



EINDRAPPORT

PROFICIENCY TEST
PT 1 - 2020

DETECTIE
E.COLI O157:H7, E. COLI
STEC EN Y.
ENTEROCOLITICA
IN VLEES

WIE WE ZIJN

SCIENSANO telt meer dan 700 medewerkers die zich elke dag opnieuw inzetten voor ons motto: levenslang gezond. Zoals uit onze naam blijkt, vormen wetenschap en gezondheid de kern van ons bestaan. De kracht van Sciensano ligt in de holistische en multidisciplinaire benadering van gezondheid. Onze aandacht gaat daarbij uit naar het nauwe en onlosmakelijke verband tussen de gezondheid van mensen en die van dieren, en hun omgeving (het “One health” concept). Daarom combineren we meerdere invalshoeken in ons onderzoek om op een unieke manier bij te dragen aan ieders gezondheid.

Sciensano kan hiervoor verder bouwen op de meer dan 100 jaar wetenschappelijke expertise van het voormalige Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA) en het vroegere Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV).

Sciensano
Infectieziekten mens - Voedselpathogenen

juni 2020 • Elsene • België



WETENSCHAPPELIJK VERANTWOORDELIJKE: MARIE POLET



TECHNISCHE VERANTWOORDELIJKE: DONIA BACCARI



WETENSCHAPPELIJKE GOEDKEURING: KOENRAAD VAN HOORDE



Dit rapport wordt door Sciensano uitsluitend verdeeld aan de deelnemers van dit ringonderzoek. Sciensano is niet verantwoordelijk voor het gebruik van dit document door de houders ervan. De ontvangers van dit rapport zijn zelf verantwoordelijk voor het gebruik ervan.

Deze studie werd georganiseerd door het Nationaal Referentielaboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in samenwerking met het FAVV en was bedoeld voor de erkende laboratoria van het FAVV.

Deze interlaboratoriumstudie had betrekking op de detectie van *E. coli* O157:H7, shigatoxine producerende *E. coli* (STEC) en *Y. enterocolitica* in een voedingsmatrix natuurlijk gecontamineerd met mesofiele flora. Dit jaar werd als matrix runds-varkensgehakt gekozen.

Verduidelijking betreffende de STEC: na overleg met het FAVV, wordt het deelnemende laboratorium vanaf nu geëvalueerd volgens zijn conformiteit wat betreft de detectie of non-detectie van enkel de stx- en eae-virulentiegenen.

1. VERLOOP VAN DE STUDIE

Dinsdag 16 juni 2020	- bereiding en inoculatie van de stalen - transport van de pakketten naar de laboratoria
Woensdag 17 maart 2020	Start analyse door de laboratoria
Maandag 29 juli 2020	Limietdatum voor het doorsturen van resultaten
Vrijdag 17 juli 2020	Tussentijds rapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.
Donderdag 3 september 2020	Eindrapport verzonden naar de laboratoria door Sciensano.

Elk pakket bestemd voor de verschillende laboratoria bevatte:

- 3, 6 of 9 stalen (genummerd 1 tot 9) met elk 25 g gehakt, het aantal was afhankelijk van de analyses waarvoor het laboratorium zich registreerde
- een koelelement
- de instructies

12 laboratoria waren ingeschreven voor de proficiency test:

- 10 laboratoria hebben de detectie van *E. coli* O157:H7 uitgevoerd.
- 10 laboratoria hebben de detectie (en eventueel de isolatie) van STEC uitgevoerd.
- 5 laboratoria hebben de detectie van *Y. enterocolitica* uitgevoerd.

LABORATORIUM	LOCATIE
SERVACO FOOD CONTROL	Wetteren
HAINAUT ANALYSES MONS	Bergen
LFSAGx	Gembloux
QUALITY PARTNER	Herstal
FLVVM	Melle
SCIENSANO	Brussel
ILVO	Melle
BIOTOX	Jabbeke
LOVAP	Geel
NUTRILAB	Nederland
POULPHARM	Izegem
SYNLAB	Nederland

2. GEBRUIKT MATERIAAL EN ENTMETHODE VAN DE STALEN

Gebruikt materiaal :

- Gebruikte stammen: *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 met *E. coli* O157:H7 (*stx1 – stx2 – eae+*), OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met *E. coli* O26 (*stx1 + stx2 – eae +*), OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met *E. coli* O103 (*stx1 – stx2 + eae +*), OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-6} in gebufferd peptonwater
- BHI met *Y. enterocolitica*, OD = 1 verdund tot de verdunning 10^{-3} in gebufferd peptonwater
- 3 tot 6 stomacherzakken met elk 25 g kalfs-varkensgehakt, afhankelijk van de uit te voeren analyse. Het gehakt is afkomstig van hetzelfde productielot.

Entmethode

Staal 1

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae+*) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 2

25 g kalfs-varkensgehakt

Staal 3

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O157:H7 (*stx1* – *stx2* – *eae+*) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 4

25 g kalfs-varkensgehakt

Staal 5

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O103 (*stx1* – *stx2* + *eae* +) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 6

25 g klafs-varkensgehakt + 100 µl van *E. coli* O26 (*stx1* + *stx2* – *eae* +) (verduunning 10⁻⁶)

Staal 7

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻³)

Staal 8

25 g kalfs-varkensgehakt + 100 µl van *Y. enterocolitica* (dilution 10⁻³)

Staal 9

25 g kalfs-varkensgehakt

3. ENTINGSNIVEAU

Het entingsniveau werd bepaald door de verdunningen in drievoud uit te platen op niet-selectief nutrient agar.

Staal 1 was beënt met 28 – 42 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

Staal 2 was niet beënt.

Staal 3 was beënt met 28 – 42 kve/25 g *E. coli* O157:H7.

Staal 4 was niet beënt.

Staal 5 was beënt met 3 – 5 kve/25 g pathogene *E. coli* O103.

Staal 6 was beënt met 18 – 32 kve/25 g pathogene *E. coli* O26.

Staal 7 was beënt met 16000 – 30000 kve/25 g pathogene *Y. enterocolitica*.

Staal 8 was beënt met 16000 – 30000 kve/25 g pathogene *Y. enterocolitica*.

Staal 9 was niet beënt.

4. ANALYSEPROCEDURE

Op woensdag 17 juni startte de analyse rechtstreeks vanaf de stomacherzak waarin de matrix zich bevond. Volgens de inschrijving, ontvingen de laboratoria voor de detectie van *E. coli* O157:H7 stalen 1 tot 3, voor de detectie (en isolatie) van STEC stalen 4 tot 6 en voor de detectie van *Y. enterocolitica* stalen 7 tot 9.

Het laboratorium moest de stalen analyseren volgens de methode die wordt gebruikt voor de routinemonsters.

5. GEASSOCIEERDE ANALYSEN

Een homogeniteitstest werd op 17/06 uitgevoerd, de dag wanneer de laboratoria de analyses dienden te starten. Drie zakjes werden geanalyseerd per staaltype (1 tot 6).

De stalen waren homogeen voor *E. coli* O157:H7 en STEC. Echter, ondanks de detectie bij screening, kon *Y. enterocolitica* niet worden geïsoleerd in 1 van de 3 zakjes voor de stalen 7 en 8. Dit kan worden verklaard door de sterke aanwezigheid van nevenflora op de isolatieplaten, die de groei van *Y. enterocolitica* belemmeren.

Een telling van het totaal kiemgetal werd uitgevoerd op een niet-beënt staal. Het resultaat was $1,7 \cdot 10^5$ kve/g.

De afwezigheid van de drie op te sporen kiemen werd geverifieerd op één staal op de dag van beënting en nogmaals tijdens de homogeniteitstest.

6. PERFORMANTIE VAN DE LABORATORIA

Te verwachten resultaat:

Staal 1 : aanwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 2 : afwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 3 : aanwezigheid van *E. coli* O157:H7

Staal 4 : afwezigheid van STEC

Staal 5 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae* (*E. coli* O103 *stx1* - *stx2* + *eae* +)

Staal 6 : aanwezigheid van STEC drager van het gen *eae* (*E. coli* O26 *stx1* + *stx2* - *eae* +)

Staal 7 : aanwezigheid van *Y. enterocolitica*, inoculatie-niveau: 14300 – 29700 kve/25 g

Staal 8 : aanwezigheid van *Y. enterocolitica*, inoculatie-niveau

Staal 9 : afwezigheid van *Y. enterocolitica*

Resultaten van de laboratoria :

+ : gedetecteerd

- : niet-gedetecteerd

OND: serogroep niet bepaald

/ : niet deelgenomen aan deze analyse

....: resultaat niet conform

■ : niet verwacht resultaat

staal	E. coli O157: H7		
	1	2	3
n° labo			
2	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
4	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
10	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
12	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
21	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
23	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
35	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
36	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g
37	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g

staal	Y. enterocolitica		
	7	8	9
n° labo			
21	Gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g
11	Gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g
12	Niet-gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g
17	Gedetecteerd/25g	Gedetecteerd/25g	Niet-gedetecteerd/25g

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

staal	STEC isolatie											
	4				5				6			
n° labo	stx1	stx2	eae	serogroep	stx1	stx2	eae	serogroep	stx1	stx2	eae	serogroep
2	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
4	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
10	/	/	/	/	+	+	+	O103	+	+	+	O26
11	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
15	-	-	-	/	+	+	+	/	+	+	+	/
17	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26
21	/	/	/	/	-	+	+	O103	+	-	+	O26

staal	STEC conclusie											
	4				5				6			
n° labo												
2	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
4	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
10	Geen detectie van STEC/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
11	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
12	Geen detectie van STEC/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
15	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
17	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
21	Geen detectie van STEC/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Detectie van STEC drager van het gen eae/25g			
35	/				/				/			
37	Geen detectie van STEC/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g				Verdachte detectie van STEC drager van het gen eae/25g			

7. DISCUSSIE EN CONCLUSIE

“detectie *E. coli* O157 :H7”

Alle resultaten zijn conform.

“detectie STEC”

Laboratoria 10, 12 en 15 hebben Sciensano geïnformeerd bij het indienen van de resultaten dat de gebruikte methode niet toelaat om *stx1* van *stx2* te onderscheiden. Laboratorium 35 heeft hierover geen informatie gegeven.

“detectie *Y. enterocolitica*”

Op basis van de homogeniteitstesten, krijgt het laboratorium 12 geen niet conform resultaat voor staal 7 – *Y. enterocolitica*.

De sterke aanwezigheid van nevenflora op de isolatieplaten aanbevolen door de ISO-methode belemmeren het besmetten van de stalen op een laag niveau.

De resultaten van de ringonderzoeken worden door Sciensano automatisch overgebracht via de PT-schema software naar de databank van het FAVV.

Een preliminair verslag werd op 17 juli 2020 elektronisch naar de laboratoria verzonden. Het finaal verslag werd op 3 september 2020 elektronisch verzonden en is verkrijgbaar per post op aanvraag.

De volgende proficiency test « detectie » zal in maart-april 2021 georganiseerd worden.

CONTACT

Marie Polet • marie.polet@sciensano.be • T +32 2 6425086

MEER INFORMATIE

Afspraak op onze webpagina
www.sciensano.be of contacteer ons
via info@sciensano.be

Sciensano • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België • T +32 2 642 51 11 • T pers +32 2 642 54 20 • info@sciensano.be
• www.sciensano.be

Verantwoordelijke uitgever : Pierre Kerkhofs, Algemeen directeur • Juliette Wytsmanstraat 14 • 1050 Brussel • België