

# EINDRAPPORT

## PROFICIENCY TEST VOOR LEVENSMIDDELENMICROBIOLOGIE

### PT 1 – 2017 DETECTIE VAN PATHOGENE *E. COLI* EN *E. COLI* O157 : H7 IN RAUWE MELK

**MAART 2017**

Dit rapport wordt door het WIV uitsluitend verdeeld aan de deelnemers van dit ringonderzoek. Het WIV 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.

Afdeling: Voedselpathogenen  
Auteur: M. Polet  
Wetenschappelijke verantwoordelijke: M. Polet  
Technische verantwoordelijke: W. Boukhouchi  
Wetenschappelijke goedkeuring: N. Botteldoorn  
J. Wytmanstraat 14  
1050 Brussel | België  
[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)



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 rauwe melk gekozen. Deze studie werd georganiseerd door het Nationaal Referentie Laboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in samenwerking met het FAVV en was bedoeld voor de erkende laboratoria van het FAVV.

## 1. Verloop van de studie

dinsdag 21 maart 2017	<ul style="list-style-type: none"><li>• bereiding en enting van de stalen</li><li>• transport van de pakketten door een chauffeur van het WIV naar de dispatchingcentra (Melle en Gembloux)</li></ul>
woensdag 22 maart 2017	opstarten van de analyses door de laboratoria
woensdag 31 maart 2017	Limiet datum voor het doorsturen van resultaten
maandag 8 mei 2017	tussentijds verslag doorgestuurd aan de laboratoria door het WIV
maandag 17 juli 2017	eindrapport doorgestuurd aan de laboratoria door het WIV

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- 4 proefbuizen (1, 2, 3, 4) met elk 25 ml melk voor de detectie van *E.coli* O157:H7
- 4 aanvullende proefbuizen (5, 6, 7, 8) met elk 25ml melk voor laboratoria die de detectie (en isolatie) van STEC uitvoerden
- temperatuurscontrole registratieapparaat (voor de meeste laboratoria)
- een koelelement
- de instructies



Finaal rapport - PT 1 - 2017 Detectie rauwe melk | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |  
10 laboratoria waren ingeschreven voor de proficiency test.

9 laboratoria hebben de detectie van *E. coli* O157 : H7 uitgevoerd.

6 laboratoria hebben de detectie (en eventueel 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
HVS	Bergen
NVWA	Wageningen

## 2. Materiaal en methode van enting

### Materiaal

- Gebruikte stammen : niet pathogeen *E. coli* O157 : H7 (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +) - TIAC 1184, pathogeen *E. coli* O157:H7 (*stx*1 + *stx*2 + *eae* +) - TIAC 777, pathogeen *E. coli* O26 (*stx*1 + *stx*2 – *eae*+) – TIAC 1201
- BHI met een niet pathogene *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



## **Entingsmethode**

### Staal 1

25 ml rauwe melk + 100 µl van pathogene *E. coli* O157:H7 (verdunning  $10^{-6}$ )

### Staal 2

25 ml rauwe melk + 100 µl van niet pathogene *E. coli* O157:H7 (verdunning  $10^{-6}$ )

### Staal 3

25 ml rauwe melk

### Staal 4

25 ml rauwe melk

### Staal 5

25 ml rauwe melk + 100 µl van pathogeen *E. coli* O157 : H7 (verdunning  $10^{-6}$ )

### Staal 6

25 ml rauwe melk

### Staal 7

25 ml rauwe melk + 100 µl van *E. coli* O26 (verdunning  $10^{-6}$ )

### Staal 8

25 ml UHT melk

## **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.



Finaal rapport - PT 1 - 2017 Detectie rauwe melk | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |  
De staal 1 was beënt met 51 – 97 kve/25 ml *E. coli* O157 : H7.

De staal 2 was beënt met 76 – 94 kve/25 ml *E. coli* O157 : H7.

De stalen 3 en 4 waren niet beënt.

De staal 5 was beënt met 51 – 97 kve/25 ml pathogene *E. coli* O157 : H7.

De staal 6 was niet beënt.

De staal 7 was beënt met 52 – 64 kve/25 ml pathogene *E. coli* O26.

De staal 8 was niet beënt.

#### **4. Analyseprocedure**

De analyse startte rechtstreeks vanaf de stomacherzak waarin de matrix zich bevond. De laboratoria die alleen deelnamen aan de detectie van *E. coli* O157 : H7 ontvingen proefbuizen 1 tot 4. De laboratoria die ook deelnamen aan de detectie (en isolatie) van STEC ontvingen drie bijkomende proefbuizen 5, 6, 7 en 8.

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

#### **5. Geassocieerde analyses**

Een homogeniteitstest werd op 22/03 uitgevoerd, de dag wanneer de laboratoria de analyses dienden te starten. 3 stalen werden geanalyseerd voor elke type staal (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

De stalen waren stabiel.

#### **6. Resultaten van de laboratoria**

##### Te verwachten resultaat:

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

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

Stalen 3 et 4: afwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 5 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae*

Staal 6 : afwezigheid van STEC



Finaal rapport - PT 1 - 2017 Detectie rauwe melk | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |  
 Staal 7 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae*

Staal 8: afwezigheid van STEC

Resultaten van de laboratoria :

staal	<i>E. coli</i> O157: H7			
	1	2	3	4
n° labo				
2	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
4	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
5	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
10	Niet-gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
11	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
17	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
21	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
23	Gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml
28	Niet-gedetecteerd/25ml	Gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml	Niet-gedetecteerd/25ml

staal	STEC screening															
	5				6				7				8			
	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep
n° labo																
2	+	+	+	O157	-	-	-	OND	+	+	-	O26	-	-	-	OND
4	+	+	+	/	+	+	+	/	+	+	-	/	+	+	-	/
10	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	+	O26	-	-	-	/
17	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	O26	-	-	-	/
21	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	/	-	-	-	/
31	/	+	+	/	-	-	-	/	/	+	-	/	-	-	-	/

staal	STEC isolatie															
	5				6				7				8			
	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	serogroep
n° labo																
2	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
4	+	+	+	O157	+	+	+	O157	+	+	-	O26	+	+	-	O26
10	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	+	O26	/	/	/	/
17	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
21	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
31	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/



staal	STEC conclusie	
	5	6
n° labo		
2	Aanwezigheid van STEC drager van het eae	Afwezigheid van STEC
4	Aanwezigheid van STEC drager van het eae	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen
10	Aanwezigheid van STEC drager van het eae	Afwezigheid van STEC
17	Aanwezigheid van STEC drager van het eae	Afwezigheid van STEC
21	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen	Afwezigheid van STEC
31	Aanwezigheid van STEC drager van het eae gen	Afwezigheid van STEC

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

+ : gedetecteerd

- : niet gedetecteerd

OND: serogroep niet bepaald

/ : niet deelgenomen voor deze analyse

....: resultaat niet conform

## 7. Discussie en conclusie

### “detectie *E. coli* O157 :H7”

Het laboratorium 10 had een vals-negatief resultaat voor staal 1. Het resultaat voor staal 2 is correct terwijl het entingsniveau gelijk is.

Het laboratorium 17 had vals-negatieve resultaten voor staal 2. Het laboratorium heeft een methode gebruikt die de pathogene *E. coli* detecteert gebaseerd op virulentiegenen en heeft het resultaat volgens deze methode gerapporteerd, terwijl de proficiency test specifiek op de detectie van *E. coli* O157: H7 (pathogene of niet) betrekking heeft.



Finaal rapport - PT 1 - 2017 Detectie rauwe melk | NRL Levensmiddelenmicrobiologie |  
Het laboratorium 28 had een vals-negatief resultaat voor staal 1. De resultaat van staal 2 is correct terwijl het entingsniveau gelijk is.  
Er is geen vals-positief resultaat voor stalen 3 en 4.

#### “detectie STEC”

Het laboratorium 4 heeft vals positieve resultaten voor virulentiegenen *stx 1*, *stx 2*, *eae* op het screeningsniveau van de detectie voor staal 6. Het heeft ook vals-positieve resultaten voor virulentiegenen *stx 1*, *stx 2*, *eae* en voor serogroep O157 op isolatieniveau van de detectiemethode van dezelfde staal. Voor staal 8 heeft dit laboratorium vals positieve resultaten voor virulentiegenen *stx 1* en *eae* op het screeningsniveau van de detectie. Het heeft voor dit staal ook vals-positieve resultaten voor virulentiegenen *stx 1*, *stx 2*, *eae* en voor serogroep O26 op isolatieniveau van de detectiemethode.

Het laboratorium 10 heeft een vals-positief resultaat voor het virulentiegen *stx 2* op screeningsniveau en op isolatieniveau van de detectie voor staal 6. De gebruikte commerciële kit maakt geen onderscheid tussen *stx1/stx2* in het eindresultaat. Het laboratorium heeft dus hetzelfde resultaat voor beide virulentiegenen gerapporteerd. Dit heeft geen impact op de uitdrukking van resultaten.

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

Een tussentijds verslag werd op 8 mei 2017 elektronisch aan de laboratoria doorgestuurd. Het finale verslag werd op 17 juli 2017 elektronisch doorgestuurd en is verkrijgbaar via de post op aanvraag.

De volgende proficiency test « detectie » zal in maart-april 2018 georganiseerd worden.