

RAPPORT FINAL

ESSAI D'APTITUDE
PT 1 - 2020

DÉTECTION DE
E. COLI O157:H7, DE E. COLI STEC
ET DE Y. ENTEROCOLITICA
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 2020 • Ixelles • Belgique



RESPONSABLE SCIENTIFIQUE: MARIE POLET



RESPONSABLE TECHNIQUE: DONIA BACCARI



APPROBATION SCIENTIFIQUE: KOENRAAD VAN HOORDE



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

Précision concernant les STEC : après concertation avec l'AFSCA, le laboratoire participant est désormais uniquement évalué selon sa conformité à la détection/non-détection des gènes de virulence *stx* (confondus) et *eae*.

1. DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE

Mardi 16 juin 2020	<ul style="list-style-type: none">- Préparation et inoculation des échantillons- Transport des échantillons vers les laboratoires
Mercredi 17 juin 2020	Début des analyses par les laboratoires
Lundi 29 juillet 2020	Date limite pour la soumission des résultats
Vendredi 17 juillet 2020	Rapport intermédiaire envoyé aux laboratoires par Sciensano
Donderdag 3 septembre 2020	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 bloc réfrigérant
- les instructions

12 laboratoires se sont inscrits à l'essai :

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

LABORATOIRE	LOCALISATION
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HAINAUT ANALYSES MONS	Mons
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SCIENSANO	Bruxelles
ILVO	Melle
BIOTOX	Jabbeke
LOVAP	Geel
NUTRILAB	Pays-Bas
POULPHARM	Izegem
SYNLAB	Pays-Bas

2. MATERIEL ET CONTAMINATION DES ECHANTILLONS

Matériel

- Souches utilisées : *E. coli* O157:H7 (*stx1* – ; *stx2* – *eae* +) TIAC 1184, *E. coli* O26 (*stx1* + *stx2* – *eae* +) TIAC 1221, *E. coli* O103 (*stx1* - *stx2* + *eae* +) TIAC 776
- BHI de *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae* +), DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁶ dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O26 (*stx1* + *stx2* – *eae* +), DO = 1 dilué jusqu'à la dilution 10⁻⁶ dans de l'eau peptonée tamponnée
- BHI de *E. coli* O103 (*stx1* – *stx2* + *eae* +), 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 10⁻³ dans de l'eau peptonée tamponnée
- 3, 6 ou 9 sacs stomacher contenant chacun 25 g de haché de porc et veau selon le type d'analyse à effectuer

Contamination

Echantillon 1

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae* +) (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 2

25 g de haché de porc et boeuf

Echantillon 3

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae* +) (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 4

25 g de haché de porc et boeuf

Echantillon 5

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *E. coli* O103 (*stx1* – *stx2* + *eae* +) (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 6

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *E. coli* O26 (*stx1* + *stx2* – *eae* +) (dilution 10⁻⁶)

Echantillon 7

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻³)

Echantillon 8

25 g de haché de porc et boeuf + 100 µl de *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻³)

Echantillon 9

25 g de haché de porc et boeuf

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 28 – 42 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 28 – 42 ufc/25 g.

L'échantillon 4 n'a pas été contaminé.

L'échantillon 5 a été contaminé avec *E. coli* O103 pathogène à un niveau de 3 – 5 ufc/25 g.

L'échantillon 6 a été contaminé avec *E. coli* O26 pathogène à un niveau de 18 – 32 ufc/25 g.

L'échantillon 7 a été contaminé avec *Y. enterocolitica* pathogène à un niveau de 16000 – 30000 ufc/25 g.

L'échantillon 8 a été contaminé avec *Y. enterocolitica* pathogène à un niveau de 16000 – 30000 ufc/25 g.

L'échantillon 9 n'a pas été contaminé.

4. PROCEDURE D'ANALYSE

Les laboratoires participants devaient démarrer les analyses le mercredi 17 juin 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 et/ou la détection *Y. enterocolitica* 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 d'homogénéité a été réalisé le 17 juin, jour du début des analyses pour les laboratoires participants. 3 sacs ont été analysés par type d'échantillon (1 à 9).

Les échantillons étaient homogènes pour *E. coli* O157:H7 et STEC. Par contre, malgré la détection au screening, *Y. enterocolitica* n'a pu être isolée dans un des trois sacs pour les échantillons 7 et 8. Cela peut s'expliquer par la forte présence de flore annexe sur les boîtes d'isolement, qui empêche la croissance de *Y. enterocolitica*.

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

L'absence des trois germes recherchés a été vérifiée sur un échantillon du lot de production, et vérifiée à nouveau lors des analyses d'homogénéité.

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* O103 *stx1* - *stx2* + *eae* +)

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

Echantillon 7: présence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 8: présence de *Y. enterocolitica*

Echantillon 9: absence de *Y. enterocolitica*

Résultats des laboratoires

+ : détection

- : non détection

/ : analyse non réalisée

 : résultat non conforme

 : résultat non attendu

OND : sérotype O non déterminé

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

échantillon	<i>Y. enterocolitica</i>		
	7	8	9
n° labo			
21	Déecté/25g	Déecté/25g	Non-déecté/25g
11	Déecté/25g	Déecté/25g	Non-déecté/25g
12	Non-déecté/25g	Déecté/25g	Non-déecté/25g
17	Déecté/25g	Déecté/25g	Non-déecté/25g

échantillon	STEC screening											
	4				5				6			
n° labo	stx1	stx2	eae	sérogroupe	stx1	stx2	eae	sérogroupe	stx1	stx2	eae	sérogroupe
2	-	-	-	OND	-	+	+	O103	+	-	+	O26
4	-	-	-	/	-	+	+	/	+	-	+	/
10	-	-	-	/	+	+	+	O103 - O145	+	+	+	O26
11	-	-	-	OND	-	+	+	O103	+	-	+	O26
12	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
15	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
17	-	-	-	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
21	-	-	-	/	-	+	+	/	+	-	+	/
35	-	-	-	OND	+	+	+	/	+	+	+	/
37	-	-	-	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26

échantillon	STEC isolement											
	4				5				6			
n° labo	stx1	stx2	eae	sérogroupe	stx1	stx2	eae	sérogroupe	stx1	stx2	eae	sérogroupe
2	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
4	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
10	/	/	/	/	+	+	+	O103	+	+	+	O26
11	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
15	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
17	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
21	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	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			
10	Non détection de STEC/25g				Détection présomptive de STEC possédant le gène eae/25g				Détection présomptive de STEC possédant le gène eae/25g			
11	Non détection de STEC/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g				Détection de STEC possédant le gène eae/25g			
12	Non détection de STEC/25g				Détection présomptive de STEC possédant le gène eae/25g				Détection présomptive 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	Non détection 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			
35	/				/				/			
37	Non détection de STEC/25g				Détection présomptive de STEC possédant le gène eae/25g				Détection présomptive de STEC possédant le gène eae/25g			

7. DISCUSSION ET CONCLUSION

« détection de *E. coli* O157:H7 » :

Tous les résultats sont conformes.

« détection de STEC » :

Les laboratoires 10, 12 et 15 informent Sciensano lors de la soumission des résultats que leur méthode ne permet pas de différencier *stx1* de *stx2*. Le laboratoire 35 n'a soumis aucune information à ce sujet.

« détection de *Y. enterocolitica* »

Au vu des résultats des tests d'homogénéité, le laboratoire 12 n'obtient pas un résultat non conforme pour l'échantillon 7 – *Y. enterocolitica*.

La forte présence de flore annexe sur les boîtes d'isolement préconisées par la méthode ISO empêche de contaminer les échantillons à un niveau bas.

Les résultats des essais d'aptitude sont encodés automatiquement par Sciensano via le logiciel PT-scheme dans la base de données de l'AFSCA.

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire en version électronique le 17 juillet 2020. Le rapport final est envoyé le 3 septembre 2020 en version électronique et envoyé par la poste sur demande.

Le prochain essai d'aptitude « détection » sera organisé en mars – avril 2021.

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 Myriam Sneyers, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique •