



EINDRAPPORT

PROFICIENCY TEST
PT 1 - 2019

DETECTIE
E. COLI STEC
ET
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: KATELIJNE DIERICK



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 *E. coli* O157:H7 en shigatoxine producerende *E. coli* (STEC) in een voedingsmatrix natuurlijk gecontamineerd met een mesofiele flora. Dit jaar werd als matrix kalfs-varkensgehakt gekozen.

1. VERLOOP VAN DE STUDIE

Dinsdag 26 maart 2019	- bereiding en inoculatie van de stalen - transport van de pakketten naar de laboratoria
Woensdag 27 maart 2019	Start analyse door de laboratoria
Woensdag 10 april 2019	Limietdatum voor het doorsturen van resultaten
Donderdag 16 mei 2019	Tussentijds rapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.
Vrijdag 28 juni 2019	Eindrapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- 3 of 6 stalen (1, 2, 3, 4, 5, 6) met elk 25 g gehakt, het aantal was afhankelijk van de analyses waarvoor het laboratorium zich registreerde
- een koelelement
- de instructies

9 laboratoria waren ingeschreven voor de proficiency test:

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

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

2. GEBRUIKT MATERIAAL EN ENTMETHODE VAN DE STALEN

Gebruikt materiaal :

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

Entmethode

Staal 1

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae+*) (verdunning 10^{-6})

Staal 2

25 g kalfs-varkensgehakt

Staal 3

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae+*) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 4

25 g kalfs-varkensgehakt

Staal 5

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (*stx1* + *stx2* + *eae* +) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 6

25 g klafs-varkensgehakt + 100 µl van (*stx1* + *stx2* – *eae* +) *E. coli* O26 (verduunning 10⁻⁶)

3. ENTINGSNIVEAU

Het entingsniveau werd bepaald door de verdunningen in drievoud uit te platen op niet-selectief nutrient agar.

Staal 1 was beënt met 16 – 26 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

Staal 2 was niet beënt.

Staal 3 was beënt met 16 – 26 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

Staal 4 was niet beënt.

Staal 5 was beënt met 20 – 28 kve/25 g pathogene *E. coli* O157:H7.

Staal 6 was beënt met 32 – 50 kve/25 g pathogene *E. coli* O26.

4. ANALYSEPROCEDURE

Op woensdag 27 maart startte de analyse rechtstreeks vanaf de stomacherzak waarin de matrix zich bevond. Volgens de inschrijving, ontvingen de laboratoria voor de detectie van *E. coli* O157:H7 stalen 1 tot 3 en voor de detectie (en isolatie) van STEC stalen 4 tot 6.

Het laboratorium moest de stalen analyseren volgens de methode die wordt gebruikt voor de routinemonsters.

5. GEASSOCIEERDE ANALYSEN

Een homogeniteitstest werd op 27/03 uitgevoerd, de dag wanneer de laboratoria de analyses dienden te starten. Drie stalen werden geanalyseerd per staaltype (1, 2, 3, 4, 5, 6).

De stalen waren stabiel.

Een telling van het totaal kiemgetal werd uitgevoerd op een niet-beënt staal. Het resultaat was 1,6 10⁴ kve/g.

De afwezigheid van de drie op te sporen kiemen werd geverifieerd op één staal op de dag van beënting en nogmaals tijdens de homogeniteitstest. Een natuurlijke besmetting met *E. coli* O157 eae + kan niet worden uitgesloten.

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 STEC

Staal 5 : aanwezigheid van STEC drager van het gen eae (*E. coli* O157 eae + stx1 + stx2 +)

Staal 6 : aanwezigheid van STEC drager van het gen eae (*E. coli* O26 eae + stx1 + stx2 -)

Resultaten van de laboratoria :

+ : gedetecteerd

- : niet-gedetecteerd

OND: serogroep niet bepaald

/ : niet deelgenomen aan deze analyse

... : resultaat niet conform

■ : niet verwacht resultaat

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
21	Gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
23	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g

STEC screening												
staal	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
2	+	-	-	OND	+	+	+	O157	+	+	-	O26
4	-	-	-	O157	+	+	+	O157	+	+	-	O26 en O157
5	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
10	-	-	-	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
15	-	-	-	OND	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	-	-	+	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
21	+	-	-	/	+	+	+	/	+	+	-	/

31	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	-	/
STEC isolatie												
staal	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep	eae	stx1	stx2	serogroep
2	-	-	-	-	+	+	+	O157	+	+	-	O26
4	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
5	/	/	/	/	-	+	+	OND	/	/	/	O26
10	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
15	-	-	-	-	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	-	-	-	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
21	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
31	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26

STEC conclusie												
staal	4				5				6			
n° labo												
2	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
4	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
5	Geen detectie van STEC/25g				Détection de STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
10	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
15	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
17	Verdachte detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
21	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
31	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			

7. DISCUSSIE EN CONCLUSIE

Op basis van de homogeniteitstesten, kan een natuurlijke besmetting met *E. coli* O157 eae + niet worden uitgesloten. Daarom werden er geen strafpunten toegekend aan positieve PCR resultaten voor het eae gen en het gen coderend voor de serogroep O157 op niveau van de screening en de bevestigingsstap van de stammen (zie resultaten aangeduidt in **XXXX**).

Laboratorium 10 krijgt geen strafpunten voor het resultaat stx2 + voor staal 6 aangezien zij Sciensano heeft geïnformeerd bij het indienen van de resultaten dat de gebruikte methode niet toelaat om stx1 van stx2 te onderscheiden.

“detectie *E. coli* O157 :H7”

Laboratorium 21 heeft een niet conform resultaat voor staal 2.

“detectie STEC”

Op het screeningsniveau, had laboratorium 17 een vals-negatief resultaat voor het virulentiegen stx2 voor staal 4 en laboratoria 5 en 15 hebben een vals-positief resultaat voor het virulentiegen

stx2 voor staal 6. Op isolatieniveau heeft laboratorium 5 een vals-negatief resultaat voor het virulentiegen *eae* en voor de serogroep O157 in staal 5.

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 preliminair verslag werd op 16 mei 2019 elektronisch naar de laboratoria verzonden. Het finaal verslag werd op 28 juni 2019 elektronisch verzonden en is verkrijgbaar per post op aanvraag.

De volgende proficiency test « detectie » zal in maart-april 2020 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