



RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE
PT 1 - 2018

DÉTECTION DE
Y. ENTEROCOLITICA
E. COLI PATHOGÈNE STEC
E. COLI O157:H7

DANS LA VIANDE

QUI NOUS SOMMES

SCIENSANO, ce sont plus de 700 collaborateurs qui s'engagent chaque jour au service de notre devise « toute une vie en bonne santé ». Comme notre nom l'indique, la science et la santé sont au cœur de notre mission. Sciensano puise sa force et sa spécificité dans une approche holistique et multidisciplinaire de la santé. Plus spécifiquement, nos activités sont guidées par l'interconnexion indissociable de la santé de l'homme, de l'animal et de leur environnement (le concept "One health" ou « Une seule santé »). Dans cette optique, en combinant plusieurs angles de recherche, Sciensano contribue d'une manière unique à la santé de tous.

Issu de la fusion entre l'ancien Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et l'ex-Institut scientifique de Santé publique (ISP), Sciensano s'appuie sur plus de 100 ans d'expertise scientifique.

Sciensano

Maladies infectieuses humaines - Pathogènes alimentaires

avril 2018 • Ixelles • Belgique



RESPONSABLE SCIENTIFIQUE: MARIE POLET



RESPONSABLE TECHNIQUE: DONIA BACCARI



APPROBATION SCIENTIFIQUE: NADINE BOTTELDOORN



Ce rapport est distribué par Sciensano exclusivement aux participants de cet essai d'aptitude. Sciensano décline toute responsabilité quant à l'utilisation de ce document par ses détenteurs. Les destinataires de ce rapport sont les seuls responsables de son usage.

INTRODUCTION

Cet essai d'aptitude a été organisé par le Laboratoire National de Référence (LNR) en microbiologie alimentaire en collaboration avec l'AFSCA et était destiné aux laboratoires agréés par l'AFSCA.

Il porte sur la détection de *Y. enterocolitica*, des *E. coli* productrices de shiga-toxines (STEC) et de *E. coli* O157:H7 dans une matrice alimentaire naturellement contaminée en flore mésophile. Cette année, la matrice choisie était de la viande hachée de porc.

1. DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE

Mardi 20 mars 2018	<ul style="list-style-type: none">- Préparation et inoculation des échantillons- Transport des échantillons vers les laboratoires
Mercredi 21 mars 2018	Début des analyses par les laboratoires
Mercredi 4 avril 2018	Date limite pour la soumission des résultats
Lundi 23 avril 2018	Rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par Sciensano
Vendredi 22 juin 2018	Rapport final envoyé aux laboratoires par Sciensano

Chaque colis contenait :

- 3, 6 ou 9 échantillons (numérotés de 1 à 9) contenant chacun 25 g de viande hachée, nombre dépendant des analyses auxquelles participaient le laboratoire
- un traceur de température pour la plupart des laboratoires
- un bloc réfrigérant
- les instructions

11 laboratoires se sont inscrits à l'essai :

- 6 laboratoires ont effectué la détection de *Y. enterocolitica*.
- 7 laboratoires ont effectué la détection de *E. coli* O157:H7.
- 7 laboratoires ont effectué la détection (et éventuellement l'isolement) de STEC.

LABORATOIRE	LOCALISATION
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HVS	Mons
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SGS	Anvers
SCIENSANO	Bruxelles
ILVO	Melle
LOVAP	Geel
EUROFINS	Bruges
NVWA	Pays-Bas

2. MATERIEL ET CONTAMINATION DES ECHANTILLONS

Matériel

- Souches utilisées : *E. coli* O157 : H7 (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +) TIAC 1184, *E. coli* O157:H7 pathogène (*stx* 1 + *stx* 2 + *eae* +) TIAC 3269, *E. coli* O26 pathogène STEC (*stx* 1 + *stx* 2 – *eae* +) TIAC 1221, *Y. enterocolitica* TIAC 3877 (pathogène)
- BHI de *E. coli* O157:H7 non pathogène, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁶ dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O157:H7 pathogène, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁶ dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O26 pathogène, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁶ dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *Y. enterocolitica*, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁴ dans de l'eau peptonée tamponnée
- 3 à 9 sacs stomacher contenant chacun 10 ou 25 g de haché de porc selon le type d'analyse à effectuer dessus. Le haché utilisé vient du même lot de production.

Contamination

Echantillon 1

25 g de haché de porc + 100 µl de *E. coli* O157:H7 non – pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 2

25 g de haché de porc

Echantillon 3

25 g de haché de porc + 100 µl de *E. coli* O157:H7 non – pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 4

10 g de haché de porc

Echantillon 5

10 g de haché de porc + 100 µl de *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻⁴)

Echantillon 6

10 g de haché de porc + 100 µl de *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻⁴)

Echantillon 7

25 g de haché de porc + 100 µl de *E. coli* O157:H7 pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 8

25 g de haché de porc + 100 µl de *E. coli* O26 pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 9

25 g de haché de porc

3. NIVEAU DE CONTAMINATION

Pour déterminer le niveau et la déviation de l'inoculum, il a été dénombré en triple sur une gélose nutritive non sélective.

L'échantillon 1 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 à un niveau de 78 – 80 ufc/25 g.

L'échantillon 2 n'a pas été contaminé.

L'échantillon 3 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 à un niveau de 78 – 80 ufc/25 g.

L'échantillon 4 n'a pas été contaminé.

L'échantillon 5 a été contaminé avec *Y. enterocolitica* à un niveau de 7543 – 8185 ufc/10 g.
L'échantillon 6 a été contaminé avec *Y. enterocolitica* à un niveau de 7543 – 8185 ufc/10 g.
L'échantillon 7 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 pathogène à un niveau de 94 – 96 ufc/25 g.
L'échantillon 8 a été contaminé avec *E. coli* O26 pathogène à un niveau de 45 – 77 ufc/25 g.
L'échantillon 9 n'a pas été contaminé.

4. PROCEDURE D'ANALYSE

Le laboratoire devait démarrer les analyses le mercredi 21 mars directement à partir du sac stomacher. Selon l'inscription à l'essai, il devait effectuer la détection de *E. coli* O157 :H7 sur les échantillons 1 à 3 et/ou la détection de *Y. enterocolitica* sur les échantillons 4 à 6 et/ou la détection (et isolement) de STEC sur les échantillons 7 à 9, suivant la même méthode que celle utilisée lors des analyses de routine du laboratoire.

5. ANALYSES ASSOCIÉES

Un test de stabilité a été réalisé le 21 mars, jour du début des analyses pour les laboratoires participants. 3 échantillons ont été analysés par type d'échantillon (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Les échantillons étaient stables.

Un dénombrement de la flore totale a été réalisé sur un échantillon non contaminé. Le résultat est de $1,5 \cdot 10^7$ ufc/g.

L'absence des 3 germes recherchés a aussi été vérifiée sur un échantillon du lot de production, et vérifiée à nouveau lors des analyses de stabilité.

6. PERFORMANCE DES LABORATOIRES : Z-SCORES

Résultats attendus

Echantillon 1 : présence de *E. coli* O157:H7

Echantillon 2 : absence de *E. coli* O157:H7

Echantillon 3 : présence de *E. coli* O157:H7

Echantillon 4 : absence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 5 : présence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 6 : présence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 7 : présence de STEC possédant le gène eae

Echantillon 8 : présence de STEC possédant le gène eae

Echantillon 9: absence de STEC

Résultats des laboratoires

+ : détection

- : non détection

/ : analyse non réalisée

... : résultat non conforme

OND : sérotype non déterminé

E. coli O157: H7			
échantillon	1	2	3
n° labo			
2	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
4	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
5	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
10	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
11	/	/	/
12	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
17	/	/	/
21	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
23	DéTECTÉ/25g	Non-déTECTÉ/25g	DéTECTÉ/25g
28	/	/	/
31	/	/	/

Y. enterocolitica			
échantillon	1	2	3
n° labo			
2	/	/	/
4	Non-déTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g
5	Non-déTECTÉ/10g	Non-déTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g
10	/	/	/
11	Non-déTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g
12	/	/	/
17	/	/	/
21	Non-déTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g
23	/	/	/
28	DéTECTÉ/10g	DéTECTÉ/10g	Non-déTECTÉ/10g
31	/	/	/

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

échantillon	STEC isolement											
	7				8				9			
n° labo	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe
2	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
4	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
10	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
21	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/
31	+	+	+	O157	+	+	-	O26	/	/	/	/

échantillon	STEC conclusion											
	7				8				9			
n° labo												
2	Présence de STEC possédant le gène eae				Présence de STEC possédant le gène eae				Absence de STEC			
4	Présence de STEC				Présence de STEC possédant le gène eae				Absence de STEC			
10	Absence de STEC				Présence de STEC				Présence de STEC			
17	Présence de STEC possédant le gène eae				Présence de STEC possédant le gène eae				Absence de STEC			
21	Présence de STEC possédant le gène eae				Présence de STEC possédant le gène eae				Absence de STEC			
31	Présence de STEC possédant le gène eae				Présence de STEC possédant le gène eae				Absence de STEC			

7. DISCUSSION ET CONCLUSION

« détection de *Y. enterocolitica* » :

Le laboratoire 5 a un résultat faux-négatif pour l'échantillon 2.

Le laboratoire 28 a un résultat faux-positif pour l'échantillon 1 et un résultat faux-négatif pour l'échantillon 3.

« détection de *E. coli* O157:H7 » :

Tous les laboratoires ont obtenus des résultats conformes.

« détection de STEC » :

A l'étape de screening de la méthode, le laboratoire 10 a un résultat faux-négatif pour les gènes de virulence *stx 1*, *stx 2* et *eae* de l'échantillon 7, un résultat faux-positif pour le gène de virulence *stx2* et pour le gène du sérotype O157 de l'échantillon 8, un résultat faux-positif pour les gènes de virulence *stx 1*, *stx 2* et *eae* et pour le gène du sérotype O26 de l'échantillon 9. Les mêmes résultats non-conformes se retrouvent à l'étape d'isolement des échantillons 8 et 9. L'expression des résultats est aussi non conforme par rapport à l'ISO/TS 13136 pour les trois échantillons.

Le laboratoire 4 exprime les résultats non conforme vis-à-vis la norme ISO/TS 13136 pour l'échantillon 7.

Les résultats des essais d'aptitude sont encodés automatiquement par Sciensano via le logiciel PT-scheme dans la base de données de l'AFSCA. Les laboratoires participants ne doivent donc pas le faire.

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 23 avril 2018. Le rapport final est envoyé le 22 juin 2018 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « détection » sera organisé en mars – avril 2019.

CONTACT

Marie Polet • marie.polet@sciensano.be • T +32 2 642 50 86

PLUS D'INFORMATIONS

Rendez-vous sur notre page web
www.sciensano.be ou contactez-
nous via info@sciensano.be

Sciensano • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique • T +32 2 642 51 11 • T presse +32 2 642 54 20 •
info@sciensano.be • www.sciensano.be

Éditeur responsable : Pierre Kerkhofs, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique •