

RAPPORT FINAL

TEST D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

DETECTION SUR SWABS DE CARCASSES
E. COLI O157:H7 – *YERSINIA ENTEROCOLITICA* – STEC

NOVEMBRE 2013

Section: Pathogènes alimentaires
Polet Marie
Botteldoorn Nadine
Rue J. Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be



Cette étude inter-laboratoire a été organisée par le Laboratoire National de Référence (LNR) en microbiologie alimentaire en collaboration avec l'AFSCA et était destinée aux laboratoires agréés par l'AFSCA.

Elle porte sur la détection de *Yersinia enterocolitica*, d' *E. coli* O157:H7 et de shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) sur des swabs de carcasses.

1. Déroulement de l'étude

mardi 26 novembre 2013	. transport des colis par un chauffeur de l'ISP vers les 2 dispatchings (Melle et Gembloux) . laboratoires débutent les analyses pour <i>Y. enterocolitica</i>
mercredi 27 novembre 2013	laboratoires débutent les analyses pour <i>E. coli</i> O157:H7 (et STEC)
vendredi 13 décembre 2013	date limite pour rendre les résultats
vendredi 3 janvier 2014	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
lundi 10 février 2014	rapport final envoyé aux laboratoires par l'ISP

Chaque colis contenait :

- 6 sacs stomacher (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b) contenant chacun 1 swab de carcasse
- 2 sacs stomachers supplémentaires (4 et 5) pour les laboratoires effectuant la détection (et isolement) de STEC
- un traceur de température (pour quelques laboratoires)
- un bloc réfrigérant
- les instructions
- le n° du laboratoire



9 laboratoires se sont inscrits à l'essai et ont effectué la détection de *E. coli* O157 : H7.

5 laboratoires ont effectué la détection de *Y. enterocolitica*

5 laboratoires ont effectué la détection de STEC.

2 laboratoires ont effectué la détection et l'isolement de STEC.

ILVO – VOEDING	Melle
SGS	Antwerpen
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
LFSAGx	Gembloux
ISP	Bruxelles
AGRO-ANALYSES	Metz, France
CHEMIPHAR	Bruges

2. Matériel et méthode de contamination des swabs

Matériel

- Souches utilisées : *Yersinia enterocolitica* LMG 15558, *E. coli* O157H7 non pathogène (sorbitol –, *stx* –, *eae* +, *hly* +), *E. coli* O111 (*eae* +, *stx1* –, *stx2* –) d'origine alimentaire, *E. coli* O145 (*eae* +, *stx1* +, *stx2* –) d'origine alimentaire
- BHI de *Y. enterocolitica*, densité optique (DO) = 0, 878 dilué jusqu'à la dilution 10^{-4} dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O157:H7, DO = 1,890 dilué jusqu'à la dilution 10^{-7} dans de l'eau peptonée tamponnée



Rapport final test d'aptitude swabs carcasses 2013 | LNR Microbiologie alimentaire |

- BHI de *E. coli* O111, DO = 2,136 dilué jusqu'à la dilution 10^{-6} dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O145, DO = 1,904 dilué jusqu'à la dilution 10^{-6} dans de l'eau peptonée tamponnée
- 25 g de viande hachée + 225 ml d'eau peptonée tamponnée → stomacher 1 minute → liquide = extrait de viande. Cet extrait est dilué une fois supplémentaire (1/10) pour les swabs contaminés avec *Y. enterocolitica* afin de diminuer la flore annexe présente dans l'échantillon.
- Cotons démaquillants (= swabs) dans sacs stomacher

Méthode de contamination

Swab 1a et swab 1b

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *Y. enterocolitica* (dilution 10^{-4})

Swab 2a et sawb 2b

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O157 : H7 (dilution 10^{-7})

Swab 3a et swab 3b

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande

Swab 4

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O111 (dilution 10^{-6})

Swab 5

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O145 (dilution 10^{-6})



3. Taux de contamination

Pour déterminer le niveau de l'inoculum et calculer la faute sur l'inoculum, le niveau de contamination a été déterminé en dénombrant les dilutions en triple sur une gélose nutritive.

Les swabs 1a et 1b ont été contaminés avec 4606 ± 815 ufc (3791 – 5421) de *Y. enterocolitica*

Les swabs 2a et 2b ont été contaminés avec 1 ± 1 ufc d'*E. coli* O157 : H7

Le swab 4 a été contaminé avec 40 ± 9 (31 – 49) ufc d'*E. coli* O111

Le swab 5 a été contaminé avec 18 ± 7 (11 – 25) ufc d'*E. coli* O145

4. Procédure d'analyse

L'analyse démarre directement à partir du sac stomacher dans lequel se trouve le swab de carcasse. Il y a 2 sacs stomacher (a et b) par échantillon (1, 2, 3) . Les sacs « a » sont utilisés pour la détection d'*E. coli* O157 : H7 et les sacs « b » pour la détection de *Y. enterocolitica*.

Pour les laboratoires qui participent à la détection (et isolement) de STEC, deux sacs supplémentaires sont présents et numérotés 4 et 5.

Le laboratoire doit préparer les échantillons de la même manière que lors des analyses de routine.

5. Analyses associées

Un test d'homogénéité a été réalisé le 26/11 pour la détection de *Y. enterocolitica* et le 27/11 pour la détection de *E. coli* O157 : H7 et STEC. Les échantillons ont été analysés en triple.

Y. enterocolitica a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 1a.



E. coli O157 : H7 a été détecté sur deux des trois répétitions de l'échantillon 2b.

E. coli O111 (*eae* +, *stx1* -, *stx2* -) a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 4.

E. coli O145 (*eae* +, *stx1* +, *stx2* -) a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 5.

6. Résultats des laboratoires

Résultats attendus

Echantillon 1a/1b : absence de *E. coli* O157:H7
présence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 2a/2b: présence de *E. coli* O157:H7
absence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 3a/3b: absence de *E. coli* O157:H7
absence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 4: absence de STEC (*E. coli* O111 : *eae* + , *stx1* - , *stx2* -)

Echantillon 5: présence de STEC (*E. coli* O145: *eae* + , *stx1* +, *stx2* -)

échantillon	<i>E. coli</i> O157H7			<i>Yersinia enterocolitica</i>		
	1	2	3	1	2	3
n° labo						
2	absence	absence	absence	/	/	/
4	absence	présence	absence	présence	absence	absence
5	absence	présence	absence	présence	absence	absence
10	absence	présence	absence	/	/	/
11	absence	présence	absence	présence	absence	absence
17	absence	présence	absence	/	/	/
21	absence	présence	absence	présence	absence	absence
24	absence	présence	absence	/	/	/
28	absence	présence	absence	présence	absence	absence

/ : pas participé à cette analyse

absence : résultat non conforme



échantillon	STEC screening							
	4				5			
n° labo	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe
2	+	-	-	O111	+	+	-	O145
4	+	-	-	/	+	+	-	O145
5	+	-	-	/	+	+	+	/
17	+	-	-	O111	+	+	-	O145
21	+	-	-	/	+	+	-	O145

échantillon	STEC isolement							
	4				5			
n° labo	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe
2	+	-	-	O111	+	+	-	O145
4	/	/	/	/	/	/	/	/
5	/	/	/	/	/	/	/	/
17	/	/	/	/	/	/	/	/
21	+	-	-	O111	+	+	-	O145

/ : pas participé à cette analyse

... : résultat non conforme

7. Discussion et conclusions

Etant donné la quantité élevée d'*Enterobacteriaceae* présente dans la matrice et qui poussent aussi en grande quantité sur les milieux de détection de *Y. enterocolitica*, le LNR a dû contaminer les échantillons avec une quantité élevée de cette bactérie. Malgré cela, la lecture des milieux n'a pas été aisée car peu de colonies de *Y. enterocolitica* étaient présentes.

Tous les laboratoires ont détecté ce germe dans l'échantillon contaminé (n°1).

Concernant la détection de *E. coli* O157 : H7, le laboratoire n°2 n'a pas détecté ce germe malgré les analyses supplémentaires (PCR) effectuées.

Comme les échantillons contaminés (n°2) ont été contaminés à la limite de détection de la méthode et que les tests d'homogénéité ont montré que 2 échantillons sur 3



Rapport final test d'aptitude swabs carcasses 2013 | LNR Microbiologie alimentaire |
étaient contaminés avec *E. coli* O157 : H7, il a été décidé que le LNR réalise un test en parallèle avec ce laboratoire afin d'évaluer sa performance.

En ce qui concerne la détection et l'isolement de STEC, tous les laboratoires effectuant l'analyse ont détecté (et isolé) les STEC. Par contre, le laboratoire n°5 a un faux-positif pour la détection du gène *stx 2* car la souche *E. coli* O145 utilisée ne porte pas ce gène de virulence.

Au niveau de l'expression des résultats, les laboratoires 2, 4 et 5 n'ont pas exprimé leur résultat conformément à la norme ISO/TS 13136.

Le tableau suivant synthétise comment l'expression des résultats doit être exprimée selon la norme.



screening		isolement des colonies	
Résultat	Expression du résultat	Résultat	Expression du résultat
<i>stx</i> -, <i>eae</i> +/-	non détection de STEC (séro groupe) dans x g ou ml ou swab	/	/
<i>stx</i> +, <i>eae</i> -	détection présumée de STEC (séro groupe) dans x g ou ml ou swab	<i>stx</i> -, <i>eae</i> - ou aucune colonie caractéristique	pas d'isolement
		<i>stx</i> +, <i>eae</i> -	présence de STEC (séro groupe) dans x g ou ml ou swab
		<i>stx</i> +, <i>eae</i> +	présence de STEC (séro groupe) possédant le gène <i>eae</i> dans x g ou ml ou swab
<i>stx</i> +, <i>eae</i> +	détection présumée de STEC (séro groupe) possédant le gène <i>eae</i> dans x g ou ml ou swab	<i>stx</i> -, <i>eae</i> - ou aucune colonie caractéristique	pas d'isolement
		<i>stx</i> -, <i>eae</i> +	pas d'isolement
		<i>stx</i> +, <i>eae</i> -	présence de STEC (séro groupe) dans x g ou ml ou swab
		<i>stx</i> +, <i>eae</i> +	présence de STEC (séro groupe) possédant le gène <i>eae</i> dans x g ou ml ou swab



Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 3 janvier 2014. Le rapport final est envoyé le 10 février 2014 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude sera organisé en mars – avril 2014.