

# RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE  
PT 1 - 2019

DÉTECTION DE  
E. COLI STEC  
ET  
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

juin 2019 • Ixelles • Belgique



RESPONSABLE SCIENTIFIQUE: MARIE POLET



RESPONSABLE TECHNIQUE: DONIA BACCARI



APPROBATION SCIENTIFIQUE: KATELIJNE DIERICK



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 portait sur la détection 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 et veau.

## 1. DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE

Mardi 26 mars 2019	<ul style="list-style-type: none"><li>- Préparation et inoculation des échantillons</li><li>- Transport des échantillons vers les laboratoires</li></ul>
Mercredi 27 mars 2019	Début des analyses par les laboratoires
Mercredi 10 avril 2019	Date limite pour la soumission des résultats
Jeudi 16 mai 2019	Rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par Sciensano
Vendredi 28 juin 2019	Rapport final envoyé aux laboratoires par Sciensano

Chaque colis contenait :

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

9 laboratoires se sont inscrits à l'essai :

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

LABORATOIRE	LOCALISATION
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HVS	Mons
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
SGS	Anvers
SCIENSANO	Bruxelles
ILVO	Melle
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 (*stx* 1 + *stx* 2 + *eae* +) TIAC 3269, *E. coli* O26 (*stx* 1 + *stx* 2 – *eae* +) TIAC 1221,
- BHI de *E. coli* O157:H7 (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +), DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10<sup>-6</sup> dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O157:H7 (*stx* 1 + *stx* 2 + *eae* +), DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10<sup>-6</sup> dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O26 (*stx* 1 + *stx* 2 – *eae* +), DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10<sup>-6</sup> dans de l'eau peptonée tamponnée
- 3 ou 6 sacs stomacher contenant chacun 25 g de haché de porc et veau selon le type d'analyse à effectuer. Le haché utilisé vient du même lot de production.

### Contamination

#### Echantillon 1

25 g de haché de porc et veau + 100 µl de *E. coli* O157:H7 (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +) (dilution 10<sup>-6</sup>)

#### Echantillon 2

25 g de haché de porc et veau

### Echantillon 3

25 g de haché de porc et veau + 100 µl de *E. coli* O157:H7 (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +) (dilution 10<sup>-6</sup>)

### Echantillon 4

25 g de haché de porc et veau

### Echantillon 5

25 g de haché de porc et veau + 100 µl de *E. coli* O157:H7 (*stx* 1 + *stx* 2 + *eae* +) (dilution 10<sup>-6</sup>)

### Echantillon 6

25 g de haché de porc et veau + 100 µl de *E. coli* O26 (*stx* 1 + *stx* 2 – *eae* +) (dilution 10<sup>-6</sup>)

## 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 16 – 26 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 16 – 26 ufc/25 g.

L'échantillon 4 n'a pas été contaminé.

L'échantillon 5 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 pathogène à un niveau de 20 – 28 ufc/25 g.

L'échantillon 6 a été contaminé avec *E. coli* O26 pathogène à un niveau de 32 – 50 ufc/25 g.

## 4. PROCEDURE D'ANALYSE

Le laboratoire devait démarrer les analyses le mercredi 27 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 (et isolement) de STEC sur les échantillons 4 à 6, suivant la même méthode que celle utilisée lors des analyses de routine du laboratoire.

## 5. ANALYSES ASSOCIÉES

Un test d'homogénéité a été réalisé le 27 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).

Les échantillons étaient stables.

Un dénombrement de la flore totale a été réalisé sur un échantillon non contaminé. Le résultat est de  $1,6 \cdot 10^4$  ufc/g.

L'absence des 3 germes recherchés a été vérifiée sur un échantillon du lot de production, et vérifiée à nouveau lors des analyses d'homogénéité. Une contamination naturelle avec *E. coli* O157 eae + n'a pu être exclue.

## 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 STEC

**Echantillon 5** : présence de STEC porteur du gène eae (*E. coli* O157 eae + stx1 + stx2 +)

**Echantillon 6** : présence de STEC porteur du gène eae (*E. coli* O26 eae + stx1 + stx2 -)

### Résultats des laboratoires

+ : détection

- : non détection

/ : analyse non réalisée

■ : résultat non conforme

■ : résultat non attendu

OND : sérotype non déterminé

échantillon n° labo	<i>E. coli</i> O157: H7		
	1	2	3
2	Déecté/25g	Non-déecté/25g	Déecté/25g
4	Déecté/25g	Non-déecté/25g	Déecté/25g
5	Déecté/25g	Non-déecté/25g	Déecté/25g
10	Déecté/25g	Non-déecté/25g	Déecté/25g
21	Déecté/25g	Déecté/25g	Déecté/25g
23	Déecté/25g	Non-déecté/25g	Déecté/25g

échantillon	STEC screening											
	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe
2	+	-	-	OND	+	+	+	O157	+	+	-	O26
4	-	-	-	O157	+	+	+	O157	+	+	-	O26 et O157
5	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
10	-	-	-	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
15	-	-	-	OND	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	-	-	+	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
21	+	-	-	/	+	+	+	/	+	+	-	/
31	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	-	/

échantillon	STEC isolement											
	4				5				6			
n° labo	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe	eae	stx1	stx2	sérogroupe
2	-	-	-	-	+	+	+	O157	+	+	-	O26
4	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
5	/	/	/	/	-	+	+	OND	/	/	/	O26
10	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	+	O26
15	-	-	-	-	+	+	+	O157	+	+	+	O26
17	-	-	-	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
21	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26
31	/	/	/	/	+	+	+	O157	+	+	-	O26

échantillon	STEC conclusion											
	4				5				6			
n° labo												
2	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
4	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
5	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
10	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
15	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
17	Détection présomptive de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
21	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
31	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			



## 7. DISCUSSION ET CONCLUSION

Sur base des résultats des tests d'homogénéité, une contamination naturelle avec *E. coli* O157 *eae* + n'a pu être exclue. De ce fait, aucune pénalité n'a alors été attribuée aux résultats PCR positifs des gènes *eae* et codant pour le sérotype O157 au niveau du screening et de l'étape de confirmation des souches (voir résultats surlignés **XXXX**).

Le laboratoire 10 ne reçoit pas de pénalité pour le résultat *stx* 2 + de l'échantillon 6 car il informe Sciensano lors de la soumission des résultats que sa méthode ne permet pas de différencier *stx* 1 et *stx* 2.

« détection de *E. coli* O157:H7 » :

Le laboratoire 21 a obtenu un résultat non-conforme pour l'échantillon 2.

« détection de STEC » :

A l'étape de screening, le laboratoire 17 a un résultat faux-positif pour le gène de virulence *stx* 2 de l'échantillon 4 et les laboratoires 5 et 15 ont un résultat faux-positif pour le gène de virulence *stx*2 de l'échantillon 6. A l'étape d'isolement, le laboratoire 5 a également un résultat faux-négatif pour le gènes de virulence *eae* et pour le gène du sérotype O157 de l'échantillon 5.

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 16 mai 2019. Le rapport final est envoyé le 28 juin 2019 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « détection » sera organisé en mars – avril 2020.

## CONTACT

Marie Polet • [marie.polet@sciensano.be](mailto:marie.polet@sciensano.be) • T +32 2 642 50 86

### PLUS D'INFORMATIONS

Rendez-vous sur notre page web  
[www.sciensano.be](http://www.sciensano.be) ou contactez-  
nous via [info@sciensano.be](mailto:info@sciensano.be)