

RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

PT 1 – 2017 DÉTECTION DE *E. COLI* PATHOGÈNE ET *E. COLI* O157:H7 DANS LE LAIT CRU

MARS 2017

Ce rapport est distribué par l'ISP exclusivement aux participants de cet essai d'aptitude. L'ISP 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.

Section: Pathogènes alimentaires

Auteur : M. Polet

Responsable scientifique : M. Polet

Responsable technique : W. Boukhouchi

Approbation scientifique : N. Botteldoorn

Rue J. Wytsman 14

1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be



Cet essai d'aptitude portait sur la détection de *E. coli* O157 :H7 et la détection des *E. coli* productrices de shiga-toxines (STEC) dans une matrice alimentaire naturellement contaminée en flore mésophile. Cette année, la matrice choisie était le lait cru.

Cette étude 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.

1. Déroulement de l'étude

mardi 21 mars 2017	<ul style="list-style-type: none">• préparation et inoculation des échantillons• transport des colis par un chauffeur de l'ISP vers les 2 centres de dispatching (Melle et Gembloux)
mercredi 22 mars 2017	les laboratoires débutent les analyses
vendredi 31 mars 2017	date limite pour la soumission des résultats
lundi 8 mai 2017	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
lundi 7 juillet 2017	rapport final envoyé aux laboratoires par l'ISP

Chaque colis contenait :

- 4 tubes (1, 2, 3, 4) contenant chacun 25 ml de lait pour les laboratoires effectuant la détection de *E. coli* O157 :H7
- 4 tubes supplémentaires (5, 6, 7, 8) contenant chacun 25ml de lait pour les laboratoires effectuant la détection (et isolement) de STEC
- un traceur de température pour la plupart des laboratoires
- un bloc réfrigérant
- les instructions



10 laboratoires se sont inscrits à l'essai

9 laboratoires ont effectué la détection de *E. coli* O157:H7.

6 laboratoires ont effectué la détection (et éventuellement l'isolement) de STEC.

ISP	Bruxelles
QUALITY PARTNER	Herstal
EUROFINS	Bruges
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
LFSAGx	Gembloux
SGS	Antwerpen
FLVVM	Melle
HVS	Mons
ILVO-VOEDING	Melle
NVWA	Wageningen

2. Matériel et méthode de contamination

Matériel

- Souches utilisées : *E. coli* O157 : H7 non pathogène (*stx* 1 – *stx* 2 – *eae* +) - TIAC 1184, *E. coli* O157:H7 pathogène (*stx*1 + *stx*2 + *eae* +) TIAC 777, *E. coli* O26 pathogène (*stx*1 + *stx*2 – *eae*+) - TIAC 1201
- 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



Méthode de contamination

Echantillon 1

25 ml lait cru + 100 µl de *E. coli* O157:H7 pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 2

25 ml lait cru + 100 µl de *E. coli* O157:H7 non pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 3

25 ml lait cru

Echantillon 4

25 ml lait cru

Echantillon 5

25 ml lait cru + 100 µl de *E. coli* O157:H7 pathogène (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 6

25 ml lait cru

Echantillon 7

25 ml lait cru + 100 µl de *E. coli* O26 (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 8

25 ml lait UHT

3. Niveau de contamination

Pour déterminer le niveau de l'inoculum et déterminer la déviation de l'inoculum, les dilutions ont été dénombrées en triple sur une gélose nutritive non sélective.



Rapport final PT 1 - 2017 Détection lait cru | LNR Microbiologie alimentaire |

L'échantillon 1 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 à un niveau de 51 – 97 cfu/25 ml.

L'échantillon 2 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 à un niveau de 76 – 94 cfu/25 ml.

Les échantillons 3 et 4 n'ont pas été contaminés.

L'échantillon 5 a été contaminé avec *E. coli* O157:H7 pathogène à un niveau de 51 – 97 cfu/25 ml.

L'échantillon 6 n' pas été contaminé.

L'échantillon 7 a été contaminé avec *E. coli* O26 pathogène à un niveau de 52 – 64 cfu/25 ml.

L'échantillon 8 n'a pas été contaminé.

4. Procédure d'analyse

L'analyse démarre directement à partir du tube dans lequel se trouve la matrice. Les laboratoires participant uniquement à la détection de *E. coli* O157:H7 reçoivent les tubes numérotés de 1 à 4. Les laboratoires qui en plus participent à la détection (et isolement) de STEC reçoivent trois tubes supplémentaires numérotés 5, 6, 7 et 8.

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 22 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).

Les échantillons étaient stables.



6. Résultats des laboratoires

Résultats attendus

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

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

Echantillons 3 et 4: absence de *E. coli* O157:H7

Echantillon 5 : présence de STEC possédant le gène *eae*

Echantillon 6 : absence de STEC

Echantillon 7 : présence de STEC possédant le gène *eae*

Echantillon 8: absence de STEC

Résultats des laboratoires

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

 : résultat non conforme



échantillon	STEC screening															
	5				6				7				8			
	eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe			
n° labo																
2	+	+	+	O157	-	-	-	OND	+	+	-	O26	-	-	-	OND
4	+	+	+	/	+	+	+	/	+	+	-	/	+	+	-	/
10	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	+	O26	-	-	-	/
17	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	O26	-	-	-	/
21	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	/	-	-	-	/
31	/	+	+	/	-	-	-	/	/	+	-	/	-	-	-	/

échantillon	STEC isolement															
	5				6				7				8			
	eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe				eae stx1 stx2 sérogruppe			
n° labo																
2	+	+	+	O157	-	-	-	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
4	+	+	+	O157	+	+	+	O157	+	+	-	O26	+	+	-	O26
10	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	+	O26	/	/	/	/
17	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
21	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/
31	+	+	+	O157	/	/	/	/	+	+	-	O26	/	/	/	/

+ : détection / : non réalisé
 - : non détection ... : résultat non conforme
 OND : sérogruppe non déterminé

échantillon	STEC conclusion	
	5	6
n° labo		
2	Présence de STEC possédant le gène eae	Absence de STEC
4	Présence de STEC possédant le gène eae	Présence de STEC possédant le gène eae
10	Présence de STEC possédant le gène eae	Absence de STEC
17	Présence de STEC possédant le gène eae	Absence de STEC
21	Présence de STEC possédant le gène eae	Absence de STEC
31	Présence de STEC possédant le gène eae	Absence de STEC

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



7. Discussion et conclusion

« détection de *E. coli* O157:H7 » :

Le laboratoire 10 a obtenu un résultat faux-négatif pour l'échantillon 1. Le résultat de l'échantillon 2 est par contre correct alors que le taux de contamination est identique.

Le laboratoire 17 a obtenu un résultat faux-négatif pour l'échantillon 2. Il utilise une méthode qui permet de détecter les *E. coli* pathogènes et a rendu son résultat selon cette méthode, malgré que l'essai d'aptitude porte sur la détection de *E. coli* O157:H7 (pathogène ou non) spécifiquement.

Le laboratoire 28 a obtenu un faux-négatif pour l'échantillon 1. Le résultat de l'échantillon 2 est par contre correct alors que le taux de contamination est identique.

Il n'y a aucun résultat faux-positif pour les échantillons 3 et 4.

« détection de STEC » :

Le laboratoire 4 a des résultats faux-positif pour les gènes de virulences *stx* 1, *stx* 2, *eae* lors de l'étape de screening de la détection pour l'échantillon 6. Il a aussi des résultats faux-positif pour les gènes de virulence *stx* 1, *stx* 2, *eae* et pour le sérotype O157 lors de l'étape d'isolement de la détection du même échantillon. Aussi, pour l'échantillon 8, ce même laboratoire a des résultats faux-positif pour les gènes de virulence *eae* et *stx* 1 lors de l'étape de screening de la détection et a des résultats faux-positif pour les gènes de virulence *stx* 1, *stx* 2, *eae* et pour le sérotype O26 lors de l'étape d'isolement de la détection.

Le laboratoire 10 a un résultat faux-positif pour le gène de virulence *stx* 2 lors de l'étape de screening et d'isolement de la détection pour l'échantillon 6. Dans ce cas-ci, la cause de ce résultat non conforme est claire : le kit commercial utilisé ne distingue pas *stx*1/*stx*2 dans le résultat. Le laboratoire a donc rendu le même résultat



Rapport final PT 1 - 2017 Détection lait cru | LNR Microbiologie alimentaire |
pour les deux gènes de virulence. Mais cela n'a pas d'incidence sur l'expression des résultats.

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

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 8 mai 2017. Le rapport final est envoyé le 17 juillet 2017 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « détection » sera organisé en mars – avril 2018.