



FÖDERALAGENTUR FÜR DIE SICHERHEIT  
DER NAHRUNGSMITTELKETTE

**Laborverwaltung**

Mitteilung an die zugelassenen Laboratorien

FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE  
VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN

**Laboratories Administration**

Note intended for the approved laboratories

**Datum/Date: 05/08/2013**  
**DIENSTMITTEILUNG / OFFICE CIRCULAR**  
**Nr. / nr. KO/LABO/1097702**

**Betreff: Aufspürung von *Cronobacter sakazakii* in Milchpulver**

Die in der Verordnung EU 2073/2005/EG beschriebene Methode zur Aufspürung von *Cronobacter sakazakii* in Milchpulver ist die ISO/TS 22964.

Das empfohlene Medium zur Isolierung (ESIA-agar) und einige Bestätigungstests ermöglichen es jedoch nicht *Cronobacter sakazakii* und *Cronobacter malonicus* zu unterscheiden. In diesem Kontext hat das nationale Referenzlabor für Lebensmittelmicrobiologie während einer Studie überprüft, welche kommerziellen Medien zur Isolierung und welche Bestätigungstests es ermöglichen diese Unterscheidung zu machen.

Parallel zu ESIA agar kann ein zweites Medium zur Isolierung wahlweise benutzt werden:

- ChromAgar *E. sakazakii* (Biotrading) – Medium in Pulverform: die zwei Stämme stellen blaue Kolonien dar. Das Blau der Kolonien *Cronobacter sakazakii* ist weniger intensiv als das der Kolonien *Cronobacter malonicus*.
- Rapid Sakazakii agar (Biorad) – gebrauchsfertiges Medium: *Cronobacter sakazakii* stellt grün-graue Kolonien dar. *Cronobacter malonicus* weist rosé-

**Subject : Detection of *Cronobacter sakazakii* in dried milk**

The method laid down in the UE regulation 2073/2005/EC for the detection of *Cronobacter sakazakii* in dried milk is the ISO/TS 22964 method.

Yet the prescribed isolation medium (ESIA-agar) and some confirmation tests do not enable to differentiate *Cronobacter sakazakii* from *Cronobacter malonicus*. In this context, the National Reference Laboratory for Food Microbiology has verified in a study which commercial isolation media and confirmation tests do enable to differentiate those two strains.

Besides the ESIA agar, a second isolation medium can be chosen between :

- ChromAgar *E. sakazakii* (Biotrading) – powder: both strains show blue colonies. The *Cronobacter sakazakii* colonies are less intense than the *Cronobacter malonicus* colonies.
- Rapid Sakazakii agar (Biorad) – ready to use: *Cronobacter sakazakii* show green-grey colonies. *Cronobacter malonicus*

farbige Kolonien auf.

Für die Bestätigungstests empfehlen wir folgende Tests (ausschließlich für visuelles Ablesen):

- Rapid ID32 E: **visuelles** Ablesen, Unterschiede werden für folgende Tests beobachtet: MNT (Test malonate de sodium), PLE (palatinose), ONAG ( $\beta$ -D-glucosaminide). Die MNT und ONAG Tests sind positiv für *Cronobacter malonaticus* und negativ für *Cronobacter sakazakii* und umgekehrt für den PLE Test.
- API 20E: Beim **visuellen Ablesen** werden Unterschiede für folgende Tests beobachtet: VP (Voges Proskauer), INO (Inositol). Diese Tests sind negativ für *Cronobacter malonaticus* und positiv für *Cronobacter sakazakii*

Chrystal ID unterscheidet nicht *Cronobacter malonaticus* von *Cronobacter sakazakii*.

Die Labore werden dazu aufgefordert diese Empfehlungen in ihrer Methode anzuwenden.

are pink coloured.

The following tests are recommended as confirmation tests (on visual reading only):

- Rapid ID32 E: on **visual** reading, differences can be observed with following tests: MNT (sodium malonate test), PLE (palatinose), ONAG ( $\beta$ -D-glucosaminide). The MNT and ONAG tests are positive for *Cronobacter malonaticus* and negative for *Cronobacter sakazakii*, and the opposite for the PLE test.
- API 20E: on **visual** reading, differences can be observed with following tests: VP (Voges Proskauer), INO (Inositol). These tests are negative for *Cronobacter malonaticus* and positive for *Cronobacter sakazakii*

Crystal ID does not differentiate between *Cronobacter malonaticus* and *Cronobacter sakazakii*.

We ask the laboratories to implement these recommendations in their method.

Generaldirektor

Director general

ir. Geert De Poorter (unterz./sgd)