



AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE
LA CHAINE ALIMENTAIRE

FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE
VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN

Administration des laboratoires

Bestuur Laboratoria

Note aux Laboratoires Agréés

Nota aan de erkende laboratoria

Date/datum : 05/08/2013
NOTE DE SERVICE / DIENSTNOTA
n° / nr. KO/LABO/1097702

**Objet : Recherche de *Cronobacter sakazakii*
dans la poudre de lait**

**Onderwerp: *Detectie van Cronobacter
sakazakii* in melkpoeder**

La méthode décrite dans le règlement EU 2073/2005/CE pour la détection de *Cronobacter sakazakii* dans la poudre de lait est l'ISO/TS 22964.

Le milieu d'isolement préconisé (ESIA-agar) et certains tests de confirmation ne permettent cependant pas de distinguer *Cronobacter sakazakii* et *Cronobacter malonaticus*. Dans ce contexte, le laboratoire National de Référence en Microbiologie Alimentaire a vérifié lors d'une étude quels milieux d'isolement commerciaux et tests de confirmation permettent de faire cette distinction.

En parallèle de l'ESIA agar, un deuxième milieu d'isolement peut être utilisé au choix :

- ChromAgar *E. sakazakii* (Biotrading) – milieu en poudre: les deux souches présentent des colonies bleues. Le bleu des colonies *Cronobacter sakazakii* est moins soutenu que celui des colonies *Cronobacter malonaticus*.
- Rapid Sakazakii agar (Biorad) – milieu prêt-à-l'emploi: *Cronobacter sakazakii* présente des colonies vertes-grises. *Cronobacter malonaticus* présente une coloration rosée.

De in de verordening 2073/2005/EG voorgeschreven methode voor de *Cronobacter sakazakii* in melkpoeder is de ISO/TS 22964. Het voorgeschreven isolatiemedium ESIA-agar en bepaalde bevestigingstesten laten echter niet toe een onderscheid te maken tussen *Cronobacter sakazakii* en *Cronobacter malonaticus*. In dit kader heeft het Nationale referentielaboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie in een studie nagegaan welke commerciële isolatiemedia en bevestigingstesten dit onderscheid wel maken.

Als een tweede isolatiemedium naast de ESIA-agar is er de keuze uit:

- ChromAgar *E. sakazakii* (Biotrading) - poeder: de beide stammen vormen blauwe kolonies. *Cronobacter sakazakii* kolonies zijn minder intens dan *Cronobacter malonaticus* kolonies.
- Rapid Sakazakii agar (Biorad) – ready-to-use: *Cronobacter sakazakii* vormen groen-grijze kolonies. *Cronobacter malonaticus* vertonen een roze verkleuring.

Pour les tests de confirmation, on recommande les tests suivants (en lecture visuelle uniquement):

- Rapid ID32 E: à la lecture **visuelle**, des différences sont observées pour les tests suivants: MNT (test malonate de sodium), PLE (palatinose), ONAG (β -D-glucosaminide). Les tests MNT et ONAG sont positifs pour *Cronobacter malonaticus* et négatifs pour *Cronobacter sakazakii* et inversement pour le test PLE.
- API 20E: A la lecture **visuelle**, des différences sont observées pour les tests suivants: VP (Voges Proskauer), INO (Inositol). Les tests sont négatifs pour *Cronobacter malonaticus* et positifs pour *Cronobacter sakazakii*

Crystal ID ne fait pas de distinction entre *Cronobacter malonaticus* et *Cronobacter sakazakii*.

Il est demandé aux laboratoires d'implémenter ces recommandations dans leur méthode.

Als bevestigingstesten worden de volgende testen aanbevolen (enkel via visuele aflezing):

- Rapid ID32 E: bij **visuele** aflezing zijn er verschillen te zien bij de volgende testen: MNT (Natriummalonaat-test), PLE (palatinose), ONAG (β -D-glucosaminide). De MNT en ONAG testen zijn positief voor *Cronobacter malonaticus* en negatief voor *Cronobacter sakazakii* en het omgekeerd voor de PLE test.
- API 20E: bij **visuele** aflezing zijn er verschillen te zien bij de volgende testen: VP (Voges Proskauer), INO (Inositol). Deze testen zijn negatief voor *Cronobacter malonaticus* en positief voor *Cronobacter sakazakii*

Crystal ID maakt geen onderscheid tussen *Cronobacter malonaticus* en *Cronobacter sakazakii*.

Aan de laboratoria wordt gevraagd deze aanbevelingen te implementeren in hun methode.

Directeur général

Directeur-generaal

ir. Geert De Poorter (sé/get.)