



RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE
PT 2 - 2018

DENOMBREMENT
DANS LES PRODUITS DE LA PECHE

—

QUI NOUS SOMMES

SCIENSANO, ce sont plus de 700 collaborateurs qui s'engagent chaque jour au service de notre devise « toute une vie en bonne santé ». Comme notre nom l'indique, la science et la santé sont au cœur de notre mission. Sciensano puise sa force et sa spécificité dans une approche holistique et multidisciplinaire de la santé. Plus spécifiquement, nos activités sont guidées par l'interconnexion indissociable de la santé de l'homme, de l'animal et de leur environnement (le concept "One health" ou « Une seule santé »). Dans cette optique, en combinant plusieurs angles de recherche, Sciensano contribue d'une manière unique à la santé de tous. Issu de la fusion entre l'ancien Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et l'ex-Institut scientifique de Santé publique (ISP), Sciensano s'appuie sur plus de 100 ans d'expertise scientifique.

Sciensano

Maladies infectieuses humaines - Pathogènes alimentaires

novembre 2018 • Ixelles • Belgique



RESPONSABLE SCIENTIFIQUE: MARIE POLET



RESPONSABLE TECHNIQUE: ASTRID HUWAERT



APPROBATION SCIENTIFIQUE: NADINE BOTTELDOORN



Ce rapport est distribué par Sciensano exclusivement aux participants de cet essai d'aptitude. Sciensano 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.

INTRODUCTION

Cet essai d'aptitude porte sur l'énumération de quatre germes dans une matrice alimentaire naturellement contaminée en flore mésophile. Cette année, la matrice « crevettes » a été choisie. Cette étude a été organisée par le Laboratoire National de Référence (LNR) en microbiologie alimentaire en collaboration avec l'AFSCA et était principalement destinée aux laboratoires agréés par l'AFSCA.

1. DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE

lundi 25 juin 2018	préparation et inoculation des échantillons
mardi 26 juin 2018	retrait des échantillons chez Sciensano par les laboratoires participants
mercredi 27 juin 2018	les laboratoires débutent les analyses
vendredi 13 juillet 2018	date limite pour rendre les résultats à Sciensano
jeudi 2 août 2018	rapport préliminaire envoyé aux laboratoires par Sciensano
jeudi 20 décembre 2018	rapport final envoyé aux laboratoires par Sciensano

Chaque colis destiné aux différents laboratoires contenait :

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

Laboratoires participants :

LABORATOIRE	LOCALISATION
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HVS	Mons
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SGS	Anvers
SCIENSANO	Bruxelles
ILVO	Melle
LOVAP	Geel
EUROFINS	Bruges
IEM	Liège
NUTRILAB	Pays-Bas
AGROLAB	Battice
EURACETA	Villers-le-Bouillet
LEQ	Bastogne
SHA	Mouscron
LAVETAN	Turnhout
BIOTOX	Jabbeke
LARECO	Marche-en-Famenne
BRULABO	Bruxelles
CARAH	Ath

2. COMPOSITION DES ÉCHANTILLONS

Les crevettes ont été achetées congelées en grand magasin (même lot) et conservées à – 19 °C. Le jour de la préparation des échantillons, les crevettes ont été décongelées deux heures à température ambiante et ensuite contaminées avec 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 2598	TIAC 2647	TIAC 2445	TIAC 2481	TIAC 716

Ces souches proviennent de la collection de Sciensano.

Contamination artificielle des cinq échantillons :

Les échantillons ont été contaminés de manière à mimer des contaminations faible et moyenne. La quantité de bactéries dans l'inoculum a été déterminée par un dénombrement en triple sur un milieu non-sélectif.

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

Echantillon 1 : contaminé avec *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*

Echantillon 2 : contaminé avec *B. cereus* et *L. monocytogenes*

Echantillon 3 : contaminé avec *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*

Echantillon 4 : contaminé avec *E. coli* et *B. cereus*

Echantillon 5 : contaminé avec *S. aureus*, *B. cereus* et *L. ivanovii* (10² cfu/g)

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

3. PROCEDURE D'ANALYSE

Pour les cinq échantillons, quatre 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*

Remarque : Un laboratoire n'a pas effectué le dénombrement de CPS et *L. monocytogenes*.

Remarque : Un laboratoire n'a pas effectué le dénombrement de *B. cereus*.

4. ANALYSES ASSOCIEES

➤ 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 cinq échantillons de chaque type pour chaque germe inoculé, deux jours après la préparation des échantillons. Les échantillons étaient homogènes.

Pour l'essai d'aptitude, les échantillons ont été préparés le lundi 25 juin (jour J) et le niveau de contamination a été déterminé le jour-même sur un échantillon de chaque type pour chaque germe.

Un test d'homogénéité a été réalisé le mercredi 27 juin (J+2) sur cinq échantillons de chaque type pour chaque germe inoculé. Les échantillons étaient homogènes.

➤ Vérification de la contamination naturelle des échantillons

Avant l'inoculation, une analyse de dénombrement a été effectuée sur la matrice pour tous les germes inoculés ainsi que pour la flore totale. Tous les résultats étaient inférieurs à la limite de détection pour les paramètres de l'essai d'aptitude.

5. PERFORMANCE DES LABORATOIRES : Z-SCORES

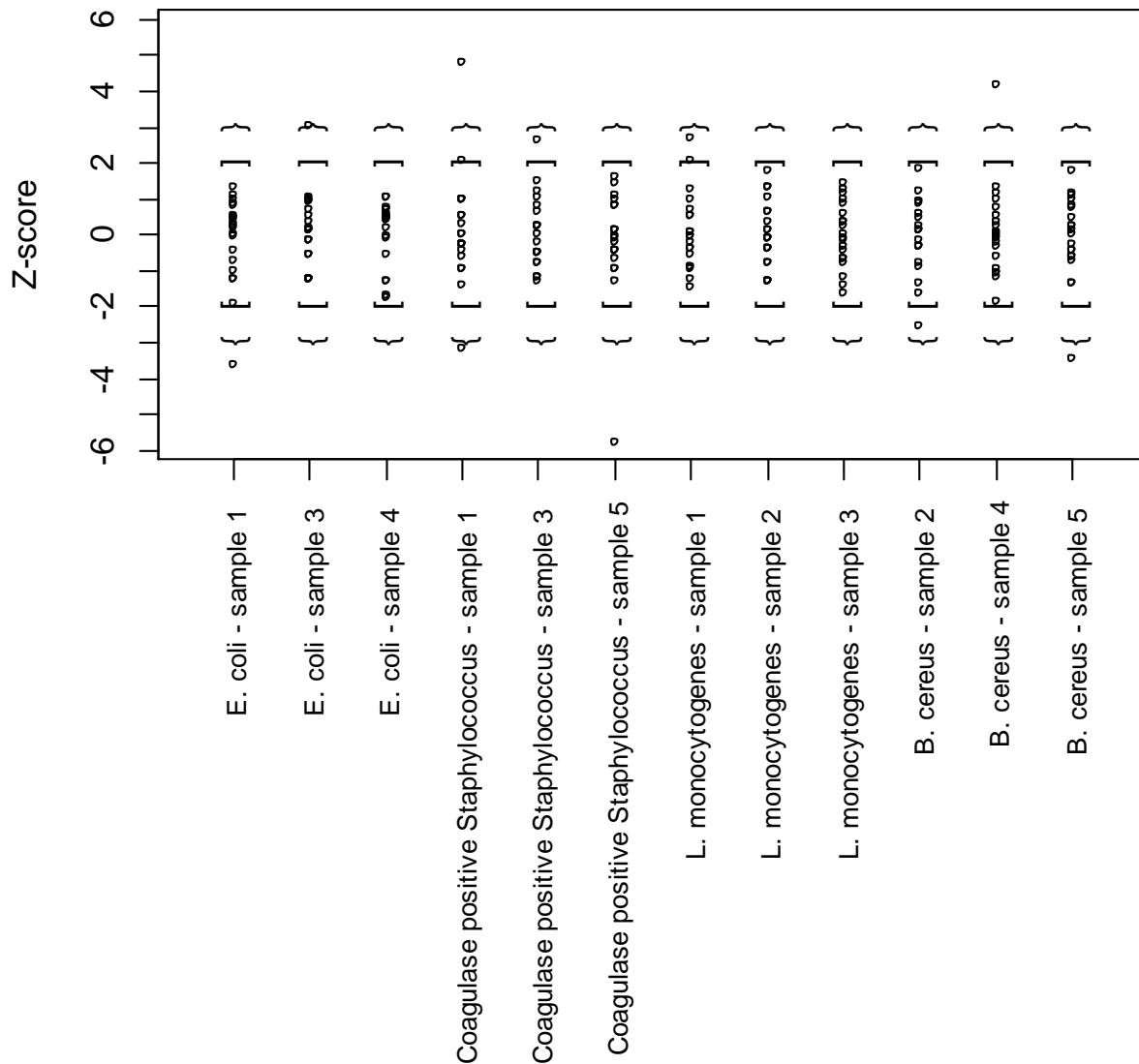
L'analyse statistique a été réalisée par le service « Qualité des laboratoires médicaux ».

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

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



[] limites z-scores (+2 ; -2)
 { } limites z-scores (+3 ; -3)

Faux-positifs, faux-négatifs

Les laboratoires 12, 15 et 21 ont rapporté un résultat faux-positif pour *L. monocytogenes* – échantillon 5.

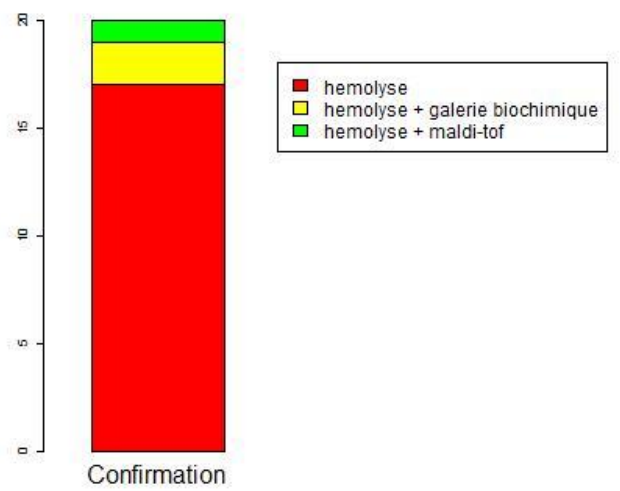
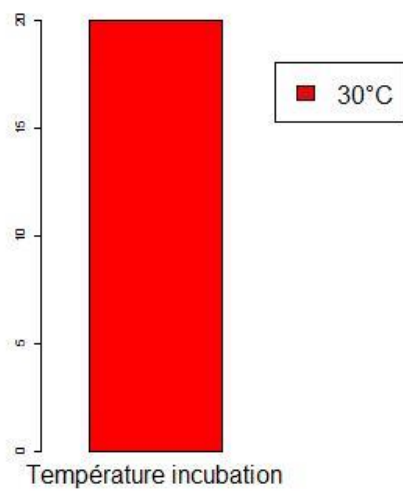
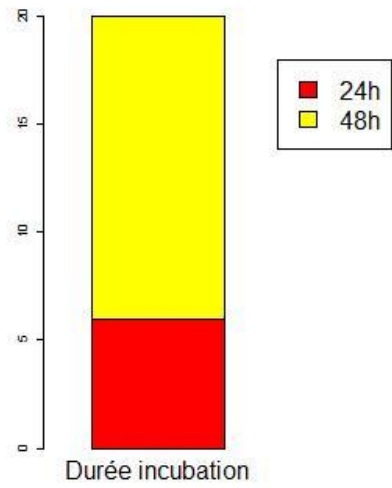
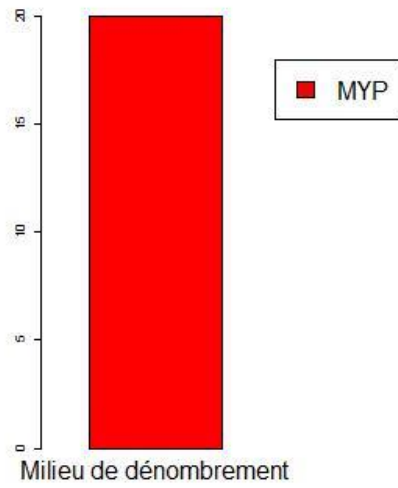
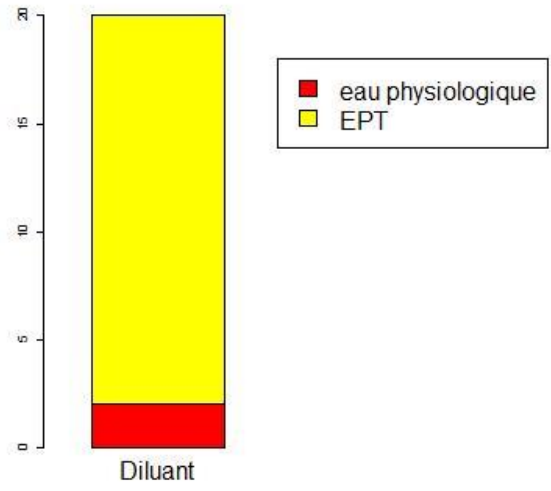
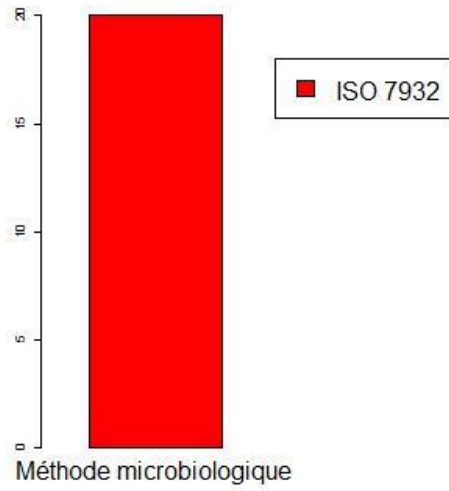
Les laboratoires 5, 17 et 22 ont rapporté un résultat faux-positif pour *B. cereus* – échantillon 3 mais à des taux très faibles (10 cfu/g). Une faible contamination naturelle hétérogène de la matrice n'a pu être exclue. Cet échantillon n'a donc pas été évalué pour ces trois laboratoires.

6. MOYENNE ROBUSTE (X) ET ECART-TYPE ROBUSTE (SD)

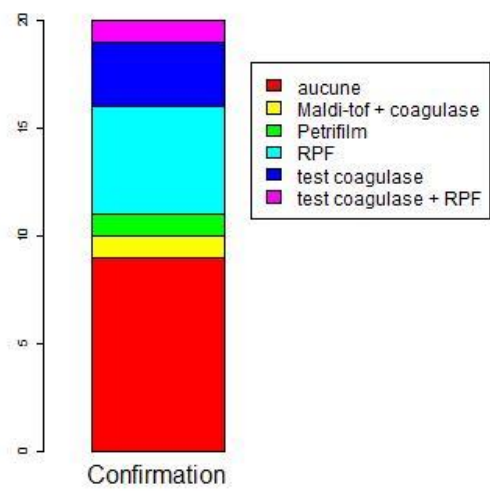
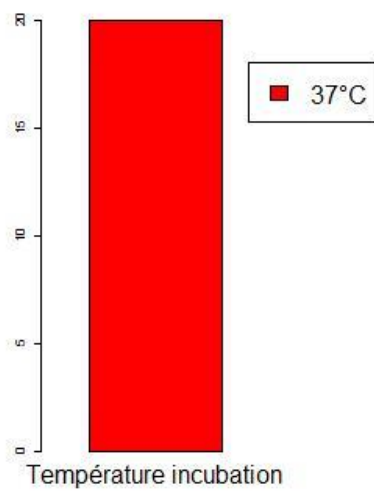
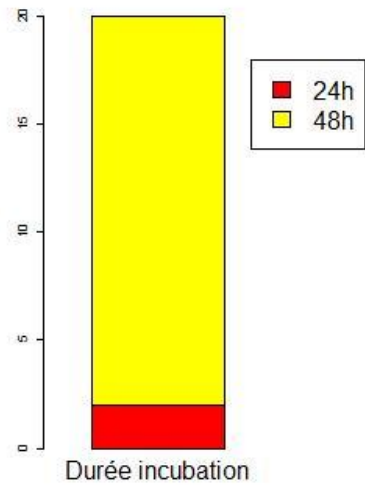
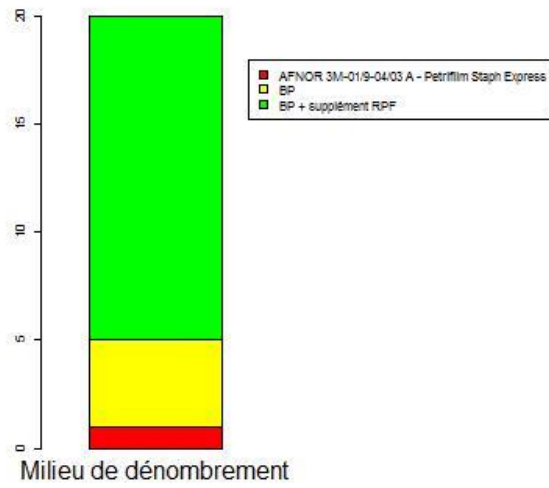
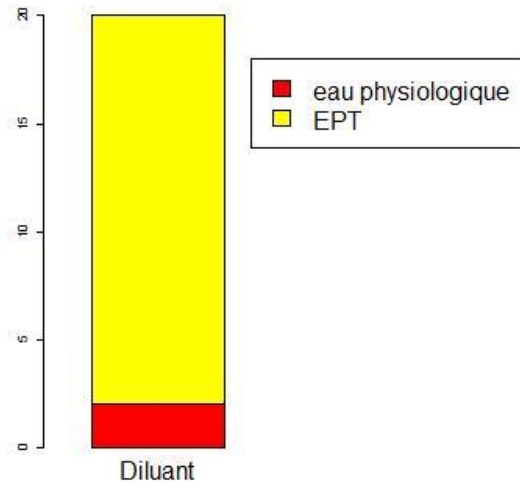
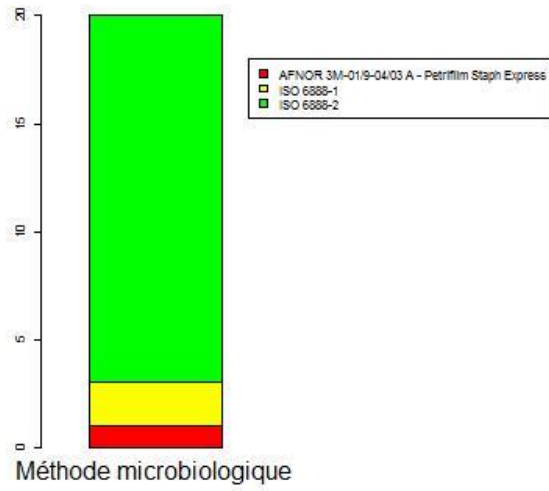
Germe (échantillon)	X robuste	SD robuste
<i>L. monocytogenes</i> (1)	2.602	0.177
<i>L. monocytogenes</i> (2)	1.737	0.331
<i>L. monocytogenes</i> (3)	2.621	0.171
CPS (1)	2.039	0.138
CPS (3)	3.145	0.132
CPS (5)	3.181	0.148
<i>E. coli</i> (1)	2.681	0.296
<i>E. coli</i> (3)	1.541	0.434
<i>E. coli</i> (4)	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. INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

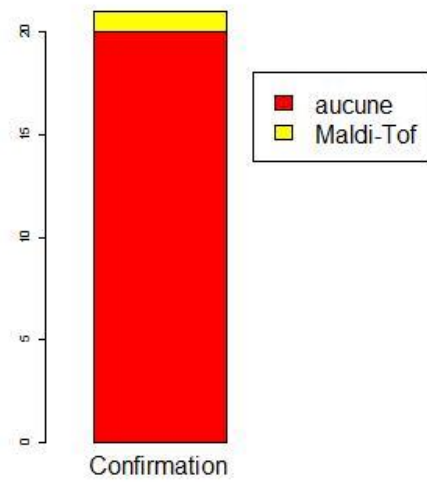
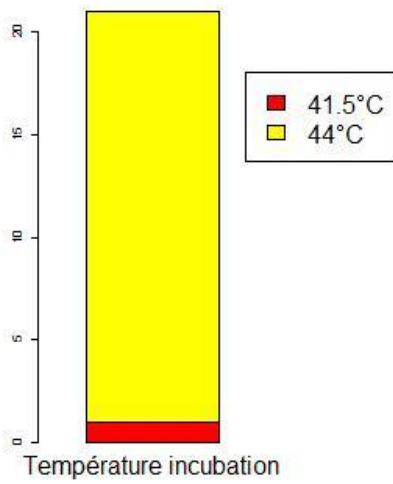
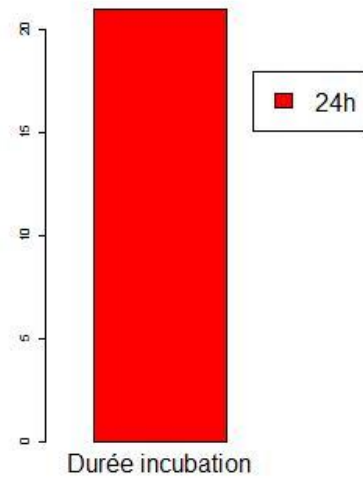
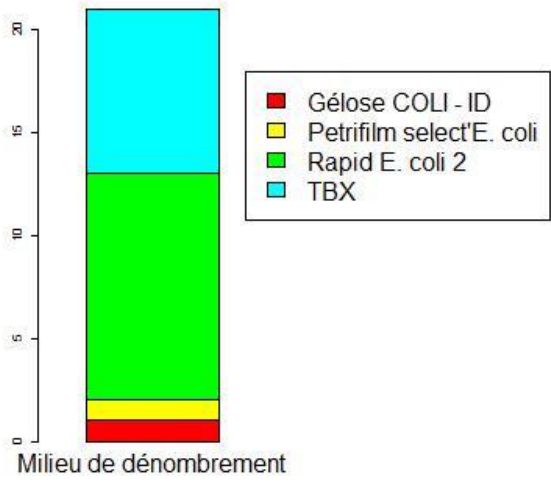
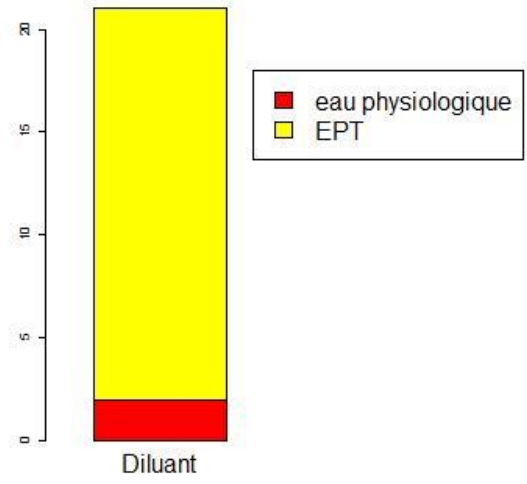
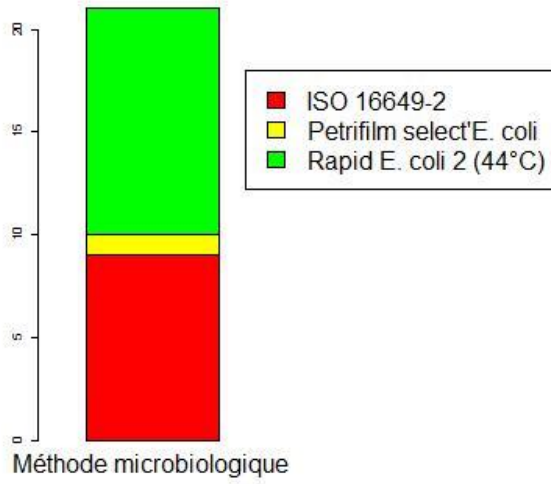
B. cereus



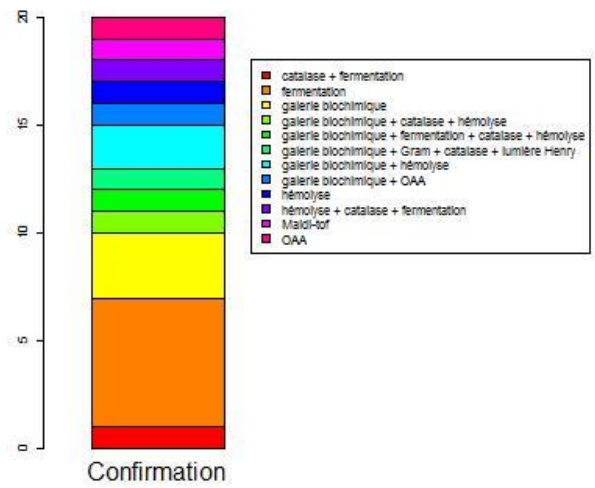
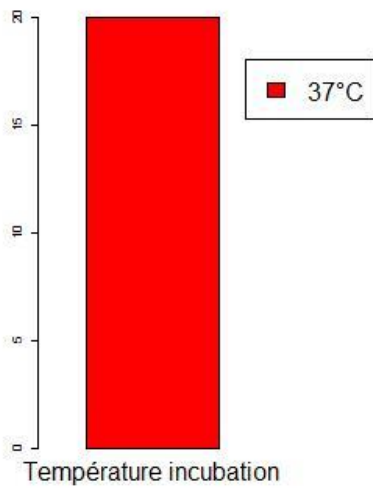
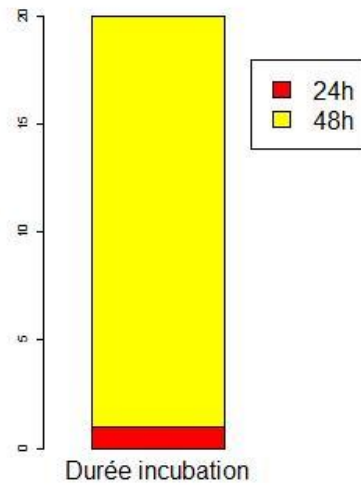
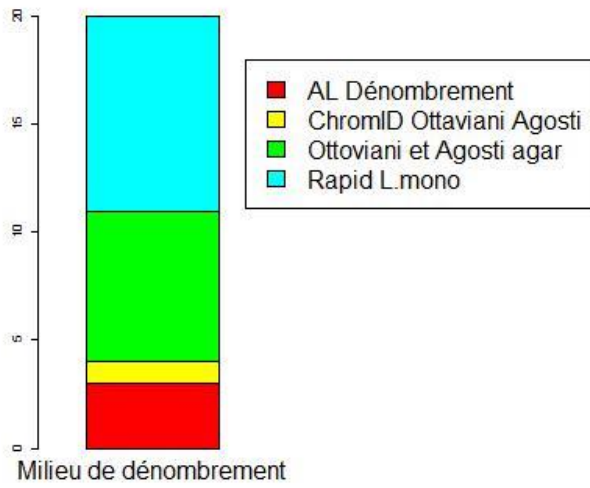
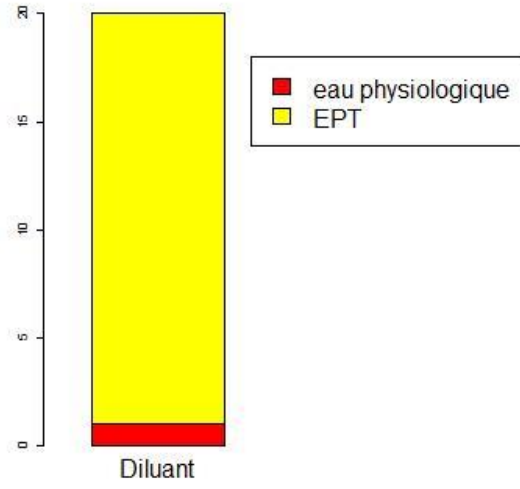
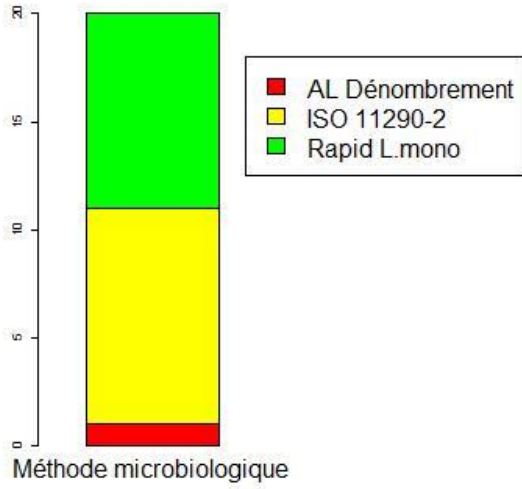
CPS



E. coli



L. monocytogenes



8. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La matrice « crevettes » est une matrice faiblement contaminée naturellement (flore aérobie totale de l'ordre de 10^2 ufc/g le jour de la contamination des échantillons).

Les résultats insatisfaisants sont comme chaque année principalement dus aux résultats faux-positifs pour le dénombrement de *L. monocytogenes*, échantillon 5. En effet, trois laboratoires sur 21 sont concernés malgré le point d'attention déjà relevé dans le rapport de l'année passée. Ces résultats faux-positifs ont des niveaux identiques à ceux de *L. ivanovii* que nous avons inoculé dans ces mêmes échantillons.

Comme l'année passée, le LNR note aussi la présence de résultats faux-positifs pour *B. cereus* (trois laboratoires), mais à des niveaux très faibles cette année (10 ufc/g). Comme déjà mentionné ci-dessus, une contamination naturelle n'est pas improbable à ces niveaux. Le LNR n'a donc pas pris ces résultats en considération dans l'évaluation des laboratoires concernés.

Les principales causes des résultats non conformes sont :

- inversion des échantillons lors de l'ensemencement du milieu de dénombrement
- erreur dans le résultat rapporté par rapport au résultat d'analyse (trois laboratoires !)
- probable erreur au niveau du pipetage
- pas de cause spécifique trouvée

Tous les échantillons confondus,

97 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *L. monocytogenes*

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

98 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *Staphylococcus* coagulase positive

98 % des résultats sont satisfaisants pour le dénombrement de *B. cereus*

Un rapport préliminaire individuel a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 2 août 2018. Ce rapport reprend la performance du laboratoire, en rapport avec les autres laboratoires, et la contamination des échantillons (indication des échantillons contaminés et moyenne robuste des résultats des participants). Le rapport final est envoyé le 20 décembre 2018 en version électronique. Une version papier est disponible sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « dénombrement » sur une matrice spécifique sera organisé en juin 2019.

CONTACT

Marie Polet • marie.polet@sciensano.be • T +32 2 642 50 86

PLUS D'INFORMATIONS

Rendez-vous sur notre page web
www.sciensano.be ou contactez-
nous via info@sciensano.be

Sciensano • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique • T + 32 2 642 51 11 • T presse + 32 2 642 54 20 • info@sciensano.be
• www.sciensano.be

Éditeur responsable : Pierre Kerkhofs, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique •