

RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

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

MARS 2014

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

www.wiv-isp.be



Cet essai d'aptitude 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 des *E. coli* productrices de shiga-toxines (STEC) sur des swabs de carcasses.

1. Déroulement de l'étude

mardi 18 mars 2014	. 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 19 mars 2014	laboratoires débutent les analyses pour <i>E. coli</i> O157 :H7 (et STEC)
lundi 31 mars 2014	date limite pour la soumission des résultats
vendredi 25 avril 2014	rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par l'ISP
jeudi 26 juin 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
- 3 sacs stomachers supplémentaires (4, 5 et 6) pour les laboratoires effectuant la détection (et isolement) de STEC
- un traceur de température (pour quelques laboratoires)
- un bloc réfrigérant
- les instructions



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

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

5 laboratoires ont effectué la détection de STEC.

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

ILVO – VOEDING	Melle
ISP	Bruxelles
QUALITY PARTNER	Herstal
EUROFINS	Bruges
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
LFSAGx	Gembloux
SGS	Antwerpen
FLVVM	Melle

2. Matériel et méthode de contamination des swabs

Matériel

- Souches utilisées : *Yersinia enterocolitica* LMG 15558, *E. coli* O157 : H7 non pathogène (sorbitol – , *stx* – , *eae* + , *hly* +), *E. coli* O111 (*eae* + *stx1* – *stx2* –) provenant du Laboratoire européen de référence, *E. coli* O103 (*eae* + *stx1* – *stx2* +) provenant du Laboratoire européen de référence
- BHI de *Y. enterocolitica*, densité optique (DO) = 1,047 dilué jusqu'à la dilution 10^{-4} et 10^{-5} dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O157:H7, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10^{-6} dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O111, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10^{-6} dans de l'eau peptonée tamponnée



Rapport final essai d'aptitude swabs carcasses 2014 | LNR Microbiologie alimentaire |

- BHI de *E. coli* O103, DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10^{-6} dans de l'eau peptonée tamponnée
- 25 g de viande hâchée + 225 ml d'eau peptonée tamponnée → stomacher 1 minute → liquide = extrait de viande.
- 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 *Y. enterocolitica* (dilution 10^{-5})

Swab 3a et swab 3b

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O157 : H7 (dilution 10^{-6})

Swab 4

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O103 (dilution 10^{-6})

Swab 5

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande

Swab 6

Coton démaquillant + 5 ml de l'extrait de viande + 100 µl de *E. coli* O111 (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 3576 ± 278 ufc (3298 – 3854) de *Y. enterocolitica*

Les swabs 2a et 2b ont été contaminés avec 358 ± 28 ufc (330 – 386) de *Y. enterocolitica*

Les swabs 3a et 3b ont été contaminés avec 26 ± 2 (24 – 28) ufc d'*E. coli* O157 : H7

Le swab 4 a été contaminé avec 33 ± 4 (29 – 37) ufc d'*E. coli* O103

Le swab 6 a été contaminé avec 41 ± 7 (34 – 48) ufc d'*E. coli* O111

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, trois sacs supplémentaires sont présents et numérotés 4, 5 et 6.

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 18 mars pour la détection de *Y. enterocolitica* et le 19 mars 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.

Y. enterocolitica a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 2a.

E. coli O157 : H7 a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 3b.

E. coli O103 (*eae* + *stx1* - *stx2* +) a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 4.

E. coli O111 (*eae* + *stx1* - *stx2* -) a été détecté sur les trois répétitions de l'échantillon 6.

6. Résultats des laboratoires

Résultats attendus

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

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

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

Echantillon 4: présence de STEC (*E. coli* O103 *eae* + *stx1* - *stx2* +)

Echantillon 5: absence de STEC

Echantillon 6: absence de STEC (*E. coli* O111 *eae* + *stx1* - *stx2* -)



Résultats des laboratoires

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

/ : non réalisé

... : résultat non conforme

échantillon	STEC screening											
	4				5				6			
	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe
n° labo												
2	-	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O111
4	+	-	+	/	-	-	-	/	+	-	-	/
5	+	+	+	O103 en O145	-	-	-	/	+	-	-	/
17	+	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O26 en O111
21	+	-	+	O103	-	-	-	/	+	-	-	O111

échantillon	STEC isolement											
	4				5				6			
	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe	<i>eae</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	sérogroupe
n° labo												
2	+	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/
4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
17	-	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/
21	+	-	+	O103	/	/	/	/	/	/	/	/

/ : non réalisé

... : résultat non conforme



7. Discussion et conclusions

Il y a une quantité élevée d'*Enterobacteriaceae* dans la matrice et qui poussent en grande quantité sur les milieux de détection de *Y. enterocolitica*. C'est pour cette raison que le LNR contamine les échantillons avec une quantité plus élevée de cette bactérie par rapport aux *E. coli* inoculées dans ces mêmes échantillons.

Le laboratoire 5 a eu un résultat faux-positif pour l'échantillon n°3.

Le laboratoire 28 a eu un résultat faux-négatif pour l'échantillon n°2.

Tous les laboratoires ont détecté *E. coli* O157 : H7 dans l'échantillon n°3.

En ce qui concerne la détection et l'isolement de STEC, tous les laboratoires effectuant l'analyse ont détecté (et isolé si réalisé) les STEC.

Par contre, le laboratoire n°5 a un résultat faux-positif pour la détection du gène *stx 1* dans l'échantillon 4 car la souche *E. coli* O103 utilisée ne porte pas ce gène de virulence. De plus, ce laboratoire a un résultat faux-positif pour la détection du sérotype O145 dans ce même échantillon.

Le laboratoire 17 a un résultat faux-positif pour la détection du sérotype O26 dans l'échantillon n°6. De plus ce laboratoire n'a pas détecté le gène de virulence *eae* dans l'échantillon 4 lors de l'isolement.

Au niveau de l'expression des résultats, le laboratoire 5 n'a pas exprimé un résultat conformément à la norme ISO/TS 13136.

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 25 avril 2014. Le rapport final est envoyé le 26 juin 2014 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « détection » sera organisé en mars – avril 2015.