

EIND RAPPORT

PROFICIENCY TEST VOOR LEVENSMIDDELEN MICROBIOLOGIE

DETECTIE OP KARKASSWABS *YERSINIA ENTEROCOLITICA* – *E. COLI* O157:H7 – STEC

MAART 2014

Afdeling: Voedselpathogenen
Marie Polet
Nadine Botteldoorn
J. Wytsmanstraat 14
1050 Brussel | België
www.wiv-isp.be



Deze inter-laboratorium studie werd georganiseerd door het Nationaal Referentielaboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in samenwerking met het FAVV en was gericht aan de erkende laboratoria van het FAVV.

Ze is gericht op de detectie van *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* O157:H7 en shigatoxine producerende *E. coli* (STEC) op karkasswabs.

1. Verloop van de studie

dinsdag 18 maart 2014	<ul style="list-style-type: none">. Transport van de pakketten door een chauffeur van het WIV naar de dispatchingcentra (Melle en Gembloux). Opstarten van de analyses voor <i>Y. enterocolitica</i> door de laboratoria
woensdag 19 maart 2014	Opstarten van de analyses voor <i>E. coli</i> O157:H7 (en STEC) door de laboratoria
maandag 31 maart 2014	Doorsturen van resultaten
vrijdag 25 april 2014	Tussentijds verslag doorgestuurd aan de laboratoria door het WIV
donderdag 26 juni 2014	Eind rapport doorgestuurd aan de laboratoria door het WIV

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- 6 stomacherzakken (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3c) met elk 1 karkasswab
- 3 aanvullende stomacherzakken (4, 5 en 6) voor laboratoria die de detectie (en isolatie) van STEC uitvoerden
- temperatuurscontrole registratieapparaat (voor de meeste laboratoria)
- een koelelement
- de instructies



8 laboratoria waren ingeschreven voor de proficiency test en hebben de detectie van *E. coli* O157 : H7 uitgevoerd.

4 laboratoria hebben de detectie van *Y. enterocolitica* uitgevoerd.

5 laboratoria hebben de detectie van STEC uitgevoerd.

3 laboratoria hebben de detectie en de isolatie van STEC uitgevoerd.

ILVO – VOEDING	Melle
WIV	Brussel
QUALITY PARTNER	Herstal
EUROFINS	Brugge
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
LFSAGx	Gembloux
SGS	Antwerpen
FLVVM	Melle

2. Materiaal en methode van enting van de swabs

Materiaal

- Gebruikte stammen : *Yersinia enterocolitica* LMG 15558, *E. coli* O157:H7 niet pathogeen (sorbitol – , *stx* – , *eae* + , *hly* +), *E. coli* O111 (*eae* + , *stx1* – , *stx2* –) van het Europese referentie laboratorium, *E. coli* O103 (*eae* + , *stx1* – , *stx2* +) van het Europese referentie laboratorium
- BHI met *Y. enterocolitica*, optische densiteit (OD) = 1,047 verdund tot de verdunning 10^{-4} en 10^{-5} in gebufferd peptonwater
- BHI met *E. coli* O157H7, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater



Finaal rapport - Proficiency Test karkasswabs 2014 | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |

- BHI met *E. coli* O111, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met *E. coli* O103, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- Extract voor de contaminatie van de swab (representatief voor natuurlijke nevenflora): 25 g filet américain natuur + 225 ml gebufferd peptonwater → 1 minuut stomacheren → vloeistof = vleesextract.
- Katoenen swabs in stomacherzakken

Entingsmethode

Swab 1A en swab 1B

swab + 5 ml vleesextract + 100 µl van *Y. enterocolitica* (verdunning 10^{-4})

Swab 2A en sawb 2B

swab + 5 ml vleesextract + 100 µl van *Y. enterocolitica* (verdunning 10^{-5})

Swab 3A en swab 3B

swab + 5 ml vleesextract + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (verdunning 10^{-6})

Swab 4

swab + 5 ml vleesextract + 100 µl van *E. coli* O103 (verdunning 10^{-6})

Swab 5

swab + 5 ml vleesextract

Swab 6

swab + 5 ml vleesextract + 100 µl van *E. coli* O111 (verdunning 10^{-6})



3. Entingsniveau

Om het inoculumniveau en de fout op het inoculum te bepalen werd het entingsniveau bepaald door de verdunningen in drievoud uit te platen op Nutrient agar.

De swabs 1a en 1b waren beënt met 3576 ± 278 cfu (3298 – 3854) cfu van *Y. enterocolitica*

De swabs 2a en 2b waren beënt met 358 ± 28 cfu (330 – 386) cfu van *Y. enterocolitica*

De swabs 3a en 3b waren beënt met 26 ± 2 cfu (24 – 28) van *E. coli* O157:H7

De swab 4 was beënt met 33 ± 4 (29 – 37) cfu van *E. coli* O103

De swab 6 was beënt met 41 ± 7 (34 – 48) cfu van *E. coli* O111

4. Analyseprocedure

De analyse start rechtstreeks vanaf de stomacherzak waarin de karkasswab zich bevindt . Er zijn 2 stomacherzakken (a en b) per staal (1, 2, 3). De zakken « a » worden gebruikt voor de detectie van *E. coli* O157 : H7 en de zakken « b » voor de detectie van *Y. enterocolitica*.

Voor laboratoria die deelnemen aan de detectie (en isolatie) van STEC, zijn er drie bijkomende stalen 4, 5 en 6.

Het laboratorium moet de stalen voorbereiden zoals tijdens de routine analyses.

5. Geassocieerde analyses

De homogeniteitstest voor *Y. enterocolitica* werd op 18/03 uitgevoerd en deze voor *E. coli* O157 : H7 en STEC op 19/03. De stalen werden in drievoud geanalyseerd.

Y. enterocolitica werd gedetecteerd in de drie herhalingen van staal 1a.



Finaal rapport - Proficiency Test karkasswabs 2014 | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |

Y. enterocolitica werd gedetecteerd in de drie herhalingen van staal 2a.

E. coli O157 : H7 werd gedetecteerd in de drie herhalingen van staal 3b.

E. coli O103 *eae* + , *stx1* – , *stx2* + werd gedetecteerd in de drie herhalingen van staal 4.

E. coli O111 *eae* + , *stx1* – , *stx2* – werd gedetecteerd in de drie herhalingen van staal 6.

6. Resultaten van de laboratoria

Te verwachten resultaat:

Staal 1a/1b : afwezigheid van *E. coli* O157:H7

aanwezigheid van *Yersinia enterocolitica*

Staal 2a/2b: afwezigheid van *E. coli* O157:H7

aanwezigheid van *Yersinia enterocolitica*

Staal 3a/3b: aanwezigheid van *E. coli* O157:H7

afwezigheid van *Yersinia enterocolitica*

Staal 4: aanwezigheid van STEC (*E. coli* O103 *eae* + *stx1* – *stx2* +)

Staal 5: afwezigheid van STEC

Staal 6: afwezigheid van STEC (*E. coli* O111 *eae* + *stx1* – *stx2* –)

Resultaten van de laboratoria

staal	<i>E. coli</i> O157H7			<i>Yersinia enterocolitica</i>		
	1	2	3	1	2	3
n° labo						
2	afwezig	afwezig	aanwezig	/	/	/
4	afwezig	afwezig	aanwezig	/	/	/
5	afwezig	afwezig	aanwezig	aanwezig	aanwezig	aanwezig
10	afwezig	afwezig	aanwezig	/	/	/
11	afwezig	afwezig	aanwezig	aanwezig	aanwezig	afwezig
17	afwezig	afwezig	aanwezig	/	/	/
21	afwezig	afwezig	aanwezig	aanwezig	aanwezig	afwezig
28	afwezig	afwezig	aanwezig	aanwezig	afwezig	afwezig



/ : niet deelgenomen voor deze analyse

... : resultaat niet conform

staal	STEC screening											
	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
2	-	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O111
4	+	-	+	/	-	-	-	/	+	-	-	/
5	+	+	+	O103 en O145	-	-	-	/	+	-	-	/
17	+	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O26 en O111
21	+	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O111

staal	STEC isolatie											
	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
2	+	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/
4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
17	-	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/
21	+	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/

/ : niet deelgenomen voor deze analyse

... : resultaat niet conform

7. Conclusies

Gezien het hoge aantal *Enterobacteriaceae* die aanwezig zijn in deze matrix die bovendien interfereren op de isolatie media voor de detectie van *Y. enterocolitica*, was het NRL genoodzaakt om de stalen met een hoge hoeveelheid te besmetten.

Het laboratorium 5 heeft een valse-positief resultaat gehad voor staal 3.

Het laboratorium 28 heeft een valse-negatief resultaat gehad voor staal 2.

Alle laboratoria hebben *E. coli* O157 : H7 gedetecteerd in staal 3.



Voor de detectie en isolatie van STEC, hebben alle deelnemende laboratoria de betreffende kiemen gedetecteerd (en ook geïsoleerd indien uitgevoerd). Laboratorium n° 5 had wel een vals positief signaal voor de detectie van het *stx1* gen in staal 4 want de gebruikte *E. coli* O103 stam droeg dit virulentiegen niet. Ook had dit laboratorium een vals positief signaal voor de detectie van de serogroep O145 in hetzelfde staal.

Het laboratorium 17 heeft een vals negatief resultaat voor de detectie van de serogroep O26 in staal 6. Ook heeft dit laboratorium het virulentiegen *eae* niet gedetecteerd in staal 4 op isolatieniveau.

Voor de uitdrukking van de resultaten heeft het laboratorium 5 de resultaten niet conform de ISO/TS 13136 gerapporteerd.

Een tussentijds verslag werd op 25 april 2014 elektronisch aan de laboratoria doorgestuurd. Het finale verslag werd op 26 juni 2014 elektronisch doorgestuurd en is verkrijgbaar via de post op aanvraag.

De volgende proficiency test « detectie » zal in maart-april 2015 georganiseerd worden.