



EINDRAPPORT

PROFICIENCY TEST
PT 1 - 2018

DETECTIE
Y. ENTEROCOLITICA
PATHOGENE E. COLI STEC
E. COLI O157:H7

IN VLEES

WIE WE ZIJN

SCIENSANO telt meer dan 700 medewerkers die zich elke dag opnieuw inzetten voor ons motto: levenslang gezond. Zoals uit onze naam blijkt, vormen wetenschap en gezondheid de kern van ons bestaan. De kracht van Sciensano ligt in de holistische en multidisciplinaire benadering van gezondheid. Onze aandacht gaat daarbij uit naar het nauwe en onlosmakelijke verband tussen de gezondheid van mensen en die van dieren, en hun omgeving (het “One health” concept). Daarom combineren we meerdere invalshoeken in ons onderzoek om op een unieke manier bij te dragen aan ieders gezondheid.

Sciensano kan hiervoor verder bouwen op de meer dan 100 jaar wetenschappelijke expertise van het voormalige Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA) en het vroegere Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV).

Sciensano
Infectieziekten mens - Voedselpathogenen

juni 2018 • Elsene • België



WETENSCHAPPELIJK VERANTWOORDELIJKE: MARIE POLET



TECHNISCHE VERANTWOORDELIJKE: DONIA BACCARI



WETENSCHAPPELIJKE GOEDKEURING: NADINE BOTTELDOORN



Dit rapport wordt door Sciensano uitsluitend verdeeld aan de deelnemers van dit ringonderzoek. Sciensano is niet verantwoordelijk voor het gebruik van dit document door de houders ervan. De ontvangers van dit rapport zijn zelf verantwoordelijk voor het gebruik ervan.

Deze studie werd georganiseerd door het Nationaal Referentielaboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in samenwerking met het FAVV en was bedoeld voor de erkende laboratoria van het FAVV.

Deze interlaboratorium studie had betrekking op de detectie van *Y. enterocolitica*, *E. coli* O157:H7 en shigatoxine producerende *E. coli* (STEC) in een voedingsmatrix natuurlijk gecontamineerd met een mesofiele flora. Dit jaar werd als matrix varkensgehakt gekozen.

1. VERLOOP VAN DE STUDIE

Dinsdag 20 maart 2018	- bereiding en inoculatie van de stalen - transport van de pakketten naar de laboratoria
Woensdag 21 maart 2018	Start analyse door de laboratoria
Woensdag 7 april 2018	Limietdatum voor het doorsturen van resultaten
Maandag 23 april 2018	Tussentijdsrapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.
Vrijdag 22 juni 2018	Eindrapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- 3, 6 of 9 stalen (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) met elk 10 g of 25 g gehakt, het aantal was afhankelijk van de analyses waarvoor het laboratorium zich registreerde
- een registratieapparaat voor de temperatuurcontrole (voor de meeste laboratoria)
- een koelelement
- de instructies

11 laboratoria waren ingeschreven voor de proficiency test:

- 6 laboratoria hebben de detectie van *Y. enterocolitica* uitgevoerd.
- 7 laboratoria hebben de detectie van *E. coli* O157:H7 uitgevoerd.
- 7 laboratoria hebben de detectie (en eventueel de isolatie) van STEC uitgevoerd.

LABORATORIUM	LOCATIE
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HVS	Bergen
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SGS	Antwerpen
SCIENSANO	Brussel
LOVAP	Geel
ILVO	Melle
EUROFINS	Brugge
NVWA	Nederland

2. GEBRUIKT MATERIAAL EN ENTMETHODE VAN DE STALEN

Gebruikt materiaal :

- Gebruikte stammen: niet-STECS *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae*+) TIAC 1184, pathogeen *E. coli* O157:H7 (*stx1* + *stx2* + *eae* +) TIAC 3269, pathogeen *E. coli* O26 (*stx1* + *stx2* – *eae* +) TIAC 1221, *Y. enterocolitica* TIAC 3877 (pathogeen)
- BHI met een niet-STECS *E. coli* O157:H7, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met een pathogene *E. coli* O157:H7, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met pathogeen *E. coli* O26, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met *Y. enterocolitica*, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-4} in gebufferd peptonwater
- 3 tot 9 stomacherzakken met elk 10 g of 25 g van varkensgehakt, afhankelijk van de uit te voeren type analyse. Het gebruikte gehakt is afkomstig uit hetzelfde productielot.

Entmethode

Staal 1

25 g varkensgehakt + 100 µl van niet-STE C *E. coli* O157:H7 (verdunding 10^{-6})

Staal 2

25 g varkensgehakt

Staal 3

25 g varkensgehakt + 100 µl van niet-STE C *E. coli* O157:H7 (verdunding 10^{-6})

Staal 4

25 g varkensgehakt

Staal 5

25 g varkensgehakt + 100 µl van *Y. enterocolitica* (verdunding 10^{-4})

Staal 6

25 g varkensgehakt + 100 µl van *Y. enterocolitica* (verdunding 10^{-4})

Staal 7

25 g varkensgehakt + 100 µl van pathogeen *E. coli* O157:H7 (verdunding 10^{-6})

Staal 8

25 g varkensgehakt + 100 µl van pathogeen *E. coli* O26 (verdunding 10^{-6})

Staal 9

25 g varkensgehakt

3. ENTINGSNIVEAU

Om het inoculumniveau en de deviatie van het inoculum te bepalen werd het entingsniveau bepaald door de verdunningen in drievoud uit te platen op niet-selectief nutrient agar.

De staal 1 was beënt met 78 – 80 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

De staal 2 was niet beënt.

De staal 3 was beënt met 78 – 80 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

De staal 4 was niet beënt.

De staal 5 was beënt met 7543 – 8185 kve/10 g *Y. enterocolitica*.

De staal 6 was beënt met 7543 – 8185 kve/10 g *Y. enterocolitica*.

De staal 7 was beënt met 94 – 96 kve/25 g pathogene *E. coli* O157:H7.

De staal 8 was beënt met 94 – 96 kve/25 g pathogene *E. coli* O26.

De staal 9 was niet beënt.

4. ANALYSEPROCEDURE

Op woensdag 21 maart startte de analyse rechtstreeks vanaf de stomacherzak waarin de matrix zich bevond. Volgens de keuzes op de inschrijving, ontvingen de laboratoria voor de detectie van *E. coli* O157: H7 stalen 1 tot 3, voor *Y. enterocolitica* stalen 4 tot 6 en voor de detectie (en isolatie) van STEC stalen 7 tot 9.

Het laboratorium moest de stalen voorbereiden zoals tijdens de routine-analysen.

5. GEASSOCIEERDE ANALYSEN

Een stabiliteitstest werd op 21/03 uitgevoerd, de dag wanneer de laboratoria de analyses dienden te starten. Drie stalen werden geanalyseerd per staaltype (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

De stalen waren stabiel.

Een telling van het totaal kiemgetal werd uitgevoerd op een niet-beënt staal. Het resultaat was $1,5 \times 10^7$ kve/g.

De afwezigheid van de drie op te sporen kiemen was ook geverifieerd op één staal op de dag van beënting, en nogmaals tijdens de stabiliteitstest.

6. PERFORMANTIE VAN DE LABORATORIA

Te verwachten resultaat:

Staal 1 : aanwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 2 : afwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 3 : aanwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 4 : afwezigheid van *Y. enterocolitica*

Staal 5 : aanwezigheid van *Y. enterocolitica*

Staal 6 : aanwezigheid van *Y. enterocolitica*

Staal 7 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae*

Staal 8 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae*

Staal 9 : afwezigheid van STEC

Resultaten van de laboratoria :

+ : gedetecteerd

- : niet-gedetecteerd

OND: serogroep niet bepaald

/ : niet deelgenomen aan deze analyse

....: resultaat niet conform

		E. coli O157: H7		
staal		1	2	3
n° labo				
2		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
4		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
5		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
10		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
11		/	/	/
12		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
17		/	/	/
21		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
23		Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
28		/	/	/
31		/	/	/

		Y. enterocolitica		
staal		1	2	3
n° labo				
2		/	/	/
4		Niet-gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g
5		Niet-gedetecteerd/10g	Niet-gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g
10		/	/	/
11		Niet-gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g
12		/	/	/
17		/	/	/
21		Niet-gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g
23		/	/	/
28		Gedetecteerd/10g	Gedetecteerd/10g	Niet-gedetecteerd/10g
31		/	/	/

		STEC screening											
staal		7				8				9			
		eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
n° labo													
2		+	+	+	O157	+	+	-	O26	-	-	-	OND
4		+	+	+	O157	+	+	-	O26	-	-	-	/
10		-	-	-	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17		+	+	+	O157	+	+	-	O26	-	-	-	/
21		+	+	+	O157	+	+	-	O26	-	-	-	/
31		/	+	+	O157	/	+	-	O26	/	-	-	/

staal	STEC isolatie											
	7				8				9			
n° labo	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
2	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
4	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
10	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
21	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
31	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/

staal	STEC conclusie											
	7				8				9			
n° labo												
2	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Afwezigheid van STEC			
4	Aanwezigheid van STEC				Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Afwezigheid van STEC			
10	Afwezigheid van STEC				Aanwezigheid van STEC				Aanwezigheid van STEC			
17	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Afwezigheid van STEC			
21	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Afwezigheid van STEC			
31	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen				Afwezigheid van STEC			

7. DISCUSSIE EN CONCLUSIE

“detectie *Y. enterocolitica*”

Het laboratorium 5 had een vals-negatief resultaat voor staal 2.

Het laboratorium 28 had een vals-positief resultaat voor staal 1 en een vals-negatief resultaat voor staal 3.

“detectie *E. coli* O157 :H7”

Alle laboratoria behaalden conforme resultaten.

“detectie STEC”

Op het screeningsniveau van de methode, had het laboratorium 10 vals-negatieve resultaten voor de virulentiegenen *stx1*, *stx2* en *eae* voor staal 7, een vals-positief resultaat voor het virulentiegen *stx2* en voor de serogroep O157 voor staal 8, een vals-positief resultaat voor de virulentiegenen *stx1*, *stx2* en *eae* en voor de serogroep O26 voor staal 9. Op isolatieniveau van de methode voor stalen 8 en 9 vindt men dezelfde niet conforme resultaten. Voor de drie stalen was de uitdrukking van resultaten ook niet conform met de ISO norm TS 13136.

Laboratorium 4 had de resultaten van staal 7 niet conform met de eisen van de ISO norm TS 13136 uitgedrukt.

De resultaten van de ringonderzoeken worden door Sciensano automatisch overgebracht via de PT-schema software naar de databank van het FAVV, de deelnemende laboratoria dienen dus verder niets te doen.

Een tussentijdsverslag werd op 23 april 2018 elektronisch naar de laboratoria verzonden. Het finaal verslag werd op 22 juni 2018 elektronisch verzonden en is verkrijgbaar per post op aanvraag.

De volgende proficiency test « detectie » zal in maart-april 2019 georganiseerd worden.

CONTACT

Marie Polet • marie.polet@sciensano.be • T +32 2 6425086

MEER INFORMATIE

Afspraak op onze webpagina
www.sciensano.be of contacteer ons
via info@sciensano.be

Sciensano • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België • T +32 2 642 51 11 • T pers +32 2 642 54 20 • info@sciensano.be
• www.sciensano.be

Verantwoordelijke uitgever : Pierre Kerkhofs, Algemeen directeur • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België