016. Le rapport final est envoyé le 14 octobre 2016 en version électronique. Une version papier est disponible sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « dénombrement » sur une matrice spécifique sera organisé en juin 2017.