



Bacteriologische normen voor de beoordeling van consumptiemelk

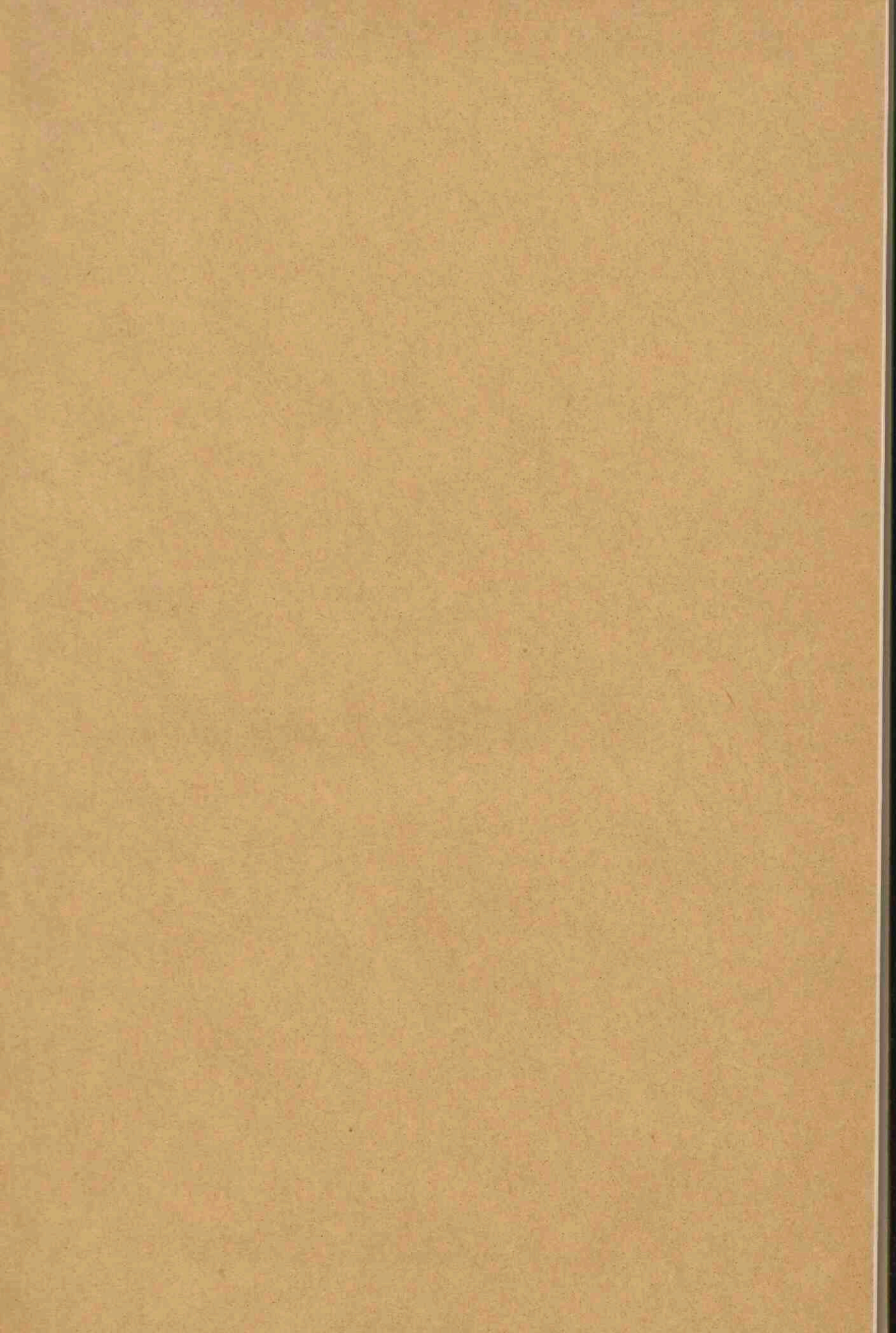
<https://hdl.handle.net/1874/319432>

49m. 192, 1934.

**BACTERIOLOGISCHE NORMEN
VOOR DE BEOORDEELING VAN
CONSUMPTIEMELK**

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

W. H. F. C. MAJOEWSKIJ



BACTERIOLOGISCHE NORMEN
VOOR DE BEOORDEELING VAN
CONSUMPTIEMELK

PROEFSCHRIFT

BACTERIOLOGISCHE NORMEN VOOR DE
BEOORDEELING VAN CONSUMPTIEMELK

Diss. Utrecht 1934

BACTERIOLOGISCHE NORMEN VOOR DE BEOORDEELING VAN CONSUMPTIEMELK

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. H. BOLKESTEIN, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP **VRIJDAG 30 NOVEMBER 1934**, DES
NAMIDDAGS TE 4 UUR, DOOR

WILHELM HEINRICH FRIEDRICH CHRISTIAAN MAJOEWSKIJ

GEBOREN TE ENSCHEDE

1934

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS, UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

*Aan mijn ouders.
Aan mijn vrouw.
Aan mijn kinderen.*

Bij het voltooiën van dit proefschrift voel ik mij gedrongen aan U, Hoogleraren aan de Faculteit der Veeartsenijkunde mijne erkentelijkheid te betuigen voor het aandeel, dat Gij hebt gehad aan mijne wetenschappelijke vorming.

In het bijzonder naar U, Hooggeleerde VAN OYEN, hooggeachte promotor, gaat mijn groote dank uit, zoowel voor den raad en den steun, die ik bij de behandeling van dit onderwerp steeds van U mocht ondervinden, als zeer speciaal voor de prettige wijze, waarop Gij mij deze geschonken hebt. De verdieping van mijn gevoel voor zelfkritiek, die Gij mij hebt gegeven, zal voor mijn geheele verdere leven van groote waarde zijn.

Ook U, Zeergeleerde HESSELINK, ben ik grooten dank verschuldigd voor de wijze, waarop Gij mij in de gelegenheid hebt gesteld, dit einddoel mijner academische opleiding te bereiken, en voor de belangstelling, die Gij mij steeds hebt betoond.

Van het personeel van den Keuringsdienst van Waren dank ik in het bijzonder de Heeren HOEGEN, HUIZER en WANNET, zonder wier toegewijde technische hulp het mij niet mogelijk zou zijn geweest, het omvangrijke materiaal te bewerken.

Tenslotte dank ik de talloos velen, van wie ik alleen den Heer PENNING, directeur der CAMIZ noemen wil, die mij op eenigerlei wijze bij mijn onderzoek hunne medewerking hebben verleend.

INHOUD

Eerste Afdeeling

HOOFDSTUK	Bladz.
I. Inleiding	1
II. Eischen te stellen aan een methode ter bepaling der bacteriologische zuiverheid der melk	5
III. Literatuur	11
A. Wat moeten wij verstaan onder het begrip „colibacil” bij de beoordeeling der consumptiemelk	11
B. De coliachtigen in melk	20
1. Komen coliachtigen in alle melk voor?	21
2. In welke mate komen de coliachtigen in melk voor?	22
3. Welken invloed hebben de diverse factoren, die bij de winning en behandeling een rol spelen op het colicijfer der melk?	25
4. De invloed van de coliachtigen op de kwaliteit der melk	27
C. Heeft het zin eventueele variteiten van <i>B. coli</i> uiteen te houden?	29
a. uit een oogpunt van volksgezondheid	
b. om fouten, bij de melkwinning begaan in het oog te doen vallen, en zijn deze variteiten gemakkelijk te herkennen?	
Bespreking der methoden om faecale en niet faecale coli uiteen te houden	30
1. De glucosevergisting bij 45 à 46° C.	30
2. Het gedrag in saccharose- en dulciethoudend milieu	30
3. De verhouding in het in glucose-bouillon gevormde gas van CO ₂ tot H ₂	32
4. De eind-pH bij de vergisting van glucose en het gedrag t.o.v. methylrood	34
5. De vorming in glucose-peptonhoudend milieu van acetyl-methyl-carbinol, en de reactie hierop volgens <i>Voges-Proskauer</i>	35
6. Het kweken in synthetische milieu's	36
7. De eigenschappen van coli-achtigen van bekende herkomst	37
Bespreking der variteiten van coli-achtigen in melk gevonden, en van hun beteekenis voor de volksgezondheid en de melkhygiëne	42

	Bladz.
D. Op welke wijze zijn de coli-achtigen in melk aan te toonen?	42
1. Algemeene principes	42
2. Nadere bespreking der diverse methoden om coli-achtigen in melk aan te toonen	44
A. De ophoopingsmethoden	44
a. Kweeken in 1 ⁰ / ₁₀₀ carbolzuur-houdend milieu	44
b. Kweeken in zuren bouillon bij 37° C.	44
B. De selectieve plaatmethoden	45
C. De industrieele methoden	46
a. methoden die berusten op de indolvorming in pepton-houdend milieu	46
b. Methoden die berusten op de veranderingen in neutraalroodmilieu	48
c. Methoden die berusten op het kweeken in lactosebouillon of lactose-peptonwater met of zonder toevoeging van indicatoren en/of remmende stoffen	49

Tweede Afdeeling

IV. Het eigen Onderzoek	53
-----------------------------------	----

EERSTE DEEL

Een onderlinge vergelijking der gebruikte bodems op hun gevoeligheid en betrouwbaarheid, met volledige identificatie, zoo mogelijk der geïsoleerde kiemen	54
Techniek van dit onderzoek	54
A. Gebruikte voedingsbodems, hun samenstelling, bereiding en beoordeeling	54
B. Het enten van de melk op deze bodems	57
C. Verdere bewerkingen	58
D. Identificatie der gevonden kiemen	61
Tabellen	64
Samenvatting van de resultaten, verkregen bij het eerste deel van het eigen onderzoek	104
Voorloopige conclusies	116

TWEEDE DEEL

Een nader onderzoek over een grooter aantal monsters melk, om na te gaan, of bij toepassing der beide voorloopig als de beste erkende methoden de aanvankelijk geconstateerde betrouwbaarheid en gevoeligheid behouden blijven	118
Inleiding en algemeene beschouwingen	118

Tabellen	122
Samenvatting van het tweede deel van het onderzoek	132
Conclusies	136

DERDE DEEL

Inleiding en algemeene beschouwingen	137
Techniek van het onderzoek	140
I. De bemonstering	140
II. De wijze van onderzoek der monsters	141
De reductaseproef	142
De gistingproef	146
Het onderzoek op <i>B. coli</i>	148
De bepaling van het totaalkiemcijfer der melk	152
De reactie van <i>Storch</i>	154
Het onderzoek van het sediment	155
Onderzoek der gepasteuriseerde tankmelk	155
Invloed van naspoeling van het vaatwerk enz. met chloorbleek- loogoplossing	156
Tabellen en bespreking van de resultaten van het onderzoek bij de verschillenden bedrijven verkregen	160
Onregelmatigheden bij de bepaling van den colititer	221
Hooge colititers	222
Vergelijking van de resultaten der reductaseproef met het kiem- cijfer en den colititer	223
De resultaten der gistingproef	225
V. Conclusies	227
VI. Omschrijving van de bacteriologische controle der melk, ter handhaving van de sub. IV en V der conclusies onder C. gestelde grondslagen	229
Geraadpleegde Literatuur	231
Stellingen	237

EERSTE AFDEELING

HOOFDSTUK I

INLEIDING

De taak der overheid met betrekking tot de melkvoorziening is zéér veelzijdig. Niet alleen dient zij er voor te zorgen, dat de verhandelde consumptiemelk voldoet aan bepaalde minimumeischen voor zoover betreft chemische samenstelling en reinheid, maar tevens, dat zij vrij is van mensch-pathogene, en zooveel mogelijk vrij van saprophitische kiemen (in verband met hare houdbaarheid), en verder, dat zij in diëtetisch opzicht (vitaminengehalte enz.) voldoende is.

Bezien wij nu de voorschriften op het gebied der melkvoorziening neergelegd in het Melkbesluit (Stbld. 43—1929) met de sindsdien verschenen aanvullingen en wijzigingen, dan valt allereerst op, dat aan punt één, de chemische samenstelling en reinheid, zeer voldoende aandacht is geschonken. In de practijk blijkt dan ook dat de consumptiemelk, dank zij de eischen gesteld bij art. 2 van het Melkbesluit, in dit opzicht, vergeleken met tien of twintig jaren geleden, sterk in qualiteit is vooruitgegaan. Fraude in den vorm van watertoevoeging of ontrooming enz., die vroeger in bepaalde streken regel was, soms zelfs door onverstandige overheidsmaatregelen (ik noem bijv. het toestaan van den verkoop van z.g.n. verdunde melk in Amsterdam) bevorderd werd, is gelukkig tot de uitzonderingen gaan behooren. Ook het aantal gevallen van ergerlijke vervuiling is zéér veel minder geworden.

Punt twee echter, de hygiënische en bacteriologische hoedanigheid der melk, is min of meer stiefmoederlijk behandeld. Weliswaar geeft art. 24 een aantal voorschriften voor de wijze, waarop winning

en bewaring enz. door den veehouder moeten plaats hebben, en wordt in art. 25 o.a. bepaald, dat geen melk mag worden afgeleverd of verkocht, die afkomstig is van dieren lijdende aan met name genoemde ziekten (open tuberculose, uierontsteking, fluor albus, darmontsteking met diarrhee gepaard gaande, enz.), maar de contrôlemiddelen op deze voorschriften of op de winning enz. worden nergens omschreven.

Slechts geeft art. 2 aan, dat de zuurgraad der melk niet hooger mag zijn dan 9° S.H., dat er bij het filtreeren van een halven liter of minder geen of slechts geringe sporen vuil mogen worden afgezet, dat streptococcen niet in belangrijke mate in het sediment mogen voorkomen, terwijl pathogene micro-organismen in het geheel niet aanwezig mogen zijn, maar deze voorschriften zijn zóó algemeen, ruim, en ten deele zóó negatief gesteld, dat zij met elkaar er zeer zeker geen aanspraak op kunnen maken een genoegzamen waarborg te geven voor de hygiënische en bacteriologische betrouwbaarheid der melk.

Een uitzondering hierop maken tot op zekere hoogte de in andere artikelen van het M.B. genoemde voorschriften omtrent melk, die als gepasteuriseerde, gesteriliseerde of als kindermelk wordt verkocht, waarbij meer nauwkeurig omschreven eischen aan de bacteriologische hoedanigheid zijn gesteld.

Toch is de bepaling van deze bacteriologische hoedanigheid óók voor de consumptiemelk van zéér veel belang. In het voorwoord van de dissertatie van *L. Camus* wijst *Porcher* op het volstrekt onvoldoende zijn van een uitsluitend chemische melkcontrôle. Deze heeft toch nog nooit alle bezwaren der in hygiënisch opzicht slechte melk kunnen ondervangen.

Porcher vat zijn oordeel ongeveer samen in de stelling, dat het beoordeelen der melk uitsluitend naar haar chemische samenstelling is „*un veritable sophisme*”. De eenige definitie van „goede melk”, die steek houdt, is volgens P.: „*Le lait pur est un lait sain et propre*”.

Porcher veronderstelt dat deze te verkrijgen is in eenvoudige stallen, waar de eenige luxe is een doelmatige behandeling, die langzamerhand geleerd moet worden. Hij wenscht hierop contrôle in den vorm van eenvoudige „*tests*”, die tegelijk een waarborg vormen voor de hygiënische betrouwbaarheid der melk.

In gelijken zin ongeveer uit zich *Neisser*. Deze schrijver wijst er op dat de tegenwoordige consumptiemelk in doorsnee in hygiënisch opzicht absoluut onbetrouwbaar is, en dus gekookt moet worden; dat echter zoowel in openbare verkoopplaatsen als in de huishouding door verschillende omstandigheden dit koken dikwijls onvoldoende geschiedt, zoodat het de taak der overheid is, hier preventief werkende voorschriften te geven. *Neisser* komt tot de conclusie, dat de overheid pas dán aan deze taak heeft voldaan, wanneer zij zorgt dat uitsluitend prima melk zóódanig behandeld en gedistribueerd wordt, dat de eventueele schadelijke eigenschappen geëlimineerd, en de goede zooveel mogelijk behouden zijn; dat verder herinfectie wordt uitgesloten, en dus nogmaals koken achterwege kan blijven.

N. bepleit voor de groote massa der consumptiemelk Dauerpasteurisatie en distributie in de flesch, en stelt voor, als waarmede voor de qualiteit dezer melk o.a. „coli- en bacterietiters” vast te stellen.

Terzake der pasteurisatie wenscht hij een uitzondering te maken voor de „Milch welche Selbstversorger gewinnen, oder die diejenigen erhalten, die wirklich noch Beziehungen zu einwandfreien Milchquellen besitzen”. Hij vervolgt zijn betoog aldus „Und es musz die Trinkmilch als hygienische Norm genommen werden, trotzdem wir wissen, dasz im Haushalt die Kochmilch die grössere Rolle spielt”.

N. wenscht ten allen tijde garantie te kunnen geven voor het afgeleverde product, en ziet daarom als noodzakelijkheid een centralen aanvoer en bewerking van alle melk (met uitzondering van de bovengenoemde van goede veehouders-slijters afkomstige), die een zéér strenge contrôle door de overheid mogelijk maken, en daarnaast zooveel mogelijk contrôle aan de bron. Van een nieuwe melkwet verlangt N. hoofdzakelijk garantie voor hygiënische qualiteit; de chemische samenstelling is voor de volksgezondheid van minder beteekenis. Daarbij moet de overheid niet te angstvallig zijn in het vaststellen van scherpe normen, en van maatregelen ter bescherming van het werkelijk goed ingerichte en goed beheerde bedrijf.

In gelijken zin uiteten zich *Klimmer*, *Nevot* en *Orla-Jensen*.

In ons land is het o.a. *Gorter* geweest, die naar aanleiding van

het veelvuldig voorkomen van den bovinen tbc-bacil bij gevallen van niet-pulmonaire tuberculose bij kinderen, verlangt, dat krachtige maatregelen zullen worden genomen, om het gevaar van een bovine infectie zoo gering mogelijk te maken.

Ook de hygiënische subcommissie, die in 1923 medewerkte aan het rapport betreffende een gemeentelijk melkbedrijf voor Amsterdam, spreekt zich aldus uit, dat de volksgezondheid minder gediend is met een contrôle op chemische samenstelling, dan met een, die gericht is op de bacteriologische hoedanigheid der melk.

Tenslotte is het vooral ook *Plantenga* geweest, die gewezen heeft op de dringende noodzakelijkheid van een zoodanige winning en behandeling der melk, dat zij van meet af aan zooveel mogelijk vrij is van bacteriën en van bacterie-toxinen.

Uit deze aanhalingen moge blijken, dat zoowel hier als in het buitenland behoefte gevoeld wordt aan een nadere regeling, opdat men het publiek werkelijk garantie voor een in hygiënisch opzicht betrouwbaar product zal kunnen geven.

Punt drie — de diëtetische waarde der melk — en meer speciaal het vitaminenvraagstuk — wordt in het Melkbesluit in het geheel niet aangeroerd. *Neisser* vat het vitaminenvraagstuk op als van niet zooveel belang zijnde, vooral, daar zelfs vitamine-vrije melk niet gemist kan worden, en bovendien de op moderne wijze gepasteuriseerde melk niet van haar vitaminen is beroofd, en dus op gelukkige wijze hygiënische en diëtetische qualiteit aaneen koppelt.

In dit proefschrift zal ik uitsluitend behandelen de bepaling der bacteriologische qualiteit der melk. Het diëtetisch gedeelte van dit probleem blijve voor een volgend onderzoek voorbehouden.

HOOFDSTUK II

EISCHEN TE STELLEN AAN EEN METHODE TER BEPALING DER BACTERIOLOGISCHE ZUIVERHEID DER MELK

Een goede methode ter bepaling van de bacteriologische zuiverheid der melk moet o.m. voldoen aan de volgende eischen:

1. Zij moet zijn streng en billijk, d.w.z.: Zij moet gebaseerd zijn op datgene, dat in de practijk zonder aanzienlijke verhooging der productiekosten bij voortduring te bereiken is.
2. Zij moet gemakkelijk in het groot zijn toe te passen.
3. Zij moet geen verwarring kunnen stichten.

Ad 1. De aan te leggen maatstaf zal moeten zijn gebaseerd op datgene, dat practisch zonder te hooge opdrijving der productiekosten bij voortduring kan worden bereikt.

Verliest men dezen eisch uit het oog, dan ontstaat het gevaar, dat of wel de winning onoeconomisch wordt voor den ondernemer, of wel de prijs voor den consument te hoog.

Immers, als de melk een belangrijk volksvoedsel zal blijven, dan moet ze allereerst zoo goedkoop mogelijk zijn. Om deze reden kan men voor het vaststellen van hygiënische normen dus niet uitgaan van de uitzonderingsbedrijven voor rauwe modelmelkwinning, maar zal men het oog moeten wenden naar het normale goed gedreven consumptiemelkbedrijf, een bedrijf dus, dat de beschikking heeft over wat men in het algemeen verstaat onder een goede outilleering, en over gezond vee. De eischen die men aan een dergelijk, normaal goed gedreven consumptiemelkbedrijf redelijkerwijs mag stellen zijn de volgende:

- a. een behoorlijk geventileerde, lichte (of kunstmatig te verlichten

- stal) — het type doet er niet toe —, die zindelijk onderhouden is.
- b. behoorlijk verpleegd vee (d.w.z. met opgebonden staarten en schoone en opgeknipte achterhand en uier), dat regelmatig geborsteld wordt, en normaal gevoerd.
 - c. melkgerei van goede kwaliteit (liefst naadloos en vertind vaatwerk, emmers en teemsen), dat behoorlijk gereinigd en onderhouden is.
 - d. zindelijke winning en behandeling der melk, ongeveer zooals het op de melkerscursussen geleerd wordt.
 - e. zindelijke gelegenheid voor bewaring, en doelmatige afkoeling der melk; doelmatig, tijdig en vlug transport naar de distributiebedrijven.
 - f. betrouwbaar bedrijfswater.
 - g. geregelde veterinaire contrôle van den veestapel.
 - h. voor die bedrijven, die niet *zelfgewonnen* melk in den handel brengen, een garantie, dat hun leveranciers voldoen aan de eischen a. tot en met g., en bovendien een nader te omschrijven goede outilleering en/of wijze van distributie.

Men zal over een langere periode — en — om toeval uit te sluiten — bij een flink aantal bedrijven hebben na te gaan hoe de melk van op deze wijze beheerde bedrijven in bacteriologisch opzicht is te kenschetsen.

Indien blijkt, dat voor op deze wijze gewonnen of behandelde melk normen zijn vast te stellen, dan is het de plicht der overheid om te zorgen, dat alle verhandelde consumptiemelk aan deze voorwaarden voldoet, en zal zij den verkoop van alle andere melk categorisch moeten verbieden.

Hoewel een zeer geregelde contrôle op den stal of het melkbedrijf, uitgaande van fabriek of melkcontrôlebureau ongetwijfeld nuttig en noodzakelijk is, zal een volledige preventieve keuring der melk tot de onmogelijkheden blijven behooren, ten eerste omdat het niet mogelijk zal zijn deze stalcontrôle enz. voldoende vaak te doen plaats hebben, wegens gebrek aan geld en personeel, en ten tweede omdat, zelfs al controleert men nóg zoo vaak, de infectiekansen voor de melk zóó veelvuldig zijn, dat inspectie en contrôle deze niet — doch technisch juiste werkwijze bij het melken en de behandeling deze wel kunnen uitsluiten.

De stal- en bedrijfscontrôle zal steeds opvoedend instrument tot het aanleeren van deze werkwijze moeten zijn, en als controlemiddel slechts uitzondering blijven.

Regel zal moeten zijn een repressieve, vaak herhaalde proef-ondervindelijke controle op de verhandelde melk, waarbij bovengedeelde normen als maatstaf moeten worden genomen.

Deze controle zal zóó moeten zijn, dat zij door middel van één of van enkele eenvoudige, door niet wetenschappelijk geschoold laboratoriumpersoneel uit te voeren proef of proeven, zooveel mogelijk de hygiënische en bacteriologische waarde der melk in het licht stelt.

Hiermede komen wij tot het gestelde:

Ad 2. Dat de kwaliteitsbepaling gemakkelijk in het groot moet zijn toe te passen, wil zij voor de practijk beteekenis hebben.

Dit behoeft na het voorgaande geen nader betoog.

Bezien wij tenslotte het gestelde:

Ad 3. De kwaliteitsbepaling moet geen verwarring kunnen stichten.

De tot op heden door vele laboratoria gevolgde methoden ter bepaling van de hygiënische qualiteiten der melk hebben in dit opzigt verschillende zeer grootte nadeelen.

Ten eerste zijn zij ingesteld op de minimumeischen, die het Melkbesluit in art. 2 tot op heden aan de hygiënische qualiteit der melk stelt (zie boven), en die geen afdoenden waarborg voor betrouwbaarheid in bacteriologischen zin bieden;

ten tweede kloppen de uitkomsten vaak in het geheel niet, of zeer onvoldoende, met datgene, dat men bij inspectie ten huize van den boer, den slijter of in de melkinrichting constateert;

ten derde spreken zij elkaar nogal eens tegen, en

ten vierde is het gevaar niet uitgesloten, dat door het mededeelen der resultaten (event. het betalen der melk naar de uitkomsten) van dit „qualiteitsonderzoek" aan boer, slijter enz., deze ten aanzien van de wezenlijke verbetering hunner melkwinning enz. op een dwaalspoor worden gebracht.

Met name geldt dit van de z.g.n. vuilproef, de businspectie, de alcohol- en de gisting-reductaseproef. Melk, die ten aanzien van

deze factoren „voldoende” haalt, blijkt dikwijls onder zeer onhygiënische omstandigheden te zijn gewonnen, en bacteriologisch gesproken zeer slecht te zijn.

Alleen de kiemgetalbepaling, en tot op zekere hoogte het sedimentonderzoek maken hierop een uitzondering.

Alle andere methoden zijn alleen geschikt om ten ruwste de bacteriologische qualiteit te bepalen, en dienen afgeschaft, zoo spoedig een nauwkeuriger, in het groot practisch bruikbare methode er voor in de plaats gesteld kan worden.

De hygiënisch-bacteriologische waarde der melk wordt bepaald door de navolgende factoren:

1. De afwezigheid van pathogene micro-organismen.
2. Het aantal saprophitische kiemen.
3. De soort dezer kiemen.

Het routine-laboratoriumonderzoek zal zich dus, voor zoover mogelijk, in den meest eenvoudigen vorm op deze drie zaken hebben in te stellen, terwijl vooraf de methoden van onderzoek nauwkeurig zullen moeten worden getoetst.

De afwezigheid of aanwezigheid van de meeste (mensch)pathogene micro-organismen in melk is niet gemakkelijk te constateeren, en kan, althans bij den huidigen stand der wetenschap, nooit onderwerp voor een routineonderzoek worden. De waarborgen, die ten aanzien van dit punt aan den consument gegeven kunnen worden, zullen voorshands geen andere kunnen zijn, dan hoogstens een geregelde veterinaire contrôle van den veestapel op voor den mensch schadelijke ziekten, verder eventueel een medische contrôle van het personeel, en ten slotte een zoodanige bewerking en distributie der melk dat, mochten bedoelde kiemen inderdaad ondanks de beide eerdere genoemde voorzorgsmaatregelen tóch nog eens aanwezig zijn, zij zoo goed mogelijk onschadelijk gemaakt worden.

Voor wat betreft het totaal aantal (saprophitische) kiemen zijn er alreeds zeer goede, wetenschappelijk juist bevonden routine-methoden ter bepaling van de qualiteit der melk gegeven (allereerst de „grootte” plaatmethode van *Koch*, en de „kleine” idem van *Frost—Van Oyen—Clarenburg*, verder de methoden van *Breed—Skarr—Burri—Bogdanoff—enz.*).

De frequentie der zeer veel verschillende, in melk voorkomende soorten (saprophytische) micro-organismen wordt echter door bovengenoemde methoden niet aangegeven.

Toch is het van zeer veel belang deze te bepalen, omdat de beteekenis dezer verschillende soorten èn voor de kwaliteit der melk, èn voor den consument geheel verschillend kan zijn; ten eerste omdat zij, bij voorkomen in de melk, in deze veranderingen van geheel verschillende orde kunnen veroorzaken, waardoor de melk soms veranderd in een nog goed te genieten of te verwerken product (door den invloed van de diverse z.g.n. echte melkzuurvormers), soms onbruikbaar wordt (b.v. door ontwikkeling van sporevormers, gepaard gaande met bijv. boterzuurgisting of rotting), ten tweede, omdat diverse dezer z.g.n. saprophyten onder bepaalde omstandigheden of zelf, of door hun omzettingsproducten in de melk, pathogene werking kunnen vertoonen (ik noem bijv. *B. coli*—*proteus*—*subtilus*—*mesentericus*), en ten derde, omdat hun aanwezigheid kan wijzen op bepaalde fouten bij de winning of de behandeling der melk begaan, waardoor deze in hygiënisch opzicht minder betrouwbaar kan zijn geworden. Zelfs in zeer kiemarme melk kan het dus wenschelijk zijn om te trachten een inzicht te krijgen in de soort der infecteerende kiemen, en na te gaan, of bepaalde, minder gewenschte groepen van micro-organismen aanwezig zijn.

Zooals ik in het hoofdstuk „De beteekenis van *B. coli* in melk” nader hoop aan te toonen, is een aanvulling der bacteriologische kwaliteitsbepaling der melk met een quantitative bepaling van dit micro-organisme speciaal van beteekenis, omdat het hier geldt een bacteriesoort, die niet alleen ongewenschte eigenschappen bezit, maar waarvan tevens gebleken is, dat zij in melk voorkomt in des te grootere hoeveelheid, naarmate de zorg waarmede de melk is gewonnen en/of behandeld geringer is geweest.

Naast elkander toegepast zijn dus de beide methoden in staat om een breeder en dieper inzicht te verschaffen in de waarde die wij aan een bepaalde melk in hygiënisch en bacteriologisch opzicht moeten toekennen.

Hoewel het natuurlijk in de eerste plaats van belang is, dat de melk, bacteriologisch gesproken, betrouwbaar zij, dus bijv. weinig

coli-bacteriën bevat, en het voor de overheid, als hoedster der volksgezondheid van minder beteekenis is, hoe men dit bereiken wil, zoo is het toch zéér toe te juichen, wanneer op grond van een coli — resp. kiemgetalbepaling aan den behoorlijk vakkundigen boer of slijter enz. een juist en begrijpelijk denkbeeld gegeven kan worden van de wijze, waarop de winning der melk en de verzorging van dit product door hem moeten plaats vinden.

In de literatuur vindt men weinig opgaven omtrent de gegevens der bacteriologische analyse getoetst aan de bedrijfsinspectie, in elk geval weinig of geen normen, die voor behoorlijk gewonnen melk van gezond vee op normaal goede bedrijven zijn te stellen, en evenmin normen voor door slijters of melkinrichtingen verkochte rauwe of zoogenaamde losse gepasteuriseerde melk.

Bij het invoeren van een maatstaf voor de bacterieele reinheid der melk dringen zich een aantal aan de practijk ontleende vragen op, die wij hier voor de „coli-normen” als volgt kunnen samenvatten:

1. Wat moeten wij verstaan onder het begrip „coli-bacil” bij de beoordeeling der consumptiemelk?
2. Komt een dergelijk organisme in alle melk voor, en zoo ja, in welke dichtheid?
3. Door welke oorzaken kan dit organisme in de melk komen, en in welke hoeveelheden tengevolge van elk dezer oorzaken?
Welken invloed hebben diverse factoren bij de winning enz.?
Welke zijn de nadeelen van Bact. coli voor de melk?
4. Heeft het zin eventueele variëteiten uiteen te houden
 - a. Uit een oogpunt van volksgezondheid, of
 - b. Om speciale fouten bij de winning enz. begaan in het oog te doen vallen?
 Zijn deze variëteiten gemakkelijk te herkennen?
5. Op welke wijze is B. coli in de melk aan te toonen? Is hiervoor een routinemethode aan te geven?
6. Welke uitkomsten geeft een routinemethode in de practijk; is er overeenstemming met bij bedrijfsinspectie geconstateerde deugden of gebreken in de bedrijfsvoering?

HOOFDSTUK III

LITERATUUR

Aan de hand der gegevens in de literatuur dient nu, voorzoover mogelijk, nader bepaald welk standpunt ingenomen moet worden t.a.v. de aan het eind van het vorige hoofdstuk genoemde vragen, die zich voordoen bij het vaststellen van „coli-normen”.

Wij komen dus allereerst tot de beantwoording der vraag:

A. Wat moeten wij verstaan onder het begrip „coli-bacil” bij de beoordeeling der consumptiemelk?

Escherich (cit. n. *Mc. Conkey*) beschreef in 1885 als eerste een micro-organisme, geïsoleerd uit de faeces van choleralijders, later ook uit de faecalien en het colon van volwassen gezonde personen.

Om deze reden noemde hij dit organisme: „bacterium coli commune”; hij geeft als cultuureigenschappen op:

Op gelatine vormen zich 2 soorten kolonies, een kleine gele, in de diepte gelegene van ± 1 mm groot, en een groote, blauwwitte oppervlakkige in den vorm van een tropaeolumblad. De kolonies bestaan uit korte staafjes, die aanvankelijk géén, maar bij verder kweeken in bouillon wél eigenbeweging vertoonen, en meestal niet meer dan 2 à 3 zweepdraden bezitten. Zij vergisten glucose en lactose onder zuur- en gasvorming, en stremmen melk onder zuurvorming binnen hoogstens 5 dagen, terwijl zij in peptonwater indol vormen.

Eenigen tijd daarna isoleerde E. uit de faeces van borstkinderen een organisme, dat in eigenschappen heel veel met *bact. coli commune* overeen kwam, maar toch ook verschilpunten te zien gaf — hoofdzakelijk den anderen vorm der kolonies op gelatine (deze zouden dikker zijn en rond) — de onbeweeglijkheid en het gemis

aan indolvormend vermogen. Hij noemde dit organisme „bac. lactis aërogenes”.

Hueppe (cit. n. *Mc. Conkey*) isoleerde uit melk, die hij bij 37° C. bewaarde een organisme, dat hij noemde „bact. acidi lactici”, (tegenwoordig door *Bergey* genoemd *Escherichia acidi lactici*) en dat de volgende eigenschappen zou bezitten:

„Op gelatine dikke ronde niet vervloeiende kolonies vormend, Gram-negatief onbeweeglijk staafje, indolvormend, glucose en lactose vergistend onder zuur- en gasvorming, dik en slijmig groeiend op agar-agar.”

In het tijdvak gelegen tusschen 1885 en 1905 komen dan van vele auteurs beschrijvingen van deze of dergelijke organismen (*Theob. Smith, Rothberger, Durham, Jordan, Brown, Johnson, Savage, Hewlet, Kruse, Prescott, Lehmann, Neumann, Muir, Ritchie* e.a. — gedeeltelijk geciteerd n. *Mc. Conkey*), waarvan de eigenschappen in vele opzichten overeenkomen, maar op ander gebied weer uiteen loopen; organismen, die zij vooral isoleerden uit faecalien, stof, detritus, melk, water, pathologische processen bij mensch en dier, en waaraan zij een naam gaven, die vaak met een secundaire eigenschap bleek samen te hangen.

Zoo ontstonden bijv. nog de namen: bac. cloacae, bac. pneumoniae Friedländer, enz.. Wat de een *bact. coli commune* noemde, werd door den ander weer anders betiteld, terwijl omgekeerd vaak de beschrijving van een met eenzelfde naam aangeduid organisme, door meerdere auteurs, uiteen loopt.

Reeds in 1897 was de toestand op dit gebied zóó onoverzichtelijk geworden, dat *Orlowski* (cit. n. *Mc. Conkey*) zegt: „*Bact. coli* is zeer variabel, in de natuur zijn er veel variëteiten en kan de eene soort in de andere overgaan onder gunstige omstandigheden”.

In 1905 geeft *Mc. Conkey* een resumeerend overzicht van de eigenschappen, die tot dien door 23 auteurs, waaronder de zoo juist genoemde, worden toegeschreven aan *B. coli*, *B. acidi lactici*, *B. lactis aërogenes*, *B. cloacae* e.d.

Hij komt tot de slotsom, dat de genoemde micro-organismen op grond van de onderzoekingen dezer auteurs moeten worden onderscheiden in de navolgende groepen:

GROEPEN	Vergisting onder zuur en gasvorming			Coagulatie en zuurvorming in melk	Indolvorming	Beweeglijkheid
	glucose	lactose	saccharose			
B. coli (Escherich) . .	+	+	±	+	+	±
B. lact. aërog. (Escherich)	+	+	+	+	±	—
B. acidi lact. (Hueppe)	+	+	—	+	+	—
B. pneumoniae (Friedländer)	+	+	+	bijna steeds alleen zuur	∓	—
B. cloacae (Jordan) . .	+	±	+	" "	±	+

In bovenstaande tabel is de beteekenis van het ±, resp. het ∓ teeken volgens *Mc. Conkey* voor de verschillende rubrieken de volgende:

Lactose ± = altijd zuur- en dikwijls gasvorming

saccharose ± = dikwijls zuur- en gasvorming; soms geen veranderingen

indolvorming ± = dikwijls positief

" " ∓ = als regel niet aanwezig

beweeglijkheid ± = dikwijls beweeglijk.

Hieruit blijkt alreeds de moeilijkheid, die de oudere auteurs ondervonden hebben, om te komen tot een bevredigende, scherp gedefinieerde klasseindeeling dezer micro-organismen, en de betrekkelijke willekeur van een nadere indeeling naar de bovengeschetste maatstaven.

Verder zijn vrijwel allen het er over eens, dat *B. coli* doorgaans is een korte bacil met ronde einden, die zich niet volgens Gram laat kleuren, facultatief anaëroob is, en geen sporen vormt. De groei op agar is grauwwit, op gelatine als regel in den vorm van het blad van den wijnstok. De beweeglijkheid varieert bij de verschillende stammen.

Over de verhouding van CO₂ tot H₂ in het gevormde gas, en de hoeveelheid gevormd zuur uit glucose (*Theob. Smith*), de vergisting van andere dan de genoemde koolhydraten, de gelatine-

vervloeiing e.d. loopen de meeningen uiteen, en *Mc. Conkey* wijt dit aan het feit, dat men in wezen verschillende soorten alle als *B. coli* wil erkennen. Hij komt hier tegen op, omdat hem met een origineelen van *Escherich* afkomstigen stam en van *B. coli* en van *B. lactis aërogenes* gebleken is, dat na jaren de eigenschappen van deze, onder ongunstige omstandigheden bewaarde cultures, behoudens een kleine variatie in morphologie en groei, nog precies waren zooals *Escherich* ze oorspronkelijk had beschreven.

B. lactis aërogenes zou behalve de in de tabel genoemde eigenschappen nog de volgende bezitten: In het in glucose-bouillon gevormde gas zou de verhouding $\text{CO}_2 : \text{H}_2$ zijn 1 : 1, of 1 + : 1 (volgens *Theob. Smith*), terwijl *Durham* (cit. n. *Mc. Conkey*) beweert, dat alle tot deze groep behorende micro-organismen in cultuur in glucosebouillon de reactie van *Voges-Proskauer* op acetyl-methylcarbinol geven; over indolvorming heerscht geen eenstemmigheid.

Strong (cit. n. *Mc. Conkey*) verdeelt in 1899 de groep aërogenes nader in diverse pathogene soorten, die de melk niet coaguleeren, (*B. pneumoniae*, ozaena, sputigenes crassus, rhinoscleromatis), en *B. aërogenes* en capsulatus, die dat wel doen.

In het bloed van proefdieren ingespoten vormen allen kapsels.

Mc. Conkey meent op grond van de literatuur voor *B. aërogenes* te mogen aannemen, dat deze de in de tabel genoemde eigenschappen heeft en bovendien Gram-negatief is, gelatine niet vervloeit, facultatief anaëroob is, en bij de reactie volgens *Voges-Proskauer* een positieven uitslag geeft.

Ook de groepen *B. acidi lactici*, *B. pneumoniae* en *B. cloacae* zijn volgens het literatuur-resumé van *Mc. C.* alle Gram-negatieve, facultatief anaërobe staafjes, die geen sporen vormen en, met uitzondering van *B. cloacae*, gelatine niet vervloeien.

Mc. Conkey ging nu na de eigenschappen van allerlei soorten kiemen, geïsoleerd uit faeces e.d., en die, om in het onderzoek te worden opgenomen, de navolgende eigenschappen moesten bezitten. Zij moesten zijn asporogene, facultatief anaërobe, Gram-negatieve staafjes, vertoonend een grijs-witten groei op agar en gelatine, gelatine in steekcultuur niet of slechts langzaam vervloeiend, melk coaguleerend onder zuurvorming, vergistend onder zuur- en gasvorming glucose, lactose en manniet, in het algemeen indol vormend en beweeglijk.

In een suikerhoudend milieu, waaraan hij tot wering van den groei van buiten deze groep staande micro-organismen $\frac{1}{2}$ % natriumtaurocholaat had toegevoegd, bebroedde *Mc. Conkey* de faeces e.d., waarin hij de aanwezigheid van kiemen dezer groep vermoedde, om deze zoo de gelegenheid te geven zich te vermeerderen.

Constateerde hij zuur- en gasvorming, dan isoleerde hij via een selectieve plaat kolonies, waarvan hij nader het gedrag ten opzichte van verschillende suikers, polysacchariden en hexieten, de vorming van acetyl-methyl-carbinol uit glucose, en de verhouding van CO_2 tot H_2 in het in glucose-bouillon gevormde gas (zulks in navolging van *Th. Smith* in 1896) naging.

Uit deze proeven trekt *Mc. Conkey* de conclusie, mede aan de hand van het onderzoek der origineele stammen, dat er in *hoofdzak 4 groepen te onderscheiden zijn*, die, terwijl ze overigens veel eigenschappen gemeen hebben, zich kenmerken door een verschillend gedrag ten opzichte van saccharose, van dulciet, van de „gasratio” en van de Voges-Proskauer- en de methylroodreactie. De volgende tabel geeft van de gevonden combinaties dezer eigenschappen een schematisch overzicht.

Groep	Saccharose	Dulciet	Gelatine vervl.	Voges- Proskauer	Methylrood
1. <i>B. vesiculosus</i>	—	—	—	—	+
2. <i>B. coli communis</i>	—	+	—	—	+
3. <i>B. neapolitanus</i>	+	+	—	—	+
4. <i>B. lactis aërog.</i>	+	—	(\mp)	+	—

Groep 4 zou dan nog weer in 4 ondergroepen verdeeld moeten worden naar aanleiding van het gedrag in gelatine, en t.a.v. de Voges-Proskauerreactie.

Orla-Jensen beschrijft een groep der zogenaamde onechte melkzuurbacillen (die uit lactose nog andere producten vormen dan melkzuur). Zij zijn Gram-negatieve, al of niet beweeglijke korte staafjes, zelden tot kettingen of draden groeiend, vooral aëroob, gasvormend, gelatine niet vervloeiend; zij hebben voor hun groei geen organische stikstof nodig.

Jensen onderscheidt daaronder twee hoofdgroepen:

- a. *Bacillus aërogenes* — onbeweeglijk, vormt uit suiker meer CO_2 dan H_2 , tast caseïne niet aan. Zij wordt onderverdeeld in 2

ondergroepen, één, die melk niet coaguleert, maar langzaam verslijmt, en één die dat wel doet, de *B. lactis aërogenes* in engeren zin.

- b. *Bacillus coli* — beweeglijk (onderscheid van alle andere melkzuurvormers), die caseïne aantast (rotting en indolvorming), en waarbij vele pathogene soorten, die „Weniger Interesse für die Molkerei als für die Ärzte haben“.

Gorter en *De Graaff* geven als cultureele eigenschappen voor *Bac. coli* op: op Endo-fuchsine-natriumsulfiet-agar worden roode kolonies gevormd met metaalglans, melk wordt gecoaguleerd na 1—7 dagen, indol gevormd binnen 7 dagen, lakmoeswei wordt rood en troebel, in neutraalrood-lactose-agar ontstaat gasvorming met fluorescentie na 24 uur. Lactose, glucose, maltose, saccharose en manniet worden vergist onder zuur- en gasvorming. De beweeglijkheid is zwak. Het is een Gram-negatief, asporogeen staafje, dat gelatine in steekcultuur niet vervloeid.

De Graaff stelt in 1932, in een verhandeling over coli-onderzoek in drinkwater de vraag: „Wat is *B. coli*“, en geeft dan direct als zijn opinie te kennen, dat de coli-groep blijkbaar veel variëteiten heeft, waarvan onze kennis vaak nog te onvoldoende is, om de werkelijke beteekenis en het wezen der afwijkende vormen te begrijpen. Wij ontleenen aan dezen arbeid voorts, dat men voor het wateronderzoek zich vooral moet bezig houden met de darm-coli (van den mensch), die voor het eerst door *Escherich*, en vrij nauwkeurig, is beschreven.

Wij moeten de specifieke eigenschappen dezer bacterie als criterium nemen bij het wateronderzoek, en bepaalde nauw omschreven methodes gebruiken.

De Graaff wijst op de zéér groote moeilijkheid eener classificatie dezer variabele soorten en vindt in elke nadere indeeling in dit opzicht iets gekunstelds en incompleets.

Een serologisch verschil is tusschen deze naverwante soorten niet te bespeuren, en de gevonden variabiliteit behoeft nog geen aanleiding te vormen om te spreken van soortverscheidenheid. Hij maakt een onderscheid met betrekking tot het gedrag t.o.v. gelatine, die door de coli-achtigen niet, door de proteusachtigen wél wordt vervloeid. De laatsten vergisten tevens de hexieten (o.a. sorbiet en manniet) en laevulose en lactose niet.

De Graaff wijst evenwel tevens op de mogelijkheid van tusschenvormen, slaat echter voor om deze groote lijn te blijven vasthouden, ten einde elkaar beter te verstaan. Hij onderscheidt dan verder in de coligroep twee hoofdsoorten, hoofdzakelijk naar hun herkomst, n.l.:

1. De groep *Aërogenes*, in kinderfaeces, maar vooral in de vrije natuur, dus géén specifieke faecaalverklikker, een niet vervloeiend Gram-negatief facultatief anaëroob staafje, dat sorbiet, manniet en laevulose niet vergist, géén indol vormt uit pepton, en de reactie van Voges-Proskauer op acetyl-methyl-carbinol geeft, en
2. De groep *Coli*, vooral in faecaliën, die de genoemde koolhydraten wèl vergist, niet de reactie van Voges-Proskauer geeft, en na 3—7 dagen uit pepton indol vormt. Tevens is deze groep thermotolerant, doordat zij bij 46° C. glucose onder zuur- en gasvorming kan vergisten (*Eykman*).

Ten aanzien van de conclusie „faecale coli” (afkomstig uit menschelijke faecaliën — M.) wenscht *De Graaff* geen andere criteria aan te leggen dan, en volkomen genoeg te nemen met de volgende, waardoor onnoodige moeilijkheden voorkomen worden:

- a. Gram-negatief, asporogeen, facultatief anaëroob staafje, polymorph, zwak beweeglijk, gelatine niet vervloeiend.
- b. Glucose vergistend onder zuur- en gasvorming bij 45 à 46° C.
- c. Indolvormend uit pepton.
- d. Voges-Proskauer negatief, en methylrood positief bij kweken in glucose-pepton-water.
- e. vergistend onder zuur- en gasvorming bij 37° C. glucose, lactose, sorbiet, manniet, laevulose, mannose en galactose.

De Graaff heeft geen nut gezien van het gebruik van de citraat- en urinezuurbodems van *Koser*.

Gärtner uit zich aldus: Het begrip coli is zeer vaag; men heeft wel onderscheiden:

1. Typische coli — die zeer veel in menschelijke en dierlijke faeces zou voorkomen. G. omschrijft de eigenschappen van dit micro-organisme zooals *De Graaff* e.a.
2. Atypische coli, met afwijkende eigenschappen.

Volgens *Gärtner* zijn er vele auteurs, o.a. *Konrich*, die, zelfs als eigenschappen als indolvorming en neutraalroodomzetting ontbre-

ken, de coli nog als typisch willen beschouwen. G. is hiervoor echter zeer huiverachtig. Volgens G. geeft de proef van Eykman veel miswijzingen door de hooge broedtemperatuur.

Bergey (uitgave 1934) onderscheidt in de familie („tribe”) der Bacteriae verschillende ondergroepen („genus”), o.a.:

A. De groep *Escherichia* (*Castellani en Chalmers* 1919), waartoe o.a. behooren de *B. coli commune* (*Escherich*) en de *B. acidi lactici* (*Hueppe*) der oude literatuur, en

B. De groep *Aërobacter* (*Beyerinck* 1900), waartoe o.a. behooren de oude *B. lactis aërogenes* (*Escherich*), en *B. cloacae* (*Jordan*).

Bijna alle tot deze beide groepen behorende micro-organismen komen volgens *Bergey* voor in den tractus intestinalis van gezonde menschen en (of) dieren, vooral de groep A. De groep B. komt bovendien veel voor in de vrije natuur, in vuil, in melk of melkproducten. Beide groepen zijn volgens B. asporogene, facultatief anaëroobe, Gram-negatieve, gelatine als regel niet vervloeiende staafjes, die glucose en lactose vergisten onder vorming van zuur, of van zuur en gas, terwijl veelal ook andere suikers, polysacchariden of hoogere alcoholen worden omgezet op dezelfde wijze.

Groep A. — *Escherichia* — vormt (uit glucose) geen acetyl-methyl-carbinol, en vervloeit gelatine niet.

Groep B. — *Aërobacter* — vormt onder deze omstandigheden wèl acetyl-methyl-carbinol. Sommige vertegenwoordigers uit deze groep vervloeien gelatine.

Bergey deelt verder de groep *Escherichia* in naar het al of niet vergisten onder zuur- en gasvorming van saccharose, en verder naar gelatinevervloeiing (hier komt hij dus alreeds direct in conflict met de basis, waarop hij zelf de scheiding tusschen groep A. en groep B. voorstelt), naar beweeglijkheid en naar het gedrag in dulciet-, salicyne-, melk-, en nitraathoudend milieu. Nergens wordt door B. bij de nadere indeeling der groep *Escherichia* gewag gemaakt van het gedrag in neutraal-roodmilieu of het kweeken bij hoogere temperatuur (Eykmanproef).

Hij geeft voor alle 22 soorten die hij in de groep *Escherichia* onderscheidt als optimumtemperatuur op 30 à 37° C., behalve voor één, waarvoor deze 20° C. bedraagt. Aan zijn zeer uitgebreid overzicht ontleenen wij voorts, dat alle 22 tot deze groep behorende organismen lactose vergisten onder zuur- en gasvorming en 20

eveneens glucose; verder, dat saccharose door ongeveer de helft der soorten wordt vergist onder zuur- en gasvorming, en maltose, galactose en manniet, voorzover ze genoemd worden, door alle. Vijf soorten vervloeien gelatine (!), melk wordt door 16 dezer soorten gecoaguleerd onder zuurvorming, indol wordt niet of zeer zwak gevormd door 7. Het gedrag in andere dan de genoemde suikers loopt sterk uiteen.

De groep B. — *Aërobacter* — wordt door *Bergey* nader ingedeeld naar het af of niet beweeglijk zijn, de gelatinevervloeiing en de vergisting onder zuur- en gasvorming van saccharose en dulciet. Hij onderscheidt 7 soorten, die alle een optimumtemperatuur hebben van 30 à 37° C., behalve 2 speciale „vuil” soorten, die wel groeien bij deze temperatuur, maar geen gas meer vormen.

Ook hier zijn de vergisting onder zuur- en gasvorming uit glucose, lactose, maltose, galactose en manniet constant aanwezig, terwijl door de meeste soorten op deze wijze ook saccharose en dulciet worden omgezet. Melk wordt door alle gecoaguleerd onder zuurvorming, gelatine door 3 der 7 vervloeid, indol door 5 der 7 niet gevormd. Meerdere soorten vertoonen in het gevormde gas een overmaat van CO₂ ten opzichte van H₂.

Het gedrag in andere dan de genoemde suikers loopt uiteen.

Bij nauwkeurige beschouwing blijkt, dat ook *Bergey's* indeeling hier en daar wat gewrongens heeft, en dat de reeds eerdere genoemde uitspraak van *De Graaff* over het gekunstelde van een te ver gaande indeeling hier op haar plaats is.

Resumeerende kunnen wij dus als antwoord op de vraag: „Wat moeten wij verstaan onder het begrip coli-bacil”? aan de hand der besproken literatuur de conclusie trekken, dat dit begrip niet scherp is omschreven, maar als aanduiding gebruikt wordt voor een geheele groep van micro-organismen, waarvan in het algemeen als vaststaand wordt aangenomen, dat zij de navolgende eigenschappen hebben:

Morphologisch: Polymorphe, kleine, asporogene, Gram-negatieve staafjes.

Cultureel: al of niet beweeglijk, goed groeiend in een milieu waaraan stoffen zijn toegevoegd die een remmenden invloed uitoefenen op het groeivermogen van kiemen buiten deze groep (o.a.

Na-taurocholaat v. *Mc. Conkey*, 1⁰/₀₀ carbol v. *Vincent* e.d.); vergistend onder zuur- en gasvorming bij 37° C. glucose, lactose, maltose, galactose en manniet; coaguleerend melk onder zuurvorming. Vele andere dan de genoemde suikers, polysacchariden en hogere alcoholen worden afwisselend ontleed.

Hieruit blijkt alreeds dat deze groep in morphologisch opzicht geen bijzondere kenmerken vertoont, zooals bijv. de t.b.c. bacil, de miltvuurbacil, e.d.. Voor het aantonen van vertegenwoordigers uit deze groep zal men dus gebruik moeten maken van hare cultureele eigenschappen.

Er is een streven om de groep in twee ondergroepen te verdeelen, n.l.:

- A. *De Coligroep in engeren zin*, die doorgaans van faecalen oorsprong zou zijn, en gelatine niet zou vervloeien in steekcultuur. Zij zou (doorgaans) wel indol uit pepton vormen, daarentegen geen acetyl-methyl-carbinol uit glucose; verder in neutraalroodmilieu een groene fluorescentie geven en als regel saccharose niet, echter wèl glucose bij 45° C. en dulciet bij 37° C. vergisten onder zuur- en gasvorming.
- B. *De Aërogenegroep*, die wel acetyl-methyl-carbinol, en als regel geen indol zou vormen, saccharose wel en dulciet niet zou vergisten, dikwijls van niet-faecalen oorsprong zou zijn, en soms gelatine vervloeien. In het algemeen zouden de kolonies op gewonen en op Endo-agar wat grooter en slijmiger zijn dan van A.

Op deze indeeling der coli-achtigen hoop ik nog nader terug te komen.

B. De coli-achtigen in melk

Wij komen nu tot de bespreking der vragen:

„Komen coli-achtigen in alle melk voor, en zoo ja, in welke dichtheid?”

„Door welke oorzaken kunnen deze organismen in de melk komen, en in welke hoeveelheden tengevolge van elk dezer oorzaken?”

„Welken invloed hebben diverse factoren bij de winning enz.?”

„Welken invloed hebben de coli-achtigen op de kwaliteit der melk?”

1. *Komen coli-achtigen in alle melk voor?*

Zooals gedeeltelijk alreeds uit het voorgaande gebleken is, en verder nog in het volgende hoofdstuk zal worden besproken, komen coli-achtigen speciaal voor in faeces, in allerlei soort vuil, in detritus, in melkresten, in water, op granen, kaf en stroo, op het melkgereedschap enz., zoodat er gelegenheid té over is, dat bij onvoldoende voorzorgen, hetzij bij de winning, hetzij bij de verdere behandeling, de melk met deze kiemen besmet wordt, en dit wel des te erger, naar mate de verontreiniging door deze factoren grooter is geweest.

Op het congres der Amerikaansche melkbacteriologen in 1931 is als resolutie aangenomen dat het zéér moeilijk, zoo niet onmogelijk is, om melk te winnen die vrij van coli-achtigen is.

Van zeer veel beteekenis is hier de vraag, of er alreeds in belangrijke mate coli-achtigen voorkomen in de melk op het moment dat zij den uier verlaat.

Het is uiterst moeilijk om werkelijk steriel te melken.

Verschillende onderzoekers zijn daarin echter vrijwel geslaagd, en zij komen daarbij tot de conclusie, dat in melk uit gezonde uiers nooit gasvormende suikervergisters voorkomen, maar vrijwel uitsluitend allerlei Gram-positieve micro- en streptococcen, doorgaans in zeer gering aantal (*Breed, Roberts, Lister, Schulz en Moore, Harding en Wilson, Steck, Gorini, Evans, v. Freudenreich, Harrison en Savage, Vassileff en Velthorst* (ged. cit. n. *Bosma*)).

Coli in melk wordt dan ook algemeen beschouwd als een van buiten af komende infectie, die misschien wel eens in de tepelopening aanwezig kan zijn, maar met de eerste stralen wordt weggespoeld.

Van Nederlandsche zijde is er één mededeeling in het Tijdschrift voor Microbiologie en Serologie, waaruit een andere meening spreekt. Bij een gezonde koe uit een modelstal zou *B. coli* aangetoond zijn in de steriel gewonnen eerste stralen in 0.000001 cc, in de middelste in 0.0001 cc, en in de laatste in 0.001 cc.

Deze sterk geïnficeerde melk vertoonde chemisch, biochemisch, en microscopisch verder geen afwijkingen. Alleen zou bij veterinaire contrôle gebleken zijn, dat de sluitspier van den tepel iets verslapt was (er is niet vermeld of men hier met een zoogenaamden lekspeen te doen heeft gehad).

Ik heb persoonlijk eenige tientallen malen melk onderzocht op een zeer goed bedrijf, waar het colicijfer der melk hooger was, dan verwacht mocht worden, en zich dus als vanzelf de gedachte opdrong, dat bij één of meer kwartieren *B. coli* met de melk zou kunnen worden uitgescheiden.

Ik ging daarbij aldus te werk:

De uiers en omgeving werden met een oplossing van $\frac{1}{2}$ % lysol in pompwater grondig afgewasschen en gedroogd. Daarna werden de spenen met een wat met brandspiritus goed afgewreven, speciaal de tepelopeningen, en van elke speen de eerste stralen direct gemolken in een steriel fleschje. Geheel steriel werd dus nog niet eens gewerkt. Slechts bij één koe is het mij gelukt, om in de eerste stralen *B. coli* aan te toonen, echter niet in grootere hoeveelheid dan 1 per cc, zoodat ik sterk overhel tot de overtuiging van vrijwel alle auteurs, dat *in praktisch gesproken alle gevallen een belangrijk colicijfer der melk wijst op een infectie, nadat zij uit den uier is gekomen.*

2. In welke mate komen de coli-achtigen in melk voor?

Hoewel er op dit gebied in de laatste jaren vrij veel onderzoekingen zijn verricht, betreffen haast alle publicaties gepasteuriseerde melk of modelmelk, en zijn die, waarin de colititer voor gewone goede rauwe consumptiemelk wordt aangegeven schaarsch.

Velthorst vindt, dat als regel in modelmelk *B. coli* in 0.1 cc niet mag voorkomen. In gewone handelsmelk is ze vrijwel steeds in 0.01 cc of kleinere hoeveelheden aan te toonen.

Schmidt wil voor „Vorzugsmilch“ hoogstens 30 colikiemen per cc toestaan. Hij vindt in gewone handelsmelk doorgaans zeer hoge colicijfers (van gepasteuriseerde melk was maar 3.6%, van rauwe melk maar 0.6% vrij van *B. coli* in 1 cc).

Klimmer, Haupt en Borchers meenen dat 1000 colikiemen per cc wijst op onzindelijke melkbehandeling, en dat Vorzugsmilch hoogstens 10 *B. coli* per cc mag bevatten.

Volgens *Chalmers* mag sedert 1923 in Engeland „certified milk“ geen *B. coli* in 0.1 cc bevatten bij aflevering aan den klant.

Pien en Bachimont vinden in zéér zuivere melk vaak geen *B. coli* in 1 cc.

In gewone handelsmelk daarentegen konden zij vrijwel steeds

dit micro-organisme aantoonen in 1 cc of kleinere hoeveelheden, vooral in het zomerhalfjaar. Zij vonden, dat bij melk met een totaal kiemcijfer van:

< 10.000	per cc	} geen B. coli was aan te toonen in 1 cc in	}	48%
10 à 100.000	" "			29%
100 à 250.000	" "			12%
250 à 500.000	" "			10%
meer dan 500.000	" "			4%

Porcher en *Camus* zijn van oordeel, dat in melk die zonder overdrijving, maar toch zindelijk is gewonnen, geen B. coli of aërogenes mag worden aangetroffen. Zij bedoelen vermoedelijk per 1 cc, maar zeggen dat niet.

Nevot vond in 44 monsters melk, die onder bijzondere voorzorgen gewonnen waren, in 43.18% colikiemen in 1 cc.

Lerner houdt het, na onderzoek van 160 willekeurige monsters, voor mogelijk, dat iedere veehouder, die zonder speciale voorzorgen melkt, melk aflevert, die vrij is van B. coli in 0.0001 cc. Voor modelmelk acht hij het een billijken eisch, dat zij vrij is van coliachtigen in 1 à 0.1 cc.

H. Peters vond het procentisch gehalte aan colikiemen kleiner, naarmate het melken zindelijk was geschied.

J. F. Malcolm onderzocht een zeer groot aantal monsters melk van doorsnee-goede boerenbedrijven, en vond 48.3% vrij van B. coli in 0.1, 21.4% vrij in 0.01, 14.0% vrij in 0.001, terwijl 16.3% in 0.001 cc of minder nog coli bleken te bevatten. M. vindt, dat B. coli een uitnemende indicator is om de mate van besmetting der melk met „extraneous bacteriae” uit te maken, daar ze voorkomt in alle mogelijke zaken, die de melk bij winning of behandeling kunnen infecteeren.

Zavagli onderzocht 30 monsters diepgekoelde modelmelk, en vond daarbij bij 25 B. coli in 1 cc, en bij 6 ook in 0.1 cc, bij kiemcijfers die varieerden van 7.000 tot 20.000 per cc, Z. meent dat voor modelmelk een colititer van hoogstens 1 à 10 per cc (naast een gering totaalkiemcijfer), en voor gewone melk van hoogstens 100 per cc op het moment der winning aannemelijk is.

Het coli-onderzoek in gepasteuriseerde melk heeft een iets grotere vlucht genomen.

In het algemeen neemt men aan, dat de coli-achtigen sterven bij een verhitting op $63\frac{1}{2}^{\circ}$ C. gedurende $\frac{1}{2}$ uur, of bij hogere temperaturen gedurende korteren tijd, hoewel er enkele stammen gevonden zijn (van faecalen aard), waarbij deze kritische temperatuur of verhittingsduur opgevoerd moesten worden. (*Tanner en Winslow, Ayers en Johnson, de Jong en de Graaff, Shippen, Peters, Koning en Ringeling*).

Zij sterven dus bij een temperatuur en verhittingsduur, die of hooger of even hoog zijn als die van verschillende, in melk mogelijk voorkomende pathogene kiemen, en vormen dus met betrekking tot het ongestraft gebruik van deze melk, zonder nogmalig koken een zeer bruikbaren veiligheidsindicator.

Van invloed op het afsterven zou zijn, of vóór het pasteuriseeren coli-houdende partikeltjes door centrifugeeren uit elkaar geslagen worden, of niet (*H. Peters*).

Het „Melkbesluit” eischt, dat in gepasteuriseerde melk *B. coli* in 5 cc niet aantoonbaar mag zijn.

Pien en Bachimont eischen voor goed gepasteuriseerde en behandelde melk, dat zij niet meer coli-achtigen bevat dan 20 à 50 kiemen per liter.

Swenarton verlangt voor een goede gepasteuriseerde melk, dat zij

- a. vrij is van pathogene kiemen
- b. een diepkoeling tot op 40° F. heeft ondergaan
- c. zóó behandeld en verpakt wordt, dat geen herinfectie plaats vindt.

In flesschenmelk, bereid volgens het systeem der Dauerpasteurisatie bij $63\frac{1}{2}^{\circ}$ C. vond hij in Baltimore bij een contrôle van verschillende bedrijven gedurende langeren tijd in 1924 en 1925, dat 88% van deze melk bij onderzoek van vijfmaal 0.1 cc („the standard sample”) in gentiaanviolet-lactose-bouillon, hoogstens éénmaal aanwijzing voor de aanwezigheid van *B. coli* gaf. *S.* vond dat de coli-index parallel liep met de outilleering van het bedrijf. *Zavagli* is het hiermee in het algemeen eens; hij wijst er echter op, dat bij de Dauerpasteurisatie bij $63\frac{1}{2}^{\circ}$ C. de thermoresistente coli niet steeds wordt gedood, en het vinden van deze vormen dus niet behoeft te wijzen op een foutief procédé.

Peters vindt eveneens, dat bij een goede pasteurisatie vrijwel alle coli afgestorven moet zijn. Hij heeft echter in bij $63\frac{1}{2}^{\circ}$ C. gepasteuriseerde flesschenmelk, die 24 uur bewaard was, weer *B. coli* kunnen aantoonen, die blijkbaar „hitzeresistent” was en zich langzamerhand weer begon te ontwikkelen. Voor dergelijke stammen is dus de pasteurisatie een soort „Auslese”, waarop een „Wachstums-hemmung” volgt.

Velen (o.a. *Schmidt, Meurer, Swenarton* e.a.) klagen er over, dat melk die goed den pasteur verlaat, in haar verderen loop door het bedrijf door foutieve behandeling vaak weer geïnfecteerd wordt door leidingen, verpakkingsmateriaal e.d.

3. Welken invloed hebben de diverse factoren, die bij de winning en behandeling een rol spelen op het colicijfer der melk?

Zooals reeds is uiteengezet, bestaat er vanaf het oogenblik der winning voortdurend gelegenheid dat de melk met coli-achtigen besmet wordt, en is het à priori niet te verwachten, dat een of andere besmettingsoorzaak domineert, hoewel verschillende auteurs dit beweren, zonder daarvoor nochtans steeds steekhoudende bewijzen aan te voeren. Het is trouwens ook van minder belang voor de waarde die de melk uiteindelijk heeft, als bewezen kan worden dat in alle opzichten goed, maar zonder overdrijving, gewonnen en behandelde melk nóóit meer dan een bepaald aantal colikiemen behoeft te bevatten.

Koning is van meening, dat de stallucht en in het algemeen de zindelijkheid van koeien en stal van veel invloed zijn op het coligehalte der melk. *K.* acht zelfs het colicijfer een betere aanwijzing voor de al of niet zindelijke wijze, waarop de melk is gewonnen, dan het totaal-kiemcijfer.

Peters is dezelfde meening toegedaan. Hij meent, evenals *Koning* dat de besmetting met *B. coli* hoofdzakelijk veroorzaakt wordt door hetzij invallende mestpartikeltjes, hetzij in de stallucht aanwezig fijn stof dat met colikiemen beladen is. *P.* vond een lager procentisch cijfer, naarmate zindelijker was gemolken, en toonde de luchtinfectie aan door Endoplaten open in den stal te zetten, en na te gaan hoeveel kiemen hierop na een bepaalden tijdsduur tot ontwikkeling

kwamen. Volgens P. heeft diepkoelen op *B. coli* niet zooveel invloed als op andere kiemen.

Stenhouse Williams vestigt de aandacht op het groote belang van steriel melkgerie. In ons land zijn het vooral *Van Oyen* en *Treffers* geweest, die hierop gewezen hebben.

Lerner zegt, dat alle met zijn methode in melk aangetoonde coli uit versche faecaliën afkomstig is, en beoordeelt aldus de bij het melken toegepaste reinheid naar het aantal van deze soort gevonden kiemen.

Schmidt, Swenarton, Meurer, e.a. wijzen er op, dat vooral door melkgerie, verpakkingsmateriaal (flesschen), vuile leidingen enz. op de fabriek e.d. een coli-infectie plaats vindt.

Schmidt constateerde bij melk die lang niet zindelijk gewonnen was, in meer dan 50% der gevallen, dat ze geen *B. coli* per 1 cc bevatte, en concludeert dan ook: „het coligehalte der melk, dat als regel zéér hoog is, is meestal een gevolg van een infectie, die niet in de eerste plaats te wijten is aan onzindelijk melken, maar veeleer aan een onzindelijke en ondoelmatige behandeling o.a. van het melkgerie”.

Velthorst zegt dat de aanwezigheid van *B. coli* in melk praktisch steeds een gevolg is van een besmetting met runderfaecaliën; hij vindt echter bij de coliachtigen in melk dikwijls *B. aërogenes*, en ook tusschenvormen, zoodat hij vermoedt dat deze ook veel in koeienfaeces voorkomen, en zóó de melk besmetten. Hij verwacht in het algemeen geen coliinfectie door slechte vaatwerkreiniging.

Kon vond een groot deel der coli-achtigen in melk te behooren tot het „soil-type”. Zij onderzocht daarna koemest en constateerde dat daarin vrijwel uitsluitend faecale coli voorkwam (in melk van 37 cultures 4 echte faecale coli tegen 33 andere vormen, in faeces van 47 cultures 44 echte faecale vormen, en 3 andere). Het is dus mogelijk, zelfs zeer waarschijnlijk, zegt zij, dat de coli-achtigen in melk niet in de eerste plaats afkomstig zijn van een faecale besmetting, maar van onrein melkmateriaal en/of voedselbestanddeelen.

Mc. Conkey, Rogers Clark en *Evans, Yale* en *Klines* constateerden eveneens het relatief zeer veel voorkomen in melk van het „soiltype”.

Zavagli noemt als voornaamste infectiebron het melken en de

stallucht, en terloops ook het melkgerei. Even later zegt hij dat een colititerbepaling een betrekkelijke waarde heeft, omdat het moeilijk is geheel coli-vrije melk te winnen, en de best gewonnen melk bij verkeerde bewaring en behandeling al spoedig rijk aan *B. coli* wordt. Daarom acht hij een coliproef hoofdzakelijk van belang om te beoordeelen de wijze van bewaring en koeling, niet zoozeer om aan te toonen dat de winning zoodanig vuil is geweest, dat uit dien hoofde hygiënische bezwaren tegen de melk gemaakt zouden moeten worden. Hij spreekt zich zelf dus min of meer tegen. Voor de bepaling der bacteriologische zuiverheid der melk acht hij het vaststellen van het totaalkiemcijfer beter dan de bepaling van den colititer — wenscht dezen laatsten echter voor modelmelk en voor gepasteuriseerde melk in te voeren.

Uit de aangehaalde literatuur valt dus de slotsom te trekken dat: B. coli praktisch gesproken in alle melk voorkomt, dat de hoeveelheid coli-achtigen in de melk een aanwijzing is voor de wijze, waarop de winning, en vooral ook de behandeling hebben plaats gevonden, en dat voor haar aanwezigheid in melk mede voor een belangrijk deel vuil melkgereedschap en verpakkingsmateriaal aansprakelijk zijn te stellen, naast een infectie door faecaliën.

4. De invloed van de coli-achtigen op de kwaliteit der melk

Hoewel in het algemeen de coli-achtigen worden beschouwd als te zijn apathogeen, zijn er toch ook vrij veel auteurs, die een andere meening zijn toegedaan, en die meenen dat, hetzij door woekering in het jejunum, hetzij door thermoresistente toxinen, deze kiemen in melk, zélfs in gedooden toestand, onder bepaalde omstandigheden gevaarlijk kunnen zijn, speciaal voor kinderen, zieken en zwakken (*Plantenga, Camus, Nevot, Orla-Jensen, Bender, Catell* en *Pallaske*; — ook *Bergey* noemt bij de groep *Escherichia* meerdere mensopathogene soorten). Er zijn er zelfs, die aan *B. coli* in melk dezelfde waarde willen toekennen als aan *B. coli* in water, en zich daarbij op het standpunt stellen, dat aanwezigheid van *B. coli* à priori niet uitsluit een besmetting met pathogene met de faeces door menschen uitgescheiden kiemen (*Camus, Vassileff*).

Dit gaat m.i. wel wat te ver, vooral daar een besmetting der melk met menselijke faecaliën, anders dan met sterk verontreinigd

spoelwater althans, tot de zéér groote uitzonderingen, om niet te zeggen onmogelijkheden zal behooren.

Meer kan ik dan ook gevoelen voor het standpunt van *Demeter*, *Sauer* en *Miller*, die van meening zijn, dat in goede rauwe melk enkele coli-achtigen geen bezwaar behoeven te zijn.

Een ander zeer reëel nadeel van de coli-achtigen is, dat zij de houdbaarheid der melk bij een overigens gelijkblijvend kiemcijfer zeer bekorten.

Barkworth, die in 10 jaren van ongeveer 5000 melkmonsters, op melkcursussen gewonnen, bepaalde de houdbaarheid, het totaal-kiemcijfer en den colititer, komt tot de volgende conclusies:

1. De aanwezigheid van *B. coli* verkort den gemiddelden houdbaarheidsduur.
2. Deze verkorting staat in rechtevenredig verband tot het colicijfer.
3. de verkorting is het grootst bij den overgang: niet aan te toonen in 1 cc tot; meer dan 1 à 10 per cc.
4. Lange houdbaarheid is alleen te verwachten bij lage telling (*B. coli* geeft geen temperatuur en duur aan).
5. Bij gelijk aantal coli-achtigen per cc wordt de houdbaarheidsduur korter, naarmate het totaal aantal kiemen stijgt.

B. vond nooit werkelijk lage kiemcijfers als het coligehalte 1 per 0.01 of per 0.001 cc bedroeg.

F. J. Malcolm vond, dat coli-negatieve melkmonsters (negatief in 0.1 cc) vrijwel steeds een lager kiemcijfer hebben dan colipositieve.

Van de 10.458 (in 0.1 cc) coli-negatieve monsters, die hij onderzocht, was het totaalkiemcijfer gemiddeld 25.294, van de 11.399 coli-positieve 160.577.

Tenslotte is ook uit een zuiveltechnisch oogpunt bezien de aanwezigheid van veel colibacteriën in melk een groot nadeel, doordat zij aanleiding kunnen geven tot de bereiding van een minder goed product. Voor gegevens hierover zie men de publicaties van *Breed*, *Ritter*, *Veenbaas*, *Orla-Jensen*, *Yale*, *Sarles* en *Hammer* — e. v. a.

C. Wij komen nu tot de beantwoording der vragen:

„Heeft het zin eventueele variëteiten van *B. coli* uiteen te houden

- a. uit een oogpunt van volksgezondheid
- b. om fouten bij de melkwinning begaan in het oog te doen vallen,
en zijn deze variëteiten gemakkelijk te herkennen?”

Ad. a. Indien men de coli-achtigen beschouwt als apathogeen (wat overigens blijkens het voorgaande nog lang niet zeker is), dan kan men het zoeken naar deze kiemen in water, melk enz. onder anderen opvatten als het speuren naar een aanwijzing omtrent het al of niet met menschelijke faecaliën besmet, en dus eventueel gevaarlijk zijn (door cholera, typhus e.d.) van het onderzoeksobject. Uit dit oogpunt bezien is het van belang om te trachten aan te toonen, of een bepaalde coli-achtige van menschelijk-faecalen oorsprong is, en als scheidingslijn tusschen het al of niet toe laten voor consumptie te nemen het feit, of besmetting met menschelijke faecaliën niet dan al heeft plaats gevonden.

Voor melk ondertusschen is de kans van besmetting met humane colibacillen, als men die met sterk verontreinigd spoelwater uitsluit, betrekkelijk gering. Daarentegen is de kans op infectie met faecale coli-achtigen van dierlijke herkomst des te grooter. Deze laatste zijn, zooals nader zal blijken, niet van die van den mensch te onderscheiden, zoodat een nader zoeken naar specifiek menschelijke faecale colibacteriën niet vruchtdragend kan zijn.

De beteekenis van het opsporen der coli-achtigen in melk ligt dan ook, zooals in de voorgaande hoofdstukken reeds is uiteengezet, op ander terrein. Een nadere determinatie kán dus hoogstens zin hebben om uit te maken, of melk met faecale (menschelijke of dierlijke), dan wel met tot de niet-faecale soorten gerekende coli-achtigen was besmet, om aan de hand daarvan te beslissen ten aanzien van de fouten bij de winning enz. begaan.

Vele onderzoekers, speciaal ook Amerikaansche, hebben getracht een scherp onderscheid tusschen wèl en niet faecale coli te vinden, en wel door als criteria hiervoor te nemen de navolgende punten:

1. De vergisting onder zuur- en gasvorming van glucose bij 45° C.

(Eykman)

2. Het gedrag in saccharose- en dulciethoudend milieu. (*Mc. Conkey*)
3. De verhouding in het in glucose-bouillon gevormde gas van CO_2 tot H_2 (*Smith, Rogers Clark en Davis, Rogers Clark en Evans*, en in den laatsten tijd ook *Demeter en Sauer*)
4. De ein-pH bij de vergisting van glucose, en het gedrag ten opzichte van methylrood (*Clark en Lubs, Winslow Kligler en Rothberg, Kligler Clark en Lubs, Ayers en Rupp, Paine*)
5. De vorming in glucose-peptonhoudend milieu van acetyl-methylcarbinol, en de reactie hierop van Voges-Proskauer (*Voges en Proskauer, Levine, Harden Walpole en Norris, Chen en Rettger, Kligler c.s., Ayers en Rupp*)
6. De groei in synthetische milieu's, als citraat- en urinezuurhoudende bodems (*Koser*)
7. De eigenschappen van coli-achtigen van bekende herkomst (*Chen en Rettger, Koser, Hicks, Stewart, Klimmer c.s., Kon, Demeter c.s.*, en niet te vergeten *Mc. Conkey*).

Een korte bespreking der publicaties van de genoemde auteurs moge hier volgen.

1. De glucosevergisting bij 45 à 46° C.

Zij berust op de door *Eykman* ontdekte eigenschap van sommige in faeces voorkomende coli-achtigen om glucose bij 45 à 46° C. te splitsen onder vorming van zuur en gas. Er zijn auteurs, (*de Graaff*), die de uitspraak „faecale coli” van den positieven uitslag dezer proef afhankelijk stellen. Nog méér schrijvers echter verklaren zich tegen de *Eykman*proef, omdat deze alleen bij een positieven uitslag iets zeggen kan, maar bij een negatieven niets. Zeer veel coli-achtigen kunnen bij de hooge broedtemperatuur, ook al zijn ze van duidelijk faecalen oorsprong, niet groeien, althans geen gas vormen (*Koning, Gärtner, de Graaff* en ook *Eykman* zelf).

Voor de melk zou een positieve *Eykman*proef dus besmetting met faecale coli bewijzen; een negatieve kan, bij aanwezigheid van andere coli-soorten geen nader besluit over de infectie toelaten.

2. Het gedrag in saccharose- en dulciethoudend milieu

Wij zagen reeds, dat *Mc. Conkey* op grond o.a. van het gedrag

in voedingsbodems met saccharose en dulciet, meende de coli-achtigen in vier hoofdgroepen te moeten scheiden, n.l.:

- a. De groep *B. vesiculosus*
- b. „ „ *B. coli communis*
- c. „ „ *B. neapolitanus*
- d. „ „ *B. lactis aërogenes*.

Mc. Conkey isoleerde nu uit faeces van gezonde menschen alle vier de groepen; het minste groep d) (de aërogenesgroep).

Bij faeces in geval van darmaandoeningen was er niet zooveel verschil.

Uit 23 monsters faeces kreeg hij 241 stammen, waarvan slechts 65 saccharosevergisters, en maar in totaal 4 keer de eigenlijke *B. aërogenes*. *B. cloacae* (*Jordan*) vond hij nooit. De verhouding der groepen was 34 : 38 : 15 : 12.

In 11 monsters dierlijke faeces vond hij alle vier de groepen, maar nooit *B. aërogenes* in engeren zin. De groepsverhouding was hier 22 : 27 : 43 : 7.

Bij melk vond Mc. Conkey iets eigenaardigs. Waar er toch een groote kans is, dat melk met koemest verontreinigd wordt, mocht men verwachten, dat de verhouding der coli-achtigen ongeveer dezelfde was als in koeienfaeces. Het bleek in waarheid juist andersom te zijn n.l.:

32½ *B. vesiculosus* 15 *B. coli communis* 20 *B. neapolitanus* en 32½ *B. lactis aërogenes*.

Van de ongeveer 500 stammen uit menschelijke en dierlijke faeces behoorden er tot groep b. (saccharose —, dulciet +), dus tot de zuivere *B. coli* 37%.

Mc. Conkey vermengde menschelijke faeces met water, en liet dit 45 dagen staan, waarna hij wederom de eigenschappen van geïsoleerde cultures bepaalde. Ook hierin vond hij geen enkelen keer de klassieke *B. lactis aërogenes*, en hij begon als gevolg van al deze experimenten te twijfelen, of er inderdaad zooveel *B. lactis aërogenes* in de faeces voorkwam, als men steeds beweerd had.

Mc. Conkey trekt uit zijn zeer uitgebreide proeven o.a. deze conclusies:

Van 625 lactosevergisters uit faeces zijn er maar 4 als *B. aërogenes* en 19 als *B. cloacae* geïdentificeerd. 18 van deze 19 stammen vervloeiden gelatine niet na 6 weken, wèl na 3 maanden.

De Voges-Proskauerreactie is alleen positief bij aanwezigheid van *B. aërogenes* en/of *B. cloacae*.

Verder zegt Mc. C.:

„Er is geen middel om humane van dierlijke faecale lactosevergisters te onderscheiden, of die uit zieke van die uit gezonde faeces”, en vervolgt dan:

„De groep *coli communis* (althans de dulcietvergisters) is steeds aanwezig in de faeces van volwassenen en zuigelingen, (zoowel menschelijke als dierlijke), en schijnt in nauwer verband te staan met de faeces dan de andere groepen, wat van belang kan zijn voor het wateronderzoek.”

Een nadere indeeling der coli-achtigen op grond o.a. van de vergisting van saccharose en dulciet vindt men ook bij de groepen *Escherichia* en *Aërobacter* van *Bergey*. Evenmin als bij *Mc. Conkey* is ook hier te vinden, dat op grond van het bezit of gemis dezer eigenschappen een bepaalde kiem definitief bij de wèl of de niet faecale groep van coli-achtigen is in te deelen.

3. De verhouding in het in glucose-bouillon gevormde gas van CO_2 tot H_2

Reeds *Theob. Smith* merkte in 1896 op, dat de eene stam in een bepaald milieu veel meer gas vormde dan de andere, en dat het groeien van de totale gashoeveelheid hoofdzakelijk te danken was aan CO_2 toename, terwijl de hoeveelheid H_2 min of meer constant bleef.

Rogers, Clark en *Davis* onderscheiden bij een groot aantal uit melk verkregen stammen naar de verhouding (ratio) van CO_2 tot H_2 , en het totale in glucose-bouillon bij $30^\circ C.$ in 7 dagen ontwikkelde gasvolumen 3 groepen, n.l.:

GROEP	Gasratio	tot 10 cc gas	10—14 cc	14—16 cc	boven 16 cc
1. low ratio.	0.95—1.37	100 %	0	0	0
2. high „	1.5 —2.0	0	$62\frac{1}{2}$ %	$37\frac{1}{2}$ %	0
3. high „	boven 2.0	0	17.2 %	65.6 %	17.2 %

Groep 1. blijkt minder fermentatief vermogen te hebben dan de andere.

Volgens deze schrijvers komt de groep 1. (low ratio) zeer veel, hoewel niet voor 100%, overeen met de oorspronkelijke door *Escherich* beschreven coli, en daarom willen zij deze groep als de eigenlijke coligroep beschouwen. Zij beschrijven deze groep als volgt: „Kleine, dikke, Gram-negatieve staafjes, gewoonlijk, maar niet steeds beweeglijk. Indol wordt door verreweg de meeste cultures gevormd, en nitraat als regel gereduceerd tot nitriet. Onder anaërobe omstandigheden wordt neutraalrood meestal gereduceerd, in glucose-bouillon is de gas-ratio CO_2 tot H_2 ongeveer 1/1, de totale hoeveelheid gas 6—8 cc. Lactose, laevulose en galactose worden steeds vergist (onder zuur- en gasvorming), gelatine zelden vervloeid.

Rogers, Clark en *Evans* onderzochten in aansluiting hieraan 150 uit koeienfaeces geïsoleerde stammen.

Hierbij vonden zij slechts één vertegenwoordiger uit de high-ratiogroep, hoewel zij op verschillende wijze trachtten deze groep er speciaal uit te halen.

Bij uit melk geïsoleerde cultures vonden zij daarentegen ongeveer 48% high-ratiostammen; deze komen dus hoogstwaarschijnlijk niet uit de faeces, maar ergens anders vandaan.

Rogers Clark en *Evans* vonden bij 166 uit granen geïsoleerde stammen bijna nooit een lage gasratio, maar bijna steeds een hoge (> 1.90), vrij vaak gelatinevervloeiing, en heel weinig indolvorming.

Zij concludeeren: „Binnen de grenzen der coligroep zijn er diverse, wèl te definieeren subgroepen, die elk van bepaalde herkomst zijn; één hiervan leeft vooral in den digestietractus; deze heeft een lage gasratio, vormt vrijwel steeds indol, en vergist dulciet. Een andere soort, met hoge gasratio, is de op granen meestal voorkomende, die soms gelatine vervloeit, doorgaans geen indol vormt, saccharose wèl en dulciet niet vergist”.

Verder vinden deze schrijvers nog diverse langzame vervloeiers die om hun eigenschappen in de coligroep thuis hooren.

Gewoonlijk zijn groepen van 2 of 3 eigenschappen al of niet aanwezig bij de diverse soorten, zoodat tusschen bepaalde eigenschappen een soort correlatie schijnt te bestaan.

Demeter en *Sauer* vonden bij een aantal uit melk geïsoleerde stammen, dat er een bepaald verband was tusschen totaal gas-

volumen en de verhouding H_2 tot CO_2 ; hoe meer gas er gevormd werd, hoe meer CO_2 er relatief in voorkwam.

Het zou dus fundamenteel onjuist zijn het begrip „bact. coli” bij het melkonderzoek te beperken tot de faecale coli (low-ratio), omdat men dan de verwante vormen, afkomstig uit andere besmettingsbronnen, zou missen. Een criterium op de „coli-infectie in melk” moet dus zoowel de low- als de high-ratio vormen omvatten, alsmede de tusschengelegene.

4. De eind-pH bij de vergisting van glucose en het gedrag ten opzichte van methylrood

Clark en Lubs zeggen, dat blijkbaar de gasratio een aanwijzing is voor een fundamenteel verschil in metabolisme der onderscheidene microorganismen, dat ze echter veel te moeilijk is te bepalen voor het routineonderzoek, en dat het dus wenschelijk is, te zoeken naar eigenschappen, die nauwkeurig en rechtstreeks samenhangen met de gasratio.

In navolging van *Michaëlis* en *Marcora* vonden zij, dat lowratio-stammen in een geschikt milieu zuur vormen tot een concentratie van 1 tot 5 maal 10^{-5} H (pH 5 à $4\frac{1}{2}$), terwijl de highratiogroep reeds bij een pH van 6 à $6\frac{1}{2}$ ophield zuur te vormen.

C. en L. gebruikten als milieu $\frac{1}{2}$ à 1% pepton Witte, $\frac{1}{2}$ à 1% glucose en $\frac{1}{2}$ % K_2HPO_4 , dat 3 à 5 dagen bij 30° C. werd bebroed.

Als indicatoren, die in deze pH-reeks bruikbaar zijn, noemen zij paranitrophenol v. *Sørensen*, dat bij pH 5 kleurloos is, en bij pH 6 geelgroen, of methylrood v. *Palitzsch*, dat bij pH $4\frac{1}{2}$ à 5 rood is, bij 5 à 6 begint om te slaan, en boven 6 geel is. Zij prefeeren de laatste.

De highratiogroep laat het milieu dus geel, de lowratio maakt het rood; men spreekt dan van een positieve methylroodproef.

Bij hun proeven vonden C. en L. een correlatie van 100% tusschen eind-pH en gasratio.

Ook *Winslow*, *Kligler* en *Rothberg* zeggen, dat de destructie van de koolhydraten in hooge mate constant is, en nauw samenhangt eensdeels met den aard van het micro-organisme, anderen-deels met de structuurformule, van den suiker enz.. Zij vonden,

dat de werking van *B. coli* en *B. aërogenes* ophoudt, als de pH kleiner wordt dan 5.

Volgens *Levine* is voor het ontstaan der methylroodreactie na 48 uur bebroeden een temperatuur van 37° C. noodzakelijk. Bebroedt men 72 tot 120 uur, dan komt het er niet op aan, of 30° of 37° C. gebruikt worden.

Conclusie: Men zou dus in de methylroodreactie een criterium hebben ter onderscheiding van lowratio en highratiovormen, of wel van echte faecale coli en van elders afkomstige, en daarmee in deze reactie een aanwijzing kunnen hebben voor de wijze van besmetting der melk.

5. De vorming in glucose-peptonhoudend milieu van acetyl-methyl-carbinol, en de reactie hierop volgens *Voges-Proskauer*

M. Levine vestigt de aandacht op het feit, dat bij vergisting van glucose, in glucose-peptonwater *v. Clark* en *Lubs*, door coli-achtigen, ontstaan: CO₂, H₂, alcohol, succinezuur, melkzuur, mierenzuur en ook 2—3 butyleenglycol CH₃—CHOH—CHOH—CH₃, dat alleen door de aërogenes-cloacaegroep wordt geoxydeerd tot acetyl-methyl-carbinol CH₃—CHOH—CO—CH₃, hetwelk met 10% KOH bij aanwezigheid van pepton eosinerood kleurt. Het schijnt, dat er door de toevoeging van KOH een verdere oxydatie plaats vindt tot diacetyl CH₃—CO—CO—CH₃; dit reageert met een peptonbestanddeel, en geeft dan meteen een „pink colour with a green fluorescence”.

In 1895 beschreven *Voges* en *Proskauer* (cit. n. *Tanner*) deze reactie voor een cultuur van bac. suipestifer.

Later hebben *Harden* en *Walpole*, en *Harden* en *Norris* (cit. n. *Tanner*) haar ook beschreven, zonder echter een verklaring te kunnen geven.

Behalve de aërogenes-cloacaegroep zouden ook *b. subtilus* en *b. mesentericus vulgatus* deze reactie geven. Van 167 stammen van coli-achtigen van verschillende herkomst vond *Levine* dat alleen zij die niet positief reageerden met methylrood, een positieve *Voges-Proskauer*reactie gaven. Bij stammen uit faeces vond hij geen enkele V. P. positief.

Gebruikt men andere suikers als glucose, dan schijnt ook de faecale coli in sommige gevallen acetyl-methyl-carbinol te kunnen

vormen. (*Harden, Norris, Ferreira* e.a.). Wij moeten dus persé gebruiken glucose, en wel liefst in $\frac{1}{2}$ tot 1% in peptonwater met bifosfaat.

Er is dus een directe parallel tusschen de methylrood- en Voges-Proskauerreacties, en de gasratio.

In een nadere publicatie zet *Levine* dan uiteen, dat in enkele van zijn bij 30° C. gekweekte stammen een reversie optrad. Deze zouden eerst methylroodpositief, en vervolgens -negatief geworden zijn.

Chen en *Rettger* konden soms met 10 tot 14 uur bebroede bodems al een positieve reactie krijgen; deze schrijvers zeggen voorts: „De soort pepton, die gebruikt wordt, doet er niet toe, de duur van bebroeden (1 tot 5 dagen) evenmin”.

Verschillende stammen vertoonen een heel verschillend intensieve reactie.

Conclusie: *B. coli* uit faeces zou dus zijn lowratio, methylrood positief en Voges-Proskauer negatief.

B. coli van elders zou dus zijn highratio, methylrood negatief en Voges-Proskauer positief.

6. Het kweken in synthetische milieu's

Koser poneerde de stelling, dat in de gebruikte voedingsbodems de koolstofbron niet steeds behoeft te zijn een zoo gecompliceerde verbinding als een hoogere alcohol of suiker, en dat de stikstofbron een anorganische kan zijn. Met synthetische bodems werkende krijgt men volgens *K.* een goed inzicht in de minimum-bestaansvoorwaarden van een bepaalde bacteriesoort, en ervaart dan, dat *B. aërogenes* het meest uitgebreid vergistend vermogen heeft. *K.* werkte met een standaardvloeistof, waarin 5⁰/₀₀ NaCl, 0.2⁰/₀₀ MgSO₄ 7 aq., 1⁰/₀₀ NH₄H₂PO₄ en 1⁰/₀₀ K₂HPO₄ (als stikstofbron werd ammoniumfosfaat gebruikt), waarin hij beurtelings als koolstofbron 18 verschillende organische zuren deed, tot een concentratie van ongeveer 2⁰/₀₀, benevens NaOH, tot de pH was 6.7—6.8

Zelfs bij heel lichte enting vanaf een goed gegroeide jonge agarcultuur, kreeg hij in dit milieu na 1—7 dagen bij 30° C. goeden groei.

Voor al de éénbasische lagere vetzuren werkten groeibevorderend, de hoogere niet.

K. ging na bij welke concentratie van het zuur hij het snelste troebeling kreeg (methode *Holm* en *Sherman*) en beschouwde deze als de beste. Bij de 50 coli-achtigen, die hij naar hun methylrood- en Voges-Proskauerreacties indeelde in faecale en aërogenes-stammen, zag hij dat op citraathoudende bodems alleen de laatste groeiden na 24 à 48 uur. Verder vond hij, dat speciaal aërogenes-achtigen de eigenschap hebben om als eenige stikstofbron genoeg te nemen met de stikstof uit den purinekern van urinezuur e.d..

7. De eigenschappen van coli-achtigen van bekende herkomst

Chen en *Rettger* vinden het voor een classificatie der coli-achtigen absoluut noodig dat, naast het toepassen van wèl gedefinieerde onderzoekingsmethoden, men de normale herkomst der gevonden bacterie mee laat tellen.

Zij bepaalden de relatieve frequentie van de als *B. coli* en *B. aërogenes* beschreven typen in vuil, dat naar menselijke berekening vrij was van faecale besmetting van menselijken of dierlijken oorsprong, en hielden als limiet tusschen deze twee de Voges-Proskauerreactie, de methylroodreactie en de gasratio. Zij entten direct van de „soil” op platen, om de verhouding waarin de diverse coli-achtigen voorkwamen beter te doen uitkomen.

Van de 467 stammen uit „soil” waren er 20 van het coli- en 447 van het aërogenes-type. (V.P. +, M.R. —, highratio).

Van de 173 stammen, die zij daarna kweekten uit menselijke en dierlijke faeces, behoorde geen enkele tot de aërogenes- of cloacaegroep.

Veel vertegenwoordigers van het „soil”-type zouden niet goed groeien bij 37° C. Daarom bevelen de genoemde auteurs aan, om bij 30° C. de bodems 3—5 dagen te bebroeden, vooral glucose-peptonwater voor V.P.- en methylroodreactie. Zij vinden na 3 dagen, speciaal in het synthetische milieu met nitraat en suiker voor *B. aërogenes* vaak een veel lagere pH dan 6.0 (soms tot 4.5). Na 5 dagen is in het synthetische milieu, of dat met pepton Witte geen enkele pH meer beneden 6.0. Bij gebruik van pepton Difco waren na 5 dagen nog 26 aërogenesstammen op een pH < 6.0, en dus methylroodpositief. Het grooter worden der pH voor *B. aërogenes* moet geweten worden aan secundaire alcalivorming (NH₃ uit pepton).

(*Kligler Clark* en *Lubs* hebben zich met deze laatste kwestie ook bezig gehouden. Zij twijfelen, of alleen NH_3 aansprakelijk is te stellen, en vermoeden dat *B. aërogenes* minder zuur en meer gas vormt dan *B. coli*. *Ayers* en *Rupp* verklaren het verschijnsel door aan te nemen, dat tegelijk een zuur- en een alcaligisting zouden plaats vinden, waardoor de uit suikers gevormde organische zuren zouden worden gemaakt tot carbonaten en bicarbonaten.)

Chen en *Rettger* concludeeren uit hun proeven, dat voor een onderscheid tusschen *B. coli* en *B. aërogenes* voor 100% goed zijn de methylrood- en de Voges-Proskauerreactie, het urinezuurmilieu v. *Koser*, de gasratio en tot op zekere hoogte ook het in de „presumptive test” ontwikkeld gasvolume in de Durhambuis. Van veel minder beteekenis zijn saccharose- en adoniet-vergisting en indolvorming. Zij beschrijven 18 stammen, die M.R. en V.P. beide positief waren, hoewel de pH maar even beneden 6 lag. Na ettelijke keeren overenten („replating”), waren van deze 18 stammen er 14, waarvan de pH tot boven 6 gestegen was. Bij 4 gelukte dat niet; deze bleven dus M.R. en V.P. positief. Alle 18 stammen vergistten citraat.

F. S. Paine beschrijft stammen, die aanvankelijk M.R. negatief, en V.P. positief waren, maar bij verder kweken M.R. negatief bleven, echter V.P. negatief werden, doordat zij de actyl-methylcarbinol verder afbraken.

Aan een nadere publicatie van *Koser* ontleenen wij, dat hij uit faeces 118 en uit vuil 72 stammen isoleerde, en met de bron van herkomst vergeleek het citraat- en urinezuurvergistend vermogen, en de M.R. en de V.P. reactie. K. komt tot de conclusie dat er bij sommige stammen een variabele M.R. en V.P. reactie is.

Van 118 faecale stammen waren 109 M.R. + en V.P. —, 107 citraat- en 108 urinezuur-negatief. 2 M.R. positieve waren dus ook citraat-positief; deze bleken bij nader onderzoek tot de aërogenes-groep te behooren.

Koser vond dus bij 118 faecale stammen 9 keer *B. aërogenes*.

Van de 72 „soil”-cultures waren 97.2% citraatvergisters, 59.7% urinezuurvergisters, 52.8% V.P. positief, en 51.4% M.R. negatief. 11.1% waren eerst M.R. + en V.P. —, maar werden later definitief M.R. — en V.P. +, 34.7% waren constant M.R. + en

V.P. —. Van deze 34.7% M.R. + soilstammen (in totaal 25 stuks) waren er 23 die citraat vergisten.

Dit is dus in lijnrechte tegenspraak met wat de M.R. positieve stammen uit faeces te zien gaven.

Dit aantal volgens de M.R. reactie tot de faecale stammen behorende coli-achtigen uit „soil” is veel grooter dan andere auteurs vinden (*Levine, Rettger, Chen, Rogers Clark en Evans*).

Koser vindt dus de M.R.- en de V.P.-reactie lang niet altijd betrouwbaar, en concludeert, dat de beste aanwijzing voor de herkomst van een bepaalden coli-stam ligt in het al of niet vergisten van citraat.

De Graaff is het met dit laatste niet eens.

Tenslotte vestigt in 1926 Koser er nog eens de aandacht op, dat het van het allergrootste belang is, om absoluut zuivere zuren te nemen. Kleine verontreinigingen kunnen reeds onzuivere uitkomsten geven. In dit verband is het ook noodig, om op de synthetische bodems zéér kleine hoeveelheden cultuur te enten, daar anders te veel organische stof mee overgaat.

Hicks vergeleek 150 uit faeces geïsoleerde stammen met 50 uit „soil” waarvan hij vrijwel zeker was, dat het nooit bezoedeld was geweest door menselijke of dierlijke faecaliën; hij onderzocht de verhouding citraatvergisting: indolvorming: M.R.- en V.P.-reactie, en komt tot de conclusie, dat de citraatproef een betere indicator is voor de herkomst, dan de indolproef.

De M.R.- en V.P.-proef acht hij niet voldoende betrouwbaar. Hij wil alleen stammen, die citraat + en indol — zijn, beschouwen als niet-faecaal.

Hieronder moge volgen een kort overzicht van enkele publicaties der laatste jaren, die betrekking hebben op het nader determineeren door middel van de boven omschreven methoden, van coli-achtigen die geïsoleerd zijn uit melk.

Klimmer Haupt en Borchers kweekten uit melk een aantal stammen, die wel tot de coli-achtigen, maar nòch tot de zuivere coli-, nòch tot de aërogenegroep behoorden, maar tusschenvormen waren.

Phyllis, M. Kon isoleerde uit melk een aantal stammen (30), waarbij de M.R.- en de V.P.-reactie beide positief verliepen. Door

herhaalde malen overenten wist zij een scheiding te maken bij 24 stammen, die aanvankelijk intermediair waren, en meent dus, dat de oorspronkelijk uit melk verkregen stammen mengcultures van coli en aërogenes zijn geweest. Bij 6 gelukte dat echter niet en deze bleven intermediaire eigenschappen vertoonen. Zij vindt de M.R.- en de V.P.-reactie niet erg betrouwbaar, en prefereert voor scheiding tusschen *B. coli* en *B. aërogenes* den citraatbodem van *Koser*, waaraan 1/2500% brilliantgroen is toegevoegd.

F. J. Malcolm heeft geprobeerd na te gaan of de aard der door hem uit melk geïsoleerde coli-achtigen (hij zegt uit één monster meest maar één soort coli te isoleren) ook wijst op een speciale wijze van besmetting. In de stalperiode vindt hij 71% der stammen te behooren tot de faecale coli, en 7.5% tot de groep aërogenes. In den zomer zijn deze getallen respect. 40.4% en 22.4%.

Ook *M.* vindt een groot aantal van allerlei varierende tusschenvormen (in totaal ongeveer 21%). Hij zegt verder, dat de herkomst van *B. aërogenes* en de intermediaire vormen nog steeds niet is opgelost. Meerdere auteurs o.a. *Hay* zouden ze door speciale ophoopingmethoden in niet onbelangrijke mate in de faeces hebben aangetoond, vooral in gevallen van diarrhee.

Malcolm veronderstelt nu, dat de weekere defaecatie als gevolg van den weidegang, in den zomer oorzaak kan zijn o.a. van het grootere percentage aërogenes. In elk geval vindt hij het gevaarlijk om uit de aanwezigheid van een bepaalde soort van coli-achtigen met zekerheid te willen concludeeren tot een bepaalde wijze van besmetting der melk (of met faeces, of met gewoon vuil, of door spoelwater en vaatwerk, enz. enz.).

Malcolm knoopt dan ook betrekkelijk weinig commentaar aan de bovenstaande, door hem geconstateerde en vermelde procentische cijfers vast.

Demeter Sauer en *Miller* isoleerden uit melk 115 stammen van coli-achtigen, die zij door herhaaldelijk overenten zuiverden. Het bleek hun, dat van deze 115 stammen maar 15.2% was te rekenen tot de typische coli (d.w.z. indol +, methylrood +, Voges-Proskauer —, en citraat —), en 10.1% tot de typische aërogenes (indol —, methylrood —, Voges-Proskauer +, en citraat +). Verder stonden nog 10.1% der stammen dicht bij de groep coli, zonder nochtans alle typische eigenschappen te vertoonen, en 9.1%

dicht bij de groep aërogenes. De rest der stammen (55.5% van het totaal) bestond uit tusschenvormen, die zonder meer niet bij één der beide groepen waren in te deelen. Na een jaar te zijn bewaard hadden alle 115 stammen nog dezelfde eigenschappen, als aan het begin van het onderzoek.

Lipska tenslotte bepaalde de eigenschappen van 200 door haar uit melk gekweekte stammen, die zij eerst een rigoureuus zuiverings-procédé liet ondergaan. In tegenstelling met de meeste auteurs van den laatsten tijd heeft zij deze kiemen niet nader ingedeeld naar hun gedrag bij de M.R.- en de V.P.-reactie en op citraathoudende bodems enz., maar naar het al of niet vergisten onder zuur- en gasvorming in een standaardoplossing van pepton en neutraalrood van: glycerine, sorbiet, dulciet, saccharose, raffinose, en salicine. Daarnaast gaat zij van de aldus in groepen ingedeelde coli-achtigen wèl na het gedrag bij de bovengenoemde reacties, en ook indol- en H₂S-vorming.

Zij komt dus tot de oude indeeling in de groepen *B. neapolitanus*, *B. lactis aërogenes*, *B. coli communior*, *B. coli commune* en *B. acidi lactici*. Ook naar dezen maatstaf ingedeeld blijken er een aanzienlijk percentage intermediaire vormen te zijn.

Zij deelt tenslotte mede, dat *B. lactis aërogenes* en *B. acidi lactici* het meest voorkwamen, en verder, dat de aanwezigheid van de andere soorten wijst op faecale besmetting. Zij heeft ook nog van 30 uit faeces gekweekte stammen de eigenschappen nagegaan, en daarbij o.a. gedetermineerd 7 *B. coli commune*, 3 *B. lactis aërogenes*, echter geen enkele *B. acidi lactici*. Zij is van meening, dat niet alle stammen uit de faeces zich vlot in melk kunnen ontwikkelen, en omgekeerd evenmin. Een van haar conclusies luidt: „L'étude des propriétés biochimiques prouve la grande variabilité des souches de chaque espèce de coli-bacille”.

Uit het voorgaande volgt dus, dat het antwoord op de aan het begin van dit hoofdstuk gestelde vragen moet luiden:

- a. Uit een oogpunt van volksgezondheid heeft het geen zin om te trachten, bij het vinden van coli-achtigen in melk, de groep waartoe deze behooren nader te determineren.
- b. Evenmin heeft een nadere determinatie beteekenis voor het opsporen van bepaalde fouten in de melkwinning; vooral ook, wijl

een zoodanige determineering bij uit melk verkregen stammen in zeer veel gevallen onmogelijk schijnt te zijn.

Verder blijkt dat het antwoord op de derde vraag moet luiden:

- a. Dat in een bepaald concreet geval nooit met absolute zekerheid een scheiding is te maken tusschen wèl en niet faecale coli, hoewel dit met vrij groote waarschijnlijkheid kan geschieden door middel van de citraatvergisting, de V.P.- en de M.R.-reactie, en tot op zekere hoogte door de glucosevergisting bij 45° C., en de saccharose- en dulcietvergisting bij 37° C.
- b. Dat een determineering zéér veel en omslachtig werk met zich brengt, en volgens a. nog niet eens een 100% betrouwbare uitkomst geeft.
- c. Dat het vinden van een vertegenwoordiger uit de groep coli in water, melk e.d. met vrij groote (tot absolute) zekerheid wijst op faecale besmetting, dat echter vertegenwoordigers van de groep aërogenes door verschillende auteurs (o.a. *Mc. Conkey*, *Koser*, *Bergey* en *Lipska*) soms in niet onbelangrijke mate in faeces (hoewel weinig in humane faecaliën) zijn aangetroffen, en dat er vrij veel tusschenvormen schijnen voor te komen, waarvan men uit hun cultureele eigenschappen niet kan concluderen, of ze van faecalen dan wel van niet-faecalen oorsprong zijn.

Wij komen nu tot de beantwoording der vraag:

D. Op welke wijze zijn de coli-achtigen in melk aan te toonen?

1. Algemeene principes

Tot de oudste methoden om coli-achtigen aan te toonen behooren de z.g.n. ophoopings- of „Anreicherungs”methoden, waarbij in een vloeibaar milieu dat speciaal geschikt is voor den groei van deze micro-organismen, hun de gelegenheid geboden wordt zich overvloedig te vermeerderen. In deze milieu's ontstaan geen typische veranderingen, en voor het aantoonen van coli-achtigen is het noodig, dat men deze vanuit het „Anreicherungsmilieu” via z.g.n. selectieve platen isoleert.

Een tweede methode is het uitzaaien van vermoedelijk colihoudend materiaal (melk enz.) op selectieve platen — en te zien, of zich hierop z.g.n. typische kolonies ontwikkelen, die dan weer nader worden gedetermineerd.

Als derde methode kent men z.g.n. industriële methoden, die met 24 tot 48 uur resultaat geven. Ook bij deze methoden krijgen de coli-achtigen de gelegenheid om zich (door een speciale samenstelling van den voedingsbodem) „op te hoopen”, maar tegelijkertijd wordt deze ophooping naar buiten toe zichtbaar door het optreden van veranderingen die voor de coli-achtigen als typisch worden beschouwd. Deze methoden hebben verreweg de meeste toepassing gevonden.

Voorals in Amerika heeft het colionderzoek in melk, en in het bijzonder in water, een zeer groote vlucht genomen, en is tegenwoordig als volgt gestandariseerd:

1. De „presumptive test”, waarbij het betreffende monster zoodanig wordt bewerkt, hetzij door bebroeden bij een speciale temperatuur, hetzij door kweken in een milieu, waaraan tot wering van den groei van andere micro-organismen bepaalde stoffen zijn toegevoegd of onttrokken, dat eventueel aanwezige coli-achtigen zich zooveel mogelijk vermeerderen, en dit door een bepaalde, voor „coli” typische, verandering in den voedingsbodem te kennen geven.
2. De „partially confirmed test”, waarbij van de positieve of dubieuze „presumptive test” een zekere hoeveelheid wordt afgestreken op een selectieve plaat, en vorm, kleur enz. der zich ontwikkelende kolonies wordt nagegaan.
3. De „totally confirmed test”, waarbij de eigenschappen van de kiemen uit de z.g.n. typische kolonies volgens 2. nader worden onderzocht, en bewezen te zijn die van „coli”.

Niet alle methoden, die voor wateronderzoek te gebruiken zijn, kunnen worden toegepast op melk, omdat deze laatste doorgaans veel kiemrijker is, en hier dus grooter gevaar bestaat dan ginds, dat andere bacteriesoorten de coli-achtigen overwoekeren, of, wat nog erger zou zijn, doen afsterven door hun stofwisselingsproducten (*Orla-Jensen, Pien en Bachimont, Luxwolda, Swenarton e.a.*).

Het is dus zaak, om bij het onderzoek van melk op coli-achtigen de proef zoo in te richten, dat de „presumptive test” eenzedeels een zoo groot mogelijk aantal dezer kiemen tot ontwikkeling laat komen, en anderendeels, dat niet tot de coligroep behorende micro-

organismen de voor deze groep typische veranderingen niet geven.

Hoe betrouwbaarder en vollediger de presumptive test, hoe meer betekenis deze krijgt voor het colionderzoek in melk.

Een routineonderzoek der melk op coli-achtigen zal n.l. alléén betekenis hebben, als het op snelle en eenvoudige wijze een betrouwbaar resultaat geeft, wat practisch hierop neerkomt, dat de presumptive test beslissend zal moeten zijn, en de partially en totally confirmed tests wegens hun groote kosten aan tijd en materiaal achterwege zullen kunnen blijven.

2. Nadere bespreking der diverse methoden om coli-achtigen in melk aan te toonen

A. De ophoopingsmethoden

Hierbij wordt getracht de coli-achtigen een gunstige kans op ontwikkeling te geven door:

- a. Kweeken in 1⁰/₀₀ carbolzuurhoudend milieu (*Vincent*), voor melk betrekkelijk weinig toegepast, het meest nog in peptonwater. *Pien* en *Bachimont* prefereeren voor isoleering van coli-achtigen uit melk het milieu v. *Vincent* boven alle andere. Zij enten echter niet direct de melk op carbolpeptonwater, omdat carbol ook de ontwikkeling van coli remt, maar eerst op gewoon peptonwater. Krijgen zij hierin indolvorming, dan enten ze hiervan op carbolpeptonwater, waarin wederom indol ontstaat.

De methode *Vincent*, *Pien* en *Bachimont* is, behalve op den groei in 1⁰/₀₀ carbolzuurhoudend milieu, gebaseerd op het indolvormend vermogen. Dit laatste zou lang niet aan alle colistammen inhaerent zijn. Bovendien heeft de genoemde methode het nadeel, van omslachtig te zijn, is dus voor een routineonderzoek voor melk niet te verkiezen, en bij het onderhavige onderzoek niet toegepast. Evenmin is dit geschied met de methode van *Nevot*, die na 24 uur kweeken bij 41½° C. in carbolpeptonwater, nog weer overent op den mineraalagar van *Kufferath*.

- b. Kweeken in zuren bouillon bij 37° C. volgens *Ringeling* (d.i. de methode die het Melkbesluit voor gepasteuriseerde melk aangeeft), heeft het nadeel dat het veel tijd en materiaal kost; in den zuren bouillon ontstaan geen bijzondere veranderingen, die

op de aanwezigheid van coli wijzen. Daardoor is het noodig, dat vanuit de bebroede bouillon via een of andere selectieve plaat coli-achtigen worden geïsoleerd.

Volgens *den Dooren de Jong* staat de methode Ringeling bovendien in gevoeligheid achter bij de ophooping in taurocholaatmilieu, en volgens *Lerner* is er bij de methoden van „Anreicherung”, die hij nader bestudeerde, de indol-, de pegallac- en de Ringeling-methode, niets dat wijst op een voorkeur voor de laatste. Integendeel zou deze minder gevoelig zijn dan de „indolmethode”. Om deze redenen is dan ook bij het volgende onderzoek de methode Ringeling niet toegepast.

B. De selectieve plaatmethoden

Het uitstrijken of uitgieten op selectieve vaste bodems van bepaalde hoeveelheden melk wordt ook toegepast, o.a. door *Velthorst* en *Demeter Sauer* en *Miller*. De eerste maakt hierbij gebruik van de kleine plaatmethode.

Nagegaan wordt hoeveel typische kolonies zich ontwikkelen, terwijl sommige platensoorten bovendien het voordeel zouden hebben, dat direct een onderscheid te maken zou zijn tusschen coli- en aërogenesachtigen.

Al deze platen bevatten lactose; bij alle is echter de groote moeilijkheid ten eerste, om vast te stellen wat nu eigenlijk een typische kolonie is (hiervoor zijn wel aanwijzingen gegeven door de verschillende auteurs, die echter lang niet steeds opgaan), en ten tweede, dat men afziet van het beslissende punt: de gasvorming uit lactose. Om deze redenen, en ook omdat ze te omslachtig zijn, verdient het geen aanbeveling deze plaatmethoden als beslissende presumptieve test te gaan gebruiken, zéker niet voor melk met haar talrijke niet-gasvormende zuurvormende microben. Deze opinie blijken ook *Adams*, *Kessler* en *Swenarton* te zijn toegedaan, terwijl *Lipska* zich als volgt uitspreekt: „On voit, que les caractères macroscopiques des colonies sur le milieu d'Endo n'ont que peu de valeur, et qu'on doit se baser, dans une étude des colibacilles, davantage sur les propriétés biochimiques qui sont plus stables”.

In dit onderzoek zijn de selectieve plaatmethoden dan ook niet toegepast als presumptieve test. Als selectieve bodems kunnen overigens in aanmerking komen: de krystalvioletbodem van *Conradi*

en *Drigalski*, de fuchsine-natriumsulfietagar van *Endo*, de meta-chroomgeelagar van *Gassner*, de Chinablauwagar van *Bitter*, de trypaflavineagar met of zonder broomthymolblauw van *Klimmer*, de eosinemethyleenblauwagar van *Levine*, de lakmoidplaat van *von Wolzogen-Kühr*, en vele andere bodems (*Kufferarth*, *Krumwiede*, *Loeffler*).

C. De industriele methoden,

waarbij bepaalde hoeveelheden melk op verschillende voedingsbodems worden geënt, en uit het optreden van bepaalde, voor coli-achtigen als typisch beschouwde veranderingen tot hun aanwezigheid wordt geconcludeerd. Zij berusten op verschillende aan de coli-achtigen toegeschreven eigenschappen.

- a. Methoden die berusten op de indolvoming in peptonhoudend milieu.

Kraus en *Uhlenhuth* verklaren de indolvorming aldus:

„Indol kan worden gevormd uit tryptofaan (indolalanine), door afsplitsen van alanine.”

Tryptofaan is een aminozuur, dat bijv. wèl in pepton, daarentegen niet in gelatine voorkomt.

Het indol geeft met een weinig nitriet + mineraalzuur nitroindol, een roode kleurstof.

Bij nitrietvormende bacteriën (cholera) is toevoeging van zuur alleen reeds voldoende. Er is voor het gelukken van deze naar *Salskowski* genoemde reactie een optimale hoeveelheid nitriet nodig. Ze is echter niet erg gevoelig.

Men heeft naar andere methoden gezocht om indol te kunnen aantonen. Zeer goed is de reactie van *Ehrlich* met paradimethylaminobenzaldehyd en kaliumpersulfaat, waarbij uit indol binnen hoogstens 5 minuten rosindol, een roodgekleurd aromatisch aldehyde ontstaat.

Volgens *Tobey* (cit. n. Kr. en U.) e.a. is toevoeging van persulfaat niet nodig. De kleurstof lost op in amylalcohol, die soms echter zèlf door het reagens wordt rood gekleurd.

De proef is zeer gevoelig (wijst nog 0.01 mgr. in 10 cc aan).

Om de indolvorming te vergemakkelijken geven o.a. *Hopkins* en *Cole*, *Berthelot* en *Zipfel*, *Neisser* (cit. n. Kr. en U.) en

Folmpers bodems aan, waarin tryptofaan i. p. v. pepton verwerkt is.

Voor indolvorming is zuurstof noodig. De indolvorming zou volgens *Kürschner* (cit. n. Kr. en U.) zeer constant zijn, ook in minder gunstige omstandigheden. Indolpositief zouden zijn *B. coli*, diverse proteusachtigen, en verschillende Gram-negatieve pathogene kiemen, o.a. cholera- en dysenteriebacillen.

Voor melk is de „indolmethode” toegepast in ons land door *Lerner*, en in Frankrijk door *Pien* en *Bachimont*.

Genoemde auteurs klagen over het feit, dat zij herhaaldelijk constateerden, dat bij enten op peptonwater bij de grootere hoeveelheid melk (1 cc) géén, bij de kleinere (0.1 cc enz.) wèl indol ontstond.

Lerner meent dit te moeten verklaren uit het coaguleeren van eiwit, of door het feit, dat *B. coli* liever lactose gebruikt dan melkeiwit, maar geeft hiervoor geen bewijzen.

Pien en *Bachimont* hebben de oorzaak van dit verschijnsel nauwkeurig nagegaan. Zij vonden, dat in melk een concentratie van 4 gram melkzuur per liter de grens is, waarboven *B. coli* niet in leven blijft. In peptonwater, waarin geen caseïne, die als buffer werkt, aanwezig is, vormt $1\frac{1}{2}$ gram per liter de grens.

Enten wij dus 1 cc melk op 10 cc peptonwater (methode *Lerner*), dan bestaat de kans, dat tegelijkertijd naast event. weinige coli-achtigen zéér veel melkzuurstreptococcen aanwezig zijn, zoodat deze uit de in de melk aanwezige lactose zóó snel, en zóó veel zuur vormen (tot een concentratie boven $1\frac{1}{2}$ gram per liter), dat de eerste geen kans krijgen zich te ontwikkelen, en indolvorming achterwege blijft.

Enten wij daarentegen 1 cc melk op 50 à 100 gram peptonwater (methode *Pien* en *Bachimont*), dan kan, al wordt alle lactose vergist, de melkzuurconcentratie nooit stijgen boven $1\frac{1}{2}$ gram per liter, en bestaat er geen kans op onderdrukking van den groei der coli-achtigen, zoodat indolvorming wèl voor den dag komt.

Waar bij deze methoden uitgegaan wordt van een principe, dat niet eigen is aan alle coli-achtigen, speciaal niet aan de groep aërogenes, is het zéér de vraag of deze methode voor melk voldoende zal. Zij heeft, althans toegepast op de wijze van *Lerner*, die direct melk of haar verdunningen op peptonwater ent, het voordeel, dat ze eenvoudig, goedkoop en snel is. Deze laatste overweging, als mede het feit dat de methode *Lerner* in ons land nogal aanbevolen

is, en door den auteur geprefereerd wordt boven b.v. de pegallac- en de Ringelingmethode, heeft mij er toe gebracht om, ondanks de geschetste nadeelen, deze methode bij het volgend eigen onderzoek op te nemen.

b. Methoden die berusten op de veranderingen in neutraalroodmilieu.

De praktische toepassing geschiedt voor melk, door bepaalde hoeveelheden hiervan te kweken in neutraalroodbouillon met of zonder lactose; hierbij wordt dan nagegaan kleurverandering, fluorescentie en eventueel gasvorming.

Rothberger (cit. n. *Gärtner*) maakte in 1898 als eerste bij wateronderzoek opmerkzaam op de eigenschap van *B. coli* om in lactoseagar, die met neutraalrood gekleurd was, een gele kleur met groene fluorescentie en gasvorming te geven.

Aan andere onderzoekers bleek, dat veel andere bacteriesoorten eveneens meer of minder duidelijk deze verandering gaven (*Scheffler*, *Hunter*, *Segali*, *Ferreira Horta* en *Paredes, Rochaix* — ged. cit. n. *Vassileff*). Genoemd worden o.a. *B. pyocyaneus*, *B. fluorescens putridis*, *B. paratyphi* (*Schottmüller*), *B. enteritidis* *Gaertner*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *B. tetani*, *B. malign. oedem.*.

Rochaix, Dufourt en Guerbert (cit. n. *Vassileff*), en vooral *Vassileff* hebben deze zaak nader bestudeerd.

Neutraalrood lost in water robijnrood op; bij toevoeging van alcali, speciaal NH_3 , wordt de kleurstofbase vrij, en verandert hierdoor in waterige oplossing de kleur in oranjegeel.

Laat men op neutraalrood in zuur milieu reduceerende stoffen (waterstof in statu nascendi) inwerken, dan wordt het milieu aardbeirood met licht-groene fluorescentie. In alcalisch milieu daarentegen geven de reduceerende stoffen een gele kleur met groene fluorescentie. Er zijn dus twee tempo's

1. fluorescentie door reductie.
2. geelkleuring door alcali.

De colibacil werkt sterk reduceerend op organische kleurstoffen, speciaal ook op neutraalrood, terwijl vele andere reduceerende kiemen dit onaangetast laten. Doordat hij echter zuur uit suiker vormt, wordt de geelkleuring gestoord.

De meeste der genoemde kiemen geven alleen een groene fluorescentie zonder geelkleuring. Slechts die in staat zijn om in alkalisch milieu te reduceeren (alleen *B. coli* en *B. paratyphi* A en B), geven de volledige reactie.

Vassileff beveelt daarom zeer sterk aan voor melk gebruik te maken van een neutraalroodbouillon zonder lactose, die 24 uur bij $41\frac{1}{2}^{\circ}$ C. wordt bebroed. Anaëroob kweken zou nog beter zijn dan aëroob. Hij maakt verdunningen van de melk, en ent hiervan 5 tot $\frac{1}{4}$ cc op dezen voedingsbodem, en beschouwt den uitslag als positief, als een gele of geelroode kleur met groene fluorescentie ontstaat.

Velthorst heeft voor zijn coli-onderzoek gebruik gemaakt van zuren neutraalrood-lactosebouillon in gistbuisjes, aldus combineerende de ophooping in zuur milieu, gasvorming en fluorescentie. Hij heeft de deugdelijkheid dezer proef nagegaan, door ook bij negatieve uitkomsten van de gistbuis te enten op Conradi-Drigalskiplaten, en de eigenschappen der zich ontwikkelende kolonies te bepalen.

Ook deze methode heeft het nadeel, dat zij berust op een eigenschap die, zooals we reeds zagen, niet inhaerent schijnt te zijn aan alle coli-achtigen (*Lipska* geeft in haar juist verschenen studie een tabel, waaruit blijkt, dat een groot deel der faecale stammen, en een nog veel grooter deel der niet-faecale, in totaal bijna 50%, geen fluorescentie in neutraalroodmilieu gaven). Nochtans leek het mij gewenscht om een neutraalroodbodem op te nemen bij mijn onderzoek, omdat èn van officieele Nederlandsche zijde (het Consumptiejs-Besluit schrijft voor coli-onderzoek, mede het gebruik van zuren neutraalroodlactosebouillon voor), èn van Fransche zijde het gebruik van neutraalroodhoudende bodems sterk is aanbevolen.

Van de geschetste methoden heeft die van *Vassileff* het voordeel van te zijn zeer snel en eenvoudig toe te passen; bovendien geldt bij dezen bodem zuiver en alleen het gedrag ten opzichte van neutraalrood als criterium. Daarom is mijn keuze op dezen bodem gevallen.

c. Methoden die berusten op het kweken in lactosebouillon of lactosepeptonwater, met of zonder toevoeging van indicatoren en/of remmende stoffen.

Deze methoden worden verreweg het meest gebruikt in allerlei

variaties. Zij zijn inderdaad de meest belangrijke, omdat een der weinige zeer constante eigenschappen der geheele coligroep is het ontleden van lactose onder zuur- en gasvorming.

Tanner geeft aan, dat sinds 1917 de American Public Health Association voor wateronderzoek eischt, dat deze proef wordt toegepast als presumptive test. Ontstaat binnen hoogstens 48 uur niet 10% of meer gas, dan wordt de proef zonder meer als negatief beschouwd.

De voornaamste variaties, volgens welke deze methode bij het coli-onderzoek wordt toegepast, zijn de volgende:

1. Het gebruik van gewonen 1% lactosebouillon. Deze heeft het voordeel, dat hij geen enkele remmende stof bevat, en zooveel mogelijk coli-achtigen tot ontwikkeling laat komen.

Obst vergeleek de uitkomsten bij wateronderzoek tusschen dezen bodem en galhoudende milieu's, en komt tot de conclusie, dat de lactosebouillon ongeveer 2.4 à 3.8 maal zooveel coli-achtigen tot ontwikkeling brengt. Het bezwaar is echter weer, dat wij geen enkel wapen in de hand hebben tegenover andere zuurvormende bacteriën, waardoor de mogelijkheid, dat de coli-achtigen overwoekerd worden, en niet voor den dag komen, niet is uitgesloten. Dit bezwaar geldt natuurlijk méér voor melk, met haar doorgaans grooten en gevariëerden kiemrijkdom, dan ten aanzien van water.

N. Ritter heeft naar aanleiding van een vergelijkend onderzoek tusschen wèl- en niet-galhoudende lactosebouillon bij 1899 watermonsters gevonden, dat, als alleen de lactosebouillon zonder gal positief aanwijst, dit in ongeveer 75% der gevallen een miswijzing beteekent.

Adams Kessler en *Swenarton* vonden gewonen lactosebouillon voor melkonderzoek absoluut onbetrouwbaar.

Om gemelde redenen is bij het volgend onderzoek deze voedingsbodem dan ook niet toegepast.

2. Lactosebouillon waaraan gal of galzure zouten zijn toegevoegd.

Jackson was de eerste die dit toepaste. *Jordan* (cit. n. *Tanner*) zeide reeds in 1915, dat de coli-achtigen door dit hulpmiddel in hun groei kunnen worden belemmerd. Hij weet dit aan de gal, die door haar wisselende samenstelling ook wisselende uitkomsten zou geven. Gal werd toegevoegd tot een concentratie van 5%.

In ons land is o.a. door *Veenbaas*, voor melkonderzoek gepropageerd de z.g.n. Pegallac-bodem, waarin pepton, gal, lactose en lakmoes. *Coli* wordt beschouwd aanwezig te zijn, bij gasontwikkeling en kleuromslag. *Lerner* bericht over miswijzingen met dezen bodem.

Wegens het bezwaar der verschillende samenstelling der gal (zie ook *Hansma*) is men inplaats hiervan gaan gebruiken Natriumtaurocholaat, dat in een concentratie van $\frac{1}{2}$ tot 1% aan den voedingsbodem wordt toegevoegd. Tevens gebruikt men een indicator, waardoor naast gasvorming in taurocholaatmilieu zuurvorming wordt aangetoond.

Zoo maakte *Mc. Conkey* gebruik van 1% lactosebouillon + $\frac{1}{2}$ % Na-taurocholaat en lakmoes; *Chalmers* gebruikt voor melk i. p. v. lakmoes broomkresolpurper, dat een duidelijker kleuromslag laat zien (van blauw naar geel). Hij beveelt dezen bodem sterk aan.

Adams, *Kessler* en *Swenarton* gebruiken, eveneens voor melk, als rem voor de (meestal Grampositieve) melkzuurvormers — niet coli-achtigen, gentiaanviolet, terwijl zij tevens, om de remmende werking hiervan op coli te verminderen, gal toevoegen tot een concentratie van 5%.

Salle gebruikt i. p. v. gentiaanviolet krystalviolet.

Volgens genoemde auteurs zou deze proef, die zij vergeleken met lactosebouillon „tout simple”, en lactosebouillon met alleen gentiaanviolet, de beste zijn, en 99 à 100% zekerheid geven, dat een positieve uitslag aan coli te danken is. Zij zijn met hun bewijs hiervoor echter niet verder gegaan, dan dat zij de uit de positieve presumptive test op selectieve platen groeiende „typische” kolonies als bewijs aanvaardden.

In ons land is het *den Dooren de Jong* geweest, die, in navolging van *Mc. Conkey*, een taurocholaatlakmoesoplossing gebruikte, echter gewijzigd. Deze schrijver neemt een oplossing van 1% Na-taurocholaat in leidingwater, en voegt lakmoes bij tot diepblauw. Van gepasteuriseerde melk wordt nu 5 cc bij 5 cc van dezen bodem gevoegd, waardoor een melksuiker- en eiwitconcentratie van ongeveer 2% ontstaat. Gasontwikkeling en kleuromslag duiden op de aanwezigheid van coli; kleuromslag zonder gasvorming is dubieus. Den D. d. J. heeft deze methode vergeleken met de ophoopingsmethode van *Ringeling*, en geconstateerd dat ze beter is.

3. Aan 1% lactosebouillon wordt trypaflavine toegevoegd in een concentratie van 1/100.000. Bij aanwezigheid van coli-achtigen ontstaat in dezen bodem gasontwikkeling. Volgens *Klimmer Haupt* en *Borchers* zou deze bodem, speciaal voor melk, goed voldoen.

Het was voor mij technisch niet goed uitvoerbaar, en m.i. ook niet noodig, om bij het navolgende onderzoek alle genoemde bodems in te schakelen, en daarom heb ik mij tot een keus hieruit moeten beperken. Deze keus is gevallen op:

- a. Het milieu van *den Dooren de Jong*, dat door dezen auteur (voor gepasteuriseerde melk) in ons land op zeer uitgebreide schaal is toegepast, en waarbij hij geconstateerd heeft, dat deze methode de voorkeur verdient boven verschillende andere.
- b. Den *Pegallac*bodem, wijl deze in ons land zeer veel wordt toegepast, en van verschillende zijden ook sterk is aanbevolen.
- c. Den broomkresolpurper-lactosebodem van *Chalmers*, die in wezen gelijk is aan den klassieken bodem van *Mc. Conkey*, maar het voordeel heeft van een duidelijker kleuromslag te geven. Deze bodem wordt in Engeland veel gebruikt, en is door *Ch.* sterk aanbevolen.
- d. De trypaflavinelactosebouillon van *Klimmer*, die speciaal van Duitse zijde is gepropageerd (*Klimmer c.s.* en *Demeter*).

Vooraf de laatste auteur heeft uitgebreide vergelijkende onderzoekingen gedaan, en daarbij o.a. geconstateerd, dat aan trypaflavinebouillon boven gentiaanviolet- en krystalvioletbouillon de voorkeur gegeven moest worden. *Schmidt* heeft geen superioriteit voor de beide laatste bodems kunnen vinden.

Bovendien wordt in de Amerikaanse literatuur hier en daar het bezwaar genoemd, dat deze kleurstoffen den groei van de coli-achtigen te zeer zouden tegenhouden. Mede om al deze redenen is van het gebruik der bodems met de beide violetsoorten afgezien.

Een nadere beschrijving der in het eigen onderzoek gebruikte bodems komt voor in het volgende hoofdstuk.

TWEEDE AFDEELING

HOOFDSTUK IV

HET EIGEN ONDERZOEK

Dit moest dienen om verschillende aan de studie der literatuur en aan de practijk ontleende vragen te beantwoorden, en wel:

Ten eerste: Is er voor het snelle en gemakkelijke aantoonen van coli-achtige micro-organismen in melk een gemakkelijk te hantieren voedingsbodan aan te geven, die eensdeels een zoo groot mogelijk aantal dezer organismen tot ontwikkeling brengt, en anderdeels geen „specifieke” veranderingen geeft met kiemen buiten deze groep?

Ten tweede: Welke uitkomsten geeft deze proef in de practijk? Is er overeenstemming met de, bij de bedrijfsinspectie geconstateerde, deugden of gebreken in de bedrijfsvoering?

Om een antwoord op deze beide vragen te kunnen geven, is het onderzoek in de navolgende deelen gesplitst:

1. Een onderlinge vergelijking der reeds genoemde „routine-methoden” op hun gevoeligheid en betrouwbaarheid, met algeheele identificatie zoo mogelijk der geïsoleerde kiemen, over een beperkt aantal monsters.
2. Een nader onderzoek over een grooter aantal monsters, met de voorloopig beste methoden, om te zien of deze hierbij de aanvankelijk geconstateerde betrouwbaarheid behouden.
3. Een vergelijking van de uitkomsten, welke deze en andere methode(n) ter bepaling van de bacteriologische hoedanigheid der melk geven, als ze geregeld worden toegepast over een langer tijdsbestek op melk van bekende herkomst, en verder de overweging of de techniek voor zoover het coli-onderzoek betreft, zóó te vereenvoudigen is, dat deze laatste methode in het groot practisch bruikbaar wordt.

EERSTE DEEL

EEN ONDERLINGE VERGELIJKING DER GEBRUIKTE BODEMS OP HUN GEVOELIGHEID EN BETROUWBAARHEID, MET VOLLEDIGE IDENTIFICATIE ZOO MOGELIJK DER GEÏSOLEERDE KIEMEN

Hiertoe werden een aantal gewone, z.g.n. straatmonsters van verschillende mij bekende zindelijke consumptiemelkstallen, die door een der keurmeesters in grondig gereinigde, maar niet speciaal gesteriliseerde flesschen werden gehaald, onderzocht. De bemonstering geschiedde bijna steeds op Vrijdag n.m. of op Zaterdag v.m.. De monsters kwam tot Zaterdag n.m. op ijs te liggen, en werden dan in bewerking genomen.

In deze melk mocht uit hoofde van de manier waarop ze gewonnen en behandeld was, in het algemeen een laag colicijfer verwacht worden, en daarom leek zij mij erg bruikbaar voor het doel, n.l.: Na te gaan het verschil in gevoeligheid der diverse te gebruiken methoden, dat m.i. meer bij coli-arme, dan bij coli-rijke monsters zou spreken, en verder, omdat in de eerste de eventueel in gering aantal aanwezige coli meer kans loopt overgroeid te worden door andere kiemen, zoodat zich hierbij de remmende kracht van den bodem op andere dan coli-achtige micro-organismen zou kunnen demonstreeren.

Verder had ik, door melk van deze stallen te gebruiken, de kans een (voorloopig) inzicht te krijgen omtrent den coli-rijkdom van goed gewonnen melk in het algemeen, wat voor het verdere onderzoek zijn nut zou kunnen hebben.

Techniek van dit onderzoek

A. Gebruikte voedingsbodems, hun samenstelling, bereiding en beoordeeling

a. *De bodem volgens den Dooren de Jong*: Natriumtaurocholaat 10 gram oplossen in 1000 gram aq. dest. en $\frac{1}{2}$ uur steriliseeren op 100° C., daarna filtreeren.

Vervolgens 200 cc lakmoesoplossing volgens Kübel en Tiemann 10 minuten verwarmen bij 100° C., en de taurocholaat- en lakmoes-

oplossing heet bij elkaar voegen, en in reageerbuizen met Durhambuisjes aftappen. Sterilisering 3×15 minuten bij 100°C . of $\frac{1}{2}$ uur bij 115°C .

Gasontwikkeling en kleursverandering tot rood (of rood-wit) zijn bewijzend voor de aanwezigheid van coli-achtigen; kleursverandering zonder gasvorming is dubieus.

b. De Pegallacbodem: bestaat uit 10 gram pepton, 5 gram lactose, 30 gram rundergal, opgelost tot 1 liter in aq. destill. + 3% lakmoesoplossing. Wordt 15 min. op 100°C . verhit en gefiltreerd.

Vervolgens worden in reageerbuizen met Durhambuisjes 10 à 15 cc afgetapt; hierna volgt sterilisatie gedurende $\frac{1}{2}$ uur bij 100°C ., waarna de buizen snel worden afgekoeld in water ter wille van het behoud der kleur (er treden n.l. wel eens miskleuren op als men spontaan laat afkoelen). Bij een positieven uitslag is er gasontwikkeling in de Durhambuis, en is de kleur rood (of wit), al naar gelang er zuurontwikkeling met of zonder kleurstofreductie heeft plaats gevonden.

c. De pepton-lactose-broomkresolpurper-Na-taurocholaatbodem van Chalmers: 5 gram Na-taurocholaat, 20 gram pepton, 3 gram NaCl, 2 gram K_2HPO_4 in 1000 cc leidingwater onder verwarmen oplossen, en de pH vaststellen op 6.8 (hier is ongeveer 13 cc 20% Na_2CO_3 opl. voor noodig); vervolgens verwarmen tot 115°C . en laten afkoelen; koud filtreren, dan lactose toevoegen (1%), en broomkresolpurper (60 mgr.) — oplossen en verdeelen over reageerbuizen met Durhambuisjes. Sterilisatie vindt plaats bij 115°C . gedurende $\frac{1}{2}$ uur.

Bij aanwezigheid van coli-achtigen is er gasontwikkeling in de Durhambuis, en kleuromslag naar geelrood of geel. Na korten tijd kunnen sommige colisoorten NH_3 uit pepton vormen, en gaat in die gevallen de kleur weer over naar blauw.

d. De trypaflavine-lactosebouillonbodem v. Klimmer: 5 gram Liebig's vleeschextract, 10 gram pepton, 3 gram NaCl en 2 gram K_2HPO_4 samen oplossen in 1000 aq. Bijvoegen lactose (1%), en met 4N. NaOH instellen op pH 7.2. Vervolgens 1 cc van een 1% waterige trypaflavineoplossing toevoegen, aftappen in cultuurbuizen met Durhambuisjes, en steriliseeren gedurende 3×15 min. bij 100°C ., of 1×30 min. bij 115°C .. Indien coli-achtigen aanwezig zijn, is er groei en gasontwikkeling waar te nemen.

e. *De peptonbodem van Lerner*: 10 gram pepton Witte, 10 gram NaCl en 250 mgr. NaHCO_3 onder koken oplossen in 1 liter aq.; filtrereen, in buizen aftappen, en gedurende 1 uur bij 100 à 110° C. steriliseeren.

Bij aanwezigheid van *B. coli* ontstaat in dezen bodem indol — (volgens *Lerner* reeds na 24 uur).

f. *De neutraalroodbodem van Vassileff*: 250 gram fijngehakt vleesch 24 uur aftrekken in 1 liter water, voorzichtig afschuimen, opkoken en weer afscheppen. Na bekoeling 20 gram pepton en 20 gram NaCl toevoegen, aanvullen tot 1000 cc, 5 min. koken en laten afkoelen. De reactie moet zwak alcalisch tot neutraal gemaakt worden ($\text{pH} \pm 7.0$). Daarna toevoegen 10 cc 5% versche neutraalroodoplossing in aq. destill., $\frac{1}{2}$ uur verwarmen tot 110° C., de pH opnieuw controleeren, en pas filtrereen als de oplossing weer koud is geworden. Vervolgens in buizen doen, en 15 min. steriliseeren bij 110° C.. Afkoelen voor het behoud der kleur is noodig. Deze bodem is niet gemakkelijk te maken.

Bij aanwezigheid van coli-achtigen is er een kanariegele tot bruin-gele of bruinroode kleur met groene fluorescentie.

Voor alle bij dit onderzoek aangewende voedingsbodems werd uitsluitend Pepton Witte gebruikt.

Van de bodems a—d werd na 24 en 48 uur bepaald de kleur en gasontwikkeling. Getracht werd, om een ongeveer beeld te geven van de hoeveelheid ontwikkeld gas, door te bezien het gedeelte der Durhambuis, waaruit de vloeistof was verdrongen. Een zuiver metrieke vergelijking is niet mogelijk, omdat de Durhambuizen niet alle even groot zijn, de bodem vaak zóó troebel, dat de gasbel niet precies is te onderscheiden, en dus een eventueele gradueering der buisjes heelemaal niet, en ten leste, omdat lang niet al het ontwikkelde gas in de Durhambuis terecht komt.

Daarom werd besloten den navolgenden ongeveer maatstaf voor de gasvorming aan te leggen: geen gas is negatief = 0, minder dan 5% negatief tot dubieus = 0/dub., 5 à 10% dubieus tot zwak positief = dub./(+), 10 à 15% zwak positief = (+), 15 à 50% positief = +, en boven 50% sterk positief = + !.

Van bodem e. vond na 24 en 48 uur de indolbepaling plaats.

Volgens sommigen is er na 24 uur al indolvorming (*Lerner*, *Pien*

en *Bachimont*); de laatsten beweren met beslistheid, dat zij nooit indolvorming kregen bij langer wachten, als deze er na 24 uur niet was. Volgens anderen doet men, althans voor B. aërogenes, beter 3 à 4 dagen te bebroeden (*Kligler*).

De indolbepaling vond plaats volgens de methode van *Ehrlich*, die volgens *Kligler* de beste is (zie ook *Plimmer*, *Kraus* en *Uhlenhuth* en *Kovacs*).

Uitvoering der reactie: Aan het volume van den voedingsbodem worden toegevoegd $\frac{1}{2}$ volume indolreagens A (4 gr. paradimethylaminobenzaldehyd, 380 cc alcohol 96% en 80 cc HCl s.g. 1.19) en $\frac{1}{2}$ volume reagens B. (verzadigde $K_2S_2O_8$ oplossing).

Volgens sommigen is het wenschelijk om de roode kleur, die bij aanwezigheid van indol ontstaat, duidelijker naar voren te doen komen, door uit te schudden met amylalcohol, terwijl toevoeging van de persulfaatoplossing niet noodig zou zijn.

Mijn ervaring met uitschudden met amylalcohol is niet gunstig; speciaal de door *Kovacs* aangegeven wijziging (deze lost de paradimethylaminobenzaldehyd direct in amylalcohol op) heeft mij niet voldaan, in tegenstelling met *Pien* en *Bachimont*.

De mij ter beschikking staande amylalcohol kleurde bij toevoeging der genoemde reagentia zelf min of meer rood.

Hoewel ik steeds persulfaat toevoegde, heb ik nooit een roode kleur zien ontstaan, als ik die niet reeds met oplossing A. had gekregen. Dit is dus in overeenstemming met wat, volgens *Kraus* en *Uhlenhuth*, *Tobey* e.a. auteurs vermelden.

De indolvorming werd geklassificeerd als negatief = 0, zeer zwak = dubieus = (+), zwak positief = (+), en positief = +.

De bodems a—e werden bebroed bij 37° C.

Bodem f. werd aëroob bebroed bij 41 $\frac{1}{2}$ ° C., en na 24 en 48 uur nagegaan op kleur en fluorescentie.

B. Het enten van de melk op deze bodems

Dit geschiedde als volgt:

Het monster melk werd, uit de ijskast genomen, gedurende 3 à 5 minuten zeer krachtig geschud. Deze tijd is volgens *Struve* en *Baumgärtel* de beste, om een zoo gelijkmatig mogelijke verdeeling der kiemen te krijgen.

Het bleef daarna even staan bij kamertemperatuur, waarbij de

lucht zooveel mogelijk kans kreeg te ontwijken, en vervolgens werd 1 cc met een en dezelfde steriele pipet geënt op de bodems a—f, (verduunning I), en op een buis met 9 cc physiologische NaCl-oplossing, die met een steriele gummikap was afgesloten. Deze laatste buis werd weer grondig geschud, en hieruit weer 1 cc op de bodems a—f geënt (verduunning II), en tevens op 9 cc physiologische NaCl-oplossing. Dit werd nog 2 keer herhaald, zoodat wij kregen 4 series voedingsbodems a—f, resp, geënt met 1 cc (I), 0.1 cc (II), 0.01 cc (III) en 0.001 cc (IV) van het betrokken monster.

C. Verdere bewerkingen

1. Van de bodems a—f werd, liefst na 24 uur, en anders na 48 uur bebroeden, uit een (doorgaans de hoogste) verduunning, die een duidelijk positieven uitslag gaf, een flinke oese vol afgestroken, aanvankelijk op *Gassner* metachroomgeel-, maar al heel spoedig op *Endo*-agar.

Was er in geen enkele verduunning van een bepaalden bodem een duidelijk positieve verandering opgetreden, dan werd uit een verduunning met negatieve of dubieuze reactie (meestal I) tòch een Endoplaat geënt.

De verduunningen waaruit geënt werd, zijn in de tabellen met dikke cijfers gedrukt. Werd uit meer dan één verduunning geënt, dan werd die, waarmee verder niet gewerkt werd cursief gedrukt.

De reden, waarom al spoedig de *Gassner*-agar voor die van *Endo* verlaten werd, was gelegen in het feit, dat, hoewel hierop zich steeds ronde glanzende blauwgroene, soms ook donker- of lichtgroene kolonies van 1—2 mm doorsnede flink ontwikkelden, de typische blauwkleuring dikwijls erg onduidelijk was.

(Ter contrôle werden *Gassner*platen met druppels faecesbrei geënt, en andere met een druppel 0.1 N. HCl, en gedurende 12 uur in de broedstoof bij 37° C. geplaatst. Duidelijke blauwkleuring ontstond niet steeds. Mogelijk is dit een gevolg van een iets te groote alcaliteit van den bodem geweest; ook is het vermogen om zuur te vormen uit lactose bij de verschillende stammen van coli-achtigen zeer verschillend ontwikkeld (*Lipska*)).

De gebruikte *Endo*-agar was bereid volgens het recept van *Genung* en *Thompson*, welk procédé mij zeer goed heeft voldaan.

Dit recept luidt als volgt:

a. vleeschextract v. Liebig	5 grm
b. Pepton Witte	10 grm
c. Aq. destill.	1000 cc
d. Agar-agar	30 grm.

Eerst a en b in c oplossen, daarna d toevoegen en 20 minuten in den autoclaaf steriliseeren.

Daarna door een sterielen filter in steriele kolfjes filtreeren, nadat er 10 gram lactose aan is toegevoegd. Vervolgens weer 15 min. steriliseeren. De pH moet zijn 7.2 à 7.4.

Aanbevolen wordt, om hiervoor van 1 cc gesmolten agar op 4 cc heet aq. destill. de pH te bepalen (met broomthymolblauw in den comparator). Van dit voorschrift is door ons afgeweken, omdat de pH bepaling in den onverdunden opgesmolten agar ons beter voldeed.

Vlak vóór het tijdstip waarop de platen worden gegoten, wordt bij elk opgesmolten kolfje van 100 gram gevoegd 10 cc van een 2½ % zuivere natriumsulfietoplossing, waarin 0.5 cc van een verzadigde alcoholische oplossing van basische fuchsine zijn ontkleurd. De platen moeten na het gieten uitdampen en harden, waarvoor gewoonlijk enkele uren voldoende zijn. Met deze platen heeft men geen last van een te spoedig terugkomen van de roode fuchsinekleur, hetgeen bij andere variaties van dezen bodem nogal eens hinderlijk kan zijn voor het zuivere bepalen der kleur van de zich ontwikkelende kolonies.

Genoteerd werd na 20 à 24 uur bebroeden bij 37° C.: dichtheid van den groei en kleur der kolonies, en ook vaak hun vorm en grootte, en eventueelen (metaal-)glans, G en T, en met hen vele anderen beschrijven *B. coli* als donkerroode, tamelijk platte groenachtig-metaalglanzende kolonies; *B. aërogenes* zou grootere, meer convexe en paarsroode, niet-metaalglanzende kolonies geven.

2. Tweede bewerking.

Van deze „selectieve” platen werd overgeënt op gewonen schuin gestolden 1½ % bouillonagar; hierop kreeg ik zonder uitzondering goeden groei, bij een broedtemperatuur van 37° C..

De groei op agar was bij alle stammen een flink glanzend droog beslag, wit met iets gelen tint, en bij schuin doorvallend licht zwak iriseerend. Slechts bij 3 stammen was de groei iets slijmig.

Van de 24 uur oude agarcultures, waarvan kleur en groeiwijze werden genoteerd, werden uitstrijkjes gemaakt, en gekleurd volgens Gram. Tevens werd een steekcultuur in bouillongelatine (12%) aangelegd, welke laatste 7 dagen werd geobserveerd (langer was om praktische redenen aanvankelijk niet goed mogelijk).

3. Nadere determinering van de kiem.

Het beslag op agar werd met eenige cc physiologische NaCl-oplossing afgespoeld en daarna opgezogen in een steriele pipet. Vervolgens werden hiermee één of enkele druppels geënt op *Chalmers* bodems met lactose, glucose, saccharose, galactose, maltose en manniet, op gesteriliseerde ondermelk in buizen, op gewoon peptonwater volgens *Lerner*, en hetzelfde met 1⁰/₀₀ carbol (*van Vincent*), op neutraalroodbouillon *v. Vassileff*, en op 1% glucose-peptonwater (voor de Methylrood- en de Voges-Proskauerreactie).

Toegepast werd dus het enten met groote hoeveelheden cultuur (heavy inoculation).

Suikerbodems. Het recept voor de *Chalmers* suikerbodems is alreeds aangegeven. Van de monosacchariden werd ½ % concentratie genomen, van de disacchariden 1%. De suikerbodems werden 5 × 24 uur geobserveerd op gas- en zuurvorming.

De ondermelk werd in buizen van 10 cc 3 dagen achtereen telkens gesteriliseerd gedurende 15 à 20 minuten op 100 à 105° C.; contrôle op coagulatie, gas- en weivorming vond plaats gedurende 5 dagen.

Peptonwater v. Lerner. De samenstelling en bereiding hiervan is al bekend. De carboltoevoeging vond plaats vlak vóór het enten (4 druppels van een 5% carboloplossing op 10 cc peptonwater — flink omschudden). In peptonwater met en zonder carbol werd na 2 × 24 uur gereageerd op indol volgens de reeds beschreven methode van *Ehrlich*.

Neutraalroodbouillon v. Vassileff. Deze werd gedurende 5 × 24 uur nagegaan op kleursverandering en fluorescentie.

Voor de Methylrood- en de Voges-Proskauerreactie werd gebruik gemaakt van het voorschrift van *Tanner* en *Levine*. Het glucosepeptonwater hiervoor had een concentratie van 1% van beide, en bevatte tevens ½ % K₂HPO₄. Het werd in buizen van 10 cc gedurende 5 × 24 uur bebroed bij 37° C.

De methylroodreactie vond daarna plaats, door bij 5 cc van den

bodem 5 druppels te voegen van een oplossing van 100 mgr. methylrood in 300 cc alcohol 96% — aangevuld tot 500 cc met aq. destill.

De Voges-Proskauerreactie geschiedde, door bij de resteerende 5 cc te voegen 5 cc 10% KOH-oplossing, en 12 uur bij kamertemperatuur te laten staan.

Bij een positieve methylroodreactie was de roode kleur duidelijk (aangegeven door +). Bij een positieve V.P.-reactie was er na 12 uren een duidelijk oranje-roode verkleuring (in de tabellen eveneens aangegeven door +).

Zwak verloopende reacties zijn aangegeven door (+), en negatieve door —.

De beweeglijkheid der gevonden kiem werd bepaald of wel direct in een druppel van de afspoeling, of nadat de afgespoelde cultuur, waarin een restje spoelwater gelaten was, weer eenige uren in de broedstoof had gestaan. Zij werd aangeduid als +! (sterk), + (matig), (+) (zwak), ((+)) (zeer zwak), en 0 (niet beweeglijk).

D. Identificatie der gevonden kiemen.

Ingevolge de vroeger gegeven definitie van coli-achtigen werd dus nader nagegaan van de gekweekte kiem:

- | | | |
|---|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Vorm en Gramkleuring 2. Vergisting onder zuur- en gasvorming in een milieu van $\frac{1}{2}$ % Na-taurocholaat bij 37° C. van lactose, glucose, galactose, maltose en manniet 3. Coagulatie van ondermelk binnen 5 dagen, al of niet met gas- en weivorming | } | <p>Als algemeene, aan de geheele coligroep inhaerente, constante eigenschappen.</p> |
| <ol style="list-style-type: none"> 4. Neutraalroodreductie 5. Beweeglijkheid | } | <p>Als eigenschappen, die, hoewel vaak aanwezig, worden beschouwd als niet geheel en al constant te zijn.</p> |

- | | |
|---|--|
| 6. Saccharosevergisting in $\frac{1}{2}$ % Na-taurocholaatmilieu | } Ter event. onderscheiding van coli-achtigen en aërogenes-achtigen. |
| 7. Groei en indolvorming in peptonwater met en zonder 1 ⁰ / ₀₀ carbol | |
| 8. De methylroodreactie | |
| 9. De Voges-Proskauerreactie | |
| 10. Het gedrag in gelatinesteekcultuur | |

Van de glucosevergisting bij 45° C. en de citraat- en urinezuurmilieus v. *Koser* is dus geen gebruik gemaakt voor de nadere determinatie, eerstens wegens het te veel aan benodigd materiaal, en bovendien omdat over deze methoden de berichten der verschillende auteurs sterk uiteen loopen, en dikwijls ongunstig zijn.

In de tabellen zijn de navolgende afkortingen opgenomen:

Coagul.	: coagulatie	G.	: Geel
Weiv.	: Weivorming	Br.	: Bruin
Gasb.	: gasbellen	O.	: Oranje
Peptonif	: Peptonificatie	Gr.	: Groen, en in de rubriek peptonwater: Groei
Kl.	: Kleur	Ind.	: Indol
P.	: Paars	Gr. fl.	: Groene fluorescentie
R.	: Rood	M.R.	: Methylroodreactie
Bl.	: Blauw	V.P.	: Voges-Proskauerreactie
W.	: Wit		

De teekens () en (()) geven aan een zwakke, resp. zeer zwakke reactie e.d., het teeken ! een sterke.

In de rubriek „conclusie” is ingevuld het type der event. gevonden colistammen, ingedeeld naar de M.R.- en de V.P.-reactie, waarbij de navolgende interpretatie geldt:

c! : klassieke faecale coli, die behalve de reeds genoemde algemeene eigenschappen, de volgende bezit:

M.R. +, V.P. —.

Groei en indolvorming in peptonwater met en zonder carboltoevoeging.

Neutraalroodverandering onder geelkleuring en fluorescentie.

Geen gas- en soms ook geen zuurvorming uit saccharose.

Meestal duidelijk beweeglijk.

In gelatinesteekcultuur treedt geen vervloeiing op.

- (c): een type, dat volgens de V.P.- en de M.R.-reactie bij de faecale coli hoort, maar er toch in een of meer der bovengenoemde eigenschappen van afwijkt.
- i : een intermediair type, waarbij de M.R.- en de V.P.-reactie beide positief verlopen.
- (a): een type, dat volgens M.R.- en V.P.-reactie tot de klassieke aërogenegroep behoort, maar niet in het bezit is van één of meer eigenschappen, die aan deze groep worden toegeschreven.
- a. : het klassieke aërogenestype, M.R. — en V.P. +.
- 0 : er is niets gekweekt, of wel de geïsoleerde kiem is geen coliachtige.

Tenslotte zijn gegeven een samenvatting over dit eerste deel van het onderzoek, en de daaruit voorloopig te trekken conclusies.

Monster no. 1 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 á 24 uur op Gassner- agar	Na 24 uur op schuine agar	Be- weeg- lijk- heid	Vorm Gram- kleuring
		24 uur		48 uur					
		kleur	gas	kleur	gas				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	rood	0	lichtrood	0/dub.	tamelijk veel donkergroene glanzende kolonies, 1/2 à 2 mm. door- snee, géén blauwkleuring	flink wit- geel glan- zend droog beslag, iets iriseerend bij door- vallend licht	(+) poly- morph meest tamelijk plomf staafje Gram negatief	
	II	"	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac- bodem	I	wit	0/dub.	wit	0/dub.	spaarzame groei, kolonies als boven	als boven	(+) als bov	
	II	"	"	rose	+				
	III	"	"	"	+				
	IV	"	"	"	+				
Lactose- bouillon v. Chalmers	I	geel	+	geel	+	flinke groei, glanzende lichtgroene kolonies, géén blauw- kleuring	als boven	(+) als bov	
	II	"	+	"	+				
	III	"	0/dub.	"	+				
	IV	"	0	"	+				
Trypaflavine- lactose-bouil- lon v. Klimmer	I	geelgroen	+	geelgroen	+	als boven	als boven	(+) als bov	
	II	"	+	"	+				
	III	"	+	"	+				
	IV	"	0/dub.	"	+				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol (+)	flinke groei van tamelijk donkergroene glanzende kolonies	als boven	+ als bov	
	II	"	" 0	"	" (+)				
	III	"	" ((+))	"	" (+)				
	IV	"	" 0	"	" +				
Neutraal- roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.	rood	(gr.fl.)	tamelijk flinke groei van donkergroene iets mattere kolonies	als boven	(+) kleine staafje Gram negatief	
	II	rood	-	roodbruin	gr.fl.				
	III	geen groei		"	gr.fl.				
	IV	"	"	"	gr.fl.				

OPMERKING: De uit peptonwater v. Lerner gekweekte stam heeft wel zeer veel coli-eigenschappen, mag nochtans niet tot de coli-achtigen gerekend worden, daar uit glucose géén gas wordt gevormd.

Glucose- bouillon v. Chalmers	Lactose- bouillon v. Chalmers	Saccharose- bouillon v. Chalmers	Maltose- bouillon v. Chalmers	Galactose- bouillon v. Chalmers	Manniet- bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol		Neutraalrood- bouillon v. Vassileff	Glucose-pep- tonwater na 5 dagen		Gelatine steek- cultuur na 7 dagen	Conclusie		
							kl.	gas	gr.	ind.		gr.	ind.			MR.	VP.
g +!	g +!	gr (+)	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	bruingeel gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)		
g +!	g +	p 0	g +	g +!	g +	als boven	+	0	+	0	geen groei	-	+	als boven	(a)		
g +	g +	g (+)	g +	g +	g +!	als boven	+	0	+	0	geen groei	(+)	+	als boven	i		
g +!	g +	p 0	gbl +	g +	g +	gedeeltel. coagulatie	+	0	+	0	geen groei	+	(+)	als boven	i		
g 0	g (+)	g (+)	gbr +	g +	g +	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	geen groei	-	+	iets ver- vloeid, niet voort- schrij- dend	0		
g +!	g +!	g (+)	g +!	g +!	g +!	als boven	+	+	+	+	roodgeel gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)		

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 10-III-'33.

Herkomst. S te B. Monstername 10-III-'33 7.30 v.m.

Ingezet. 11-III-'33 4 u. n.m., nadat het monster vanaf 10-III-'33 des n.m. 4 uur in het ijs had gestaan, en nadat het gewone laboratoriumonderzoek er aan voltrokken was. Het monster was dus vrij oud en tamelijk ruw behandeld.

Monster no. 2 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Gassner-agar	Na 24 uur op schijne agar	Beveeglijkheid	Vorm of Gramkleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I II III IV	kleur licht rood gas 0/dub. 0 rood geen groei "	kleur rose rood gas (+) 0/dub. geen groei "	glanzende donkergroene kolonies 1-2 mm. doorsnede, géén blauwkleuring	flink beslag, witgeel, droogglanzend, iets iriseerend bij doorvallend licht	(+)	vrij plompe polymorphe staafjes Gramnegatief		
Pegallacbodem	I II III IV	kleur niet ingezet gas (+) wit wit	kleur rose gas + lichtrose rose	flinke groei v. lichtgroene glanzende kolonies	als boven	(+)	als boven		
Lactosebouillon v. Chalmers	I II III IV	kleur geel gas +! " " "	kleur geel gas +! " " "	als boven	als boven	(+)	als boven ook slanke heel kleine staafjes		
Trypaflavine-lactosebouillon v. Klimmer	I II III IV	kleur geelgroen gas (+) " " "	kleur geelgroen gas + " " "	flinke groei van groene glanzende kolonies	als boven	(+)	als boven		
Peptonwater v. Lerner	I II III IV	groei indol 0 " " "	groei indol 0 " " "	spaarzame groei van glanzende groene kolonies	als boven	+!	als boven		
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I II III IV	geel gr.fl. roodgeel "	geel gr.fl. roodgeel "	flinke groei van groenblauwe glanzende kolonies	als boven	+	polymorphe meest kleine staafjes Gramnegatief		

Glucosebouillon v. Chalmers	Lactosebouillon v. Chalmers	Saccharosebouillon v. Chalmers	Maltosebouillon v. Chalmers	Galactosebouillon v. Chalmers	Mannietbouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol	Neutraalroodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie	
							kl.	g.			gr.	ind.			MR.
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (gasb.)	+	+	+	+	geen groei	(+)	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (weiv.) gasb.	+	0	+	0	geen groei	(+)	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie! weiv. (gasb.)	+	0	+	0	geen groei	(+)	(+)	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	als boven	+	0	+	0	geen groei	(+)	(+)	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	bruingeel gr. fl.	(+)	(+)	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	als boven	+	+	+	+	geel gr. fl.	(+)	-	niet ver-vloeid	(c)

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 10-III-'33.

Herkomst. S. E. te IJ.

Monstername. 10-III-'33 v.m. 8.15.

In de ijskast. 10-III-'33 n.m. 4 u.

Ingezet. Na het gewone laboratoriumonderzoek op 11-III-'33 n.m. 4 u. Monster was

Monster no. 3 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 á 24 uur op Gassner-agar	Na 24 uur op schuine agar	Beveeglijkheid	Vorm en Gramkleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur rood	gas 0/dub.	kleur rose	gas +	flinke groei v. glanzende lichtgroene kolonies 1-2 mm. doorsnee	flink droog-glanzend wit-geel iets iriseerend beslag	+	zeer klein staafjes Gram-negatief
	II	"	0	rood	0/dub.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	Niet geënt, daar van dezen bodem de voorraad was uitgeput.							
	II								
	III								
	IV								
Lactosebouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur geel	gas +	als boven, kolonies iets onregelmatigen rand	als boven	+	als boven
	II	geelblauw	0	geelblauw	0				
	III	geel	0	geel	0				
	IV	paars	0	geelpaars	0				
Trypaflavine-lactosebouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas 0	kleur geelgroen	gas 0	zeer spaarzame groei v. kleine glanzende lichtgroene kolonies 1/2 mm.	flink geelachtig beslag niet iriseerend	+!	als boven
	II	"	0	"	0/dub.				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei		geen groei					
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol +!	groei	indol +!	flinke groei glanzende lichtgroene kolonies met iets onregelmatigen rand	flink droog-glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	+!!	als boven
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	steenrood	geén fl.	steenrood	geén fl.	tot 3x toe op Gassner-agar geënt, geen groei			
	II	wijnrood	" "	wijnrood	" "				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				

Glucosebouillon v. Chalmers	Lactosebouillon v. Chalmers	Saccharosebouillon v. Chalmers	Maltosebouillon v. Chalmers	Galactosebouillon v. Chalmers	Mannietbouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/00 carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	g.	kl.	g.		kl.	g.		
g +!	g +!	g 0/dub.	g +!	g +	g +!	coagulatie!	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet verwloeid	c!
g +!	g +!	g 0/dub.	g +!	g +	gbl +!	coagulatie!	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet verwloeid	c!
g 0/dub.	p 0	g 0	pg 0	g 0	g 0	dun	0?	0	0?	0	geen groei	+	-	niet verwloeid	0
g +	g +!	g 0/dub.	g +!	g +	gbl +!	coagulatie! weiv. (gasb.)	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet verwloeid	c!
g															

Soort. Morgenmelk (rauw) van eigen vee d.d. 17-III-'33.

Herkomst. v. B. te A.

Monstername. 17-III-'33 v.m. 10 uur.

In ijskast. 17-III-'33 v.m. 10.15 uur.

Ingezet. 18-III-'33 n.m. 3 uur.

Monster no. 4 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Gassner-agar	Na 24 uur op schuine agar	Beveeglijkheid	Vorm en Gram-kleurings
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur rood	gas 0	kleur rose	gas (+)	flinke groei v. lichtgroene glanzende kolonies	flink droog glanzend wit beslag iets iriseerend	(+)	zeer kleine staafjes Gram-negatief
	II	"	0/dub.	rood	0/dub.				
	III	"	geen groei	geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	niet geënt, daar de voorraad van dezen bodem was opgebruikt.							
	II								
	III								
	IV								
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur geel	gas +!	als boven	als boven	+	als boven
	II	geelblauw	0	geelblauw	0/dub.				
	III	geel	0	geel	0				
	IV	"	0	geelrood	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +!	als boven	als boven	(+) +	als boven
	II	"	+	"	+!				
	III	"	geen groei	"	0				
	IV	"	geen groei	"	0				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	20-III geen groei, weer geënt, 22-III, slechte groei van gele en dofte licht- en donkergroene kolonies en enkele lichtgroene glanzende speldeknoopgroote	op 23-III flink geelachtig beslag	-	zeer plompe groote staafjes Gram-positief
	II	"	" ((+))	"	" ((+))				
	III	"	" ((+))	"	" ((+))				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	steenrood	geén fl.	rood	geén fl.	spaarzame groei v. lichtgroene glanzende kolonies, 1 à 2 mm.	flink droog glanzend wit beslag iets iriseerend	+	zeer kleine Gram-negatieve staafjes
	II	geelrood	gr. fl.	geel	gr. fl.				
	III	"	gr. fl.	"	gr. fl.				
	IV	geen groei		geen groei					

Soort. Morgenmelk (rauw) van eigen vee van H. te A., d.d. 17-III-'33.
 Monstername. 17-III 10 uur v.m.
 In ijskast. 17-III 10.15 uur v.m.
 Ingezet. 18-III ± 3 uur n.m.

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol	Neutraalroodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	g.			gr.	ind.		
g +	g +!	g +	g +!	g +	g +!	coagulatie weiv.! gasb.!	+	+	+	+	geen groei	+	-	niet vervloeid (c)
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie (weiv.) gasb.	+	+	+	+	geelbruin gr.fl.	+	+	niet vervloeid i
g +!	g +	g +	g +!	g +	g +!	coagulatie weiv.! gasb.!	+	+	+	+	geen groei	+	-	niet vervloeid (c)
Alle bodems zijn onveranderd gebleven.														
g +!	g +!	p 0	g +	g +	g +	coagulatie weiv. gasb.!	+	0	+	0	geelrood gr.fl.	+	-	niet vervloeid (c)

Tegelijkertijd werden van monster 4 op den bodem van Vassileff verdunningen ingezet bij 37° C; het verloop hiervan was:

	na 24 uur	na 48 uur	
I	geel gr.fl.	geelbruin gr.fl.	Bij overenten op Gassner-agar ontstonden ook hieruit glanzende licht- en donkergroene kolonies.
II	roodgeel gr.fl.	" "	
III	geen groei	wijnrood - (groei?)	
IV	" "	geen groei	

Monster no. 5 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo- agar	Na 24 uur op schuine agar	Be- weeg- lijk- heid	Vorm en Gram- kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I II III IV	kleur rood	gas 0/dub.	kleur rose	gas +	in beide flinke groei van glanzende roode kolonies 1-2 mm. doorsnee. Verder ge- werkt met II	glanzend droog wit- geel irisee- rend beslag	(+)	poly- morphe staafjes Gram- negatief
Pegallac- bodem	I II III IV	kleur witrose rose +	gas +! +	kleur rose "	gas +! +	flinke groei; roode kolonies m. iets doffen rand en glanzend centrum. 1-3 mm.	als boven	(+)	als boven
Lactose- bouillon v. Chalmers	I II III IV	kleur geel	gas +! +	kleur geel	gas +! +	flinke groei v. glanzende roode kolonies 1-2 mm.	als boven	(+)	als boven
Trypaflavine- lactose-bouil- lon v. Klimmer	I II III IV	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +! +	als boven kolonies 1-3 mm.	als boven	(+)	staafjes plompen Gram- negatief
Peptonwater v. Lerner	I II III IV	groei	indol. +! "	groei	indol. +! "	als boven	als boven	(+)	kleine staafjes Gram- negatief
Neutraal- roodbouillon v. Vassileff	I II III IV	geel "	gr.fl. gr.fl.	donkergeel "	gr.fl. gr.fl.	als boven, kolonies 1-3 mm. Sommige doffe randzone	als boven	+	kleine staafjes Gram- negatief

Opmerking. Indolvorming ((+)) in peptonwater bij de te identificeeren stammen beteekent, dat alleen een iets roode tint is te bespeuren als het licht in de lengte door de buis valt.

Glucose- bouillon v. Chalmers	Lactose- bouillon v. Chalmers	Saccharose- bouillon v. Chalmers	Maltose- bouillon v. Chalmers	Galactose- bouillon v. Chalmers	Manniet- bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ⁰ / ₁₀₀ carbol		Neutraalrood- bouillon v. Vassileff	Glucose-pep- tonwater na 5 dagen		Gelatine steek- cultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	gas	gr.	ind.		gr.	ind.		
wg +!	g +	g +!	g +!	g +	g +!	coagulatie! weiv.!	+	+!	+	+!	rood geen fl.	(+) na 2 dagen kleurloos	+	niet ver- vloeid	i
g +!	g +!	p 0	g +!	g +	g +!	coagulatie! (gasb.)	+	+!	+	+!	roodbruin gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	c!
g +!	g +!	g +!	g +	g +	g +	coagulatie! gasb.!	+	((+))	+	((+))	rood geen fl.	+	+	niet ver- vloeid	i
g (+)	g +	g dub. (+)	g +	g.r. (+)	g +	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	((+))	+	((+))	rood geen fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)
wg +!	g +	g +	g +!	g +	g +!	coagulatie! weiv.!	+	+!	+	+!	rood geen fl.	+	+	niet ver- vloeid	i
g 0/ dub.	p 0	p 0	g (+)	g +!	g +	geen ver- andering	+	0(?)	+	((+))	rood geen fl.	+	-	niet ver- vloeid	0

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 23-III-'33.

Herkomst. Z. te H.

Monstername. 23-III, 9.15 uur v.m.

In ijskast. 23-III, 4 uur n.m.

Ingezet. 24-III, 5 uur n.m.

Monster no. 6 geënt op	Geïnte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
		kleur	gas	kleur	gas				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	roserood	0/dub.	roserood	+	flinke groei v. roode kolonies, deels glanzend, deels dof, 1-3 mm.	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriserend	(+) korte staafjes Gram-negatief	
	II	rood	0/dub.	rood	0/dub.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	witrose	(+)	witrose	+	flinke groei, roode glanzende gladde kolonies, 1/2-1 mm.	als boven	+ als boven	
	II	rose	+!	rose	+!				
	III	roserood	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	geel	+!	geel	+!	als boven	als boven	+ als boven	
	II	"	0	"	+				
	III	geelblauw	0	"	0				
	IV	paars	0	geelblauw	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	geelgroen	(+)	geelgroen	+!	als boven, spaarzame groei, kolon. 1/2 mm.	als boven	((+)) als boven	
	II	"	0	"	0/dub.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	geelgroen	+!	geelgroen	+!				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol +	groei	indol +	flinke groei v. gladde, glanzende roode kolonies	als boven	+ als boven, staafjes plomper	
	II	"	" 0	"	" 0				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geel	(gr.fl.)	geel	gr.fl.	als boven	als boven	+ als boven	
	II	rood	geén fl.	rood	geén fl.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1/100 carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	g.	kl.	g.		kl.	g.		
g.r. +!	g +	g.r. 0/dub.	g +!	g +	g +!	coagulatie! weiv.! gasb.!	+	+	+	+	geel (gr.fl.)	+	-	niet ver-vloeid	c!
g +!	g +!	g 0/dub.	g +	g +	g +!	coagulatie! weiv.! gasb.!	+	+	+	+	geel ((gr.fl.))	+	-	niet ver-vloeid	c!
g +	g +!	g 0/dub.	g +!	g (+)	g +	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	geel (gr.fl.)	+	-	niet ver-vloeid	c!
g +!	g +!	g +	g +!	g +	g +!	coagulatie! weiv.! gasb.	+	+	(+)	+	geen groei	+	(+)	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +	g 0/dub.	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+	+	+	geel (gr.fl.)	+	-	niet ver-vloeid	c!

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 7-4-'33.

Herkomst. B. te A.

Monstername. 7-4-'33, 9 uur v.m.

In Ijskast. 7-4-'33, 11 uur v.m.

Ingezet. 7-4-'33, 4.30 uur n.m.

Monster no. 7 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijkheid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
		kleur	gas	kleur	gas				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	roodpaars	0	rood	(+)	tamelijk flinke groei v. licht-roode glanzende kolonies, 1-2 mm.	flink droog glanzend, witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	tamelijk plompe staafjes Gram-negatief
	II	rood	0	"	0/dub.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas 0	9-4 geen groei, weer geënt, 10-4 zéér sporadisch kleine roode kolonies 1/2 mm.	als boven	(+)	kleine staafjes Gram-negatief
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas 0/dub.	kleur geel	gas +	flinke groei v. roode glanzende kolonies 1-2 mm.	als boven	((+))	poly-morphe staafjes Gram-negatief
	II	"	0	"	0				
	III	paars	0	geelblauw	0				
	IV	"	0	"	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas 0/dub.	kleur geelgroen	gas +	enkele glanzende en veel doffe roode kolonies 1-3 mm.	als boven	((+))	als boven
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei		geen groei					
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	zeer spaarzame groei, enkele glanzende roode kol.	als boven	((+))	als boven
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranjegeel	(gr.fl.)	geelrood	(gr.fl.)	9-4 géén groei, weer geënt, 10-4 zéér sporad. kleine roode kolon. van 1/2 mm.	als boven	(+)	als boven
	II	rood	géén fl.	rood	géén fl.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				

Opmerking. Terwijl in de melk op peptonwater geënt geen indolvormende coli was aan te toonen, werd er nochtans uit I een zoodanige stam gekweekt. Waar hier ook maar enkele kolonies op de Endo-plaat opkwamen, ligt het vermoeden voor de hand, dat door een te snelle zuurvorming de coli zich niet heeft kunnen vermeerderen, en o.a. merkbaar indol vormen.

Glucose-bouillon v. Chalmers		Lactose-bouillon v. Chalmers		Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1/100 carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie
kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		gr.	ind.	gr.	ind.		MR.	VP.		
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! weiv.!	(+)	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g	0	gbl	0	g.r.	0	g	0/dub.	gbl	0	g.r.	0	coagulatie weiv.	+	0	+	0	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	0
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! weiv.!	+	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! weiv.	+	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! gasb.!	+	+	+	+	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g	0	g	0	g.r.	0	g.r.	0	g.r.	0	g.r.	0	coagulatie weiv.	+	0	+	0	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	0

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 7-4-1933.

Herkomst. B. te A.

Monstername. 7-4-'33, 9 uur v.m.

In ijskast. 7-4-'33, 11 uur v.m.

Ingezet. 7-4-'33, 4.30 n.m.

Monster no. 7 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur roodpaars	gas 0	kleur rood	gas (+)	tamelijk flinke groei v. licht-roode glanzende kolonies, 1-2 mm.	fink droog glanzend, witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	tamelijk plumpe staafjes Gram-negatief
	II	rood	0	"	0/dub.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas 0	9-4 geen groei, weer geënt, 10-4 zéér sporadisch kleine roode kolonies 1/2 mm.	als boven	(+)	kleine staafjes Gram-negatief
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas 0/dub.	kleur geel	gas +	flinke groei v. roode glanzende kolonies 1-2 mm.	als boven	((+))	poly-morphe staafjes Gram-negatief
	II	"	0	"	0				
	III	paars	0	geelblauw	0				
	IV	"	0	"	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas 0/dub.	kleur geelgroen	gas +	enkele glanzende en veel doffe roode kolonies 1-3 mm.	als boven	((+))	als boven
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei		geen groei					
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	zeer spaarzame groei, enkele glanzende roode kol.	als boven	((+))	als boven
	II	"	" 0	"	" 0				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranjegeel	(gr.fl.)	geelrood	(gr.fl.)	9-4 géén groei, weer geënt, 10-4 zéér sporad. kleine roode kolon. van 1/2 mm.	als boven	(+)	als boven
	II	rood	géén fl.	rood	géén fl.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				

Opmerking. Terwijl in de melk op peptonwater geënt geen indolvormende coli was aan te toonen, werd er nochtans uit I een zoodanige stam gekweekt. Waar hier ook maar enkele kolonies op de Endo-plaat opkwamen, ligt het vermoeden voor de hand, dat door een te snelle zuurvorming de coli zich niet heeft kunnen vermeerderen, en o.a. merkbaar indol vormen.

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^{0/100} carbol	Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie	
							gr.	ind.			gr.	ind.			MR.
g +	g +	g +	g +	g +	g +	coagulatie! weiv.! gasb.!	(+)	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g 0	gbl 0	g.r. 0	g 0/dub.	gbl 0	g.r. 0	coagulatie weiv.	+	0	+	0	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	0
g +!	g +	g +	g +!	g (+)	g +	coagulatie! weiv.! gasb.!	+	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g +	g +!	g +	g +!	g +!	g +	coagulatie! weiv.	+	0	(+)	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g +	g +	g +	g +!	g +	g +!	coagulatie! gasb.! weiv.!	+	+	+	+	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g 0	g 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	coagulatie weiv.	+	0	+	0	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	0

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 7-4-1933.

Herkomst. B. te A.

Monstername. 7-4-'33, 9 uur v.m.

In ijskast. 7-4-'33, 11 uur v.m.

Ingezet. 7-4-'33, 4.30 n.m.

Monster no. 8 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo- agar	Na 24 uur op schuine agar	Be- weeg- lijk- heid	Vorm en Gram- kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur rood	gas 0	kleur rood	gas 0	na 2-malige enting géén groei			
	II	"	0	"	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac- bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas 0	als boven flinke groei van roode glanzende kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag iets iriseerend	(+) korte, vrij plompe staafjes Gram- negatief	
	II	rood	0	roserood	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	rose	+	"	+				
Lactose- bouillon v. Chalmers	I	kleur geelwit	gas +	kleur geelwit	gas +!	als boven, kolonies iets onregelmatig	als boven	+	
	II	geel	+!	geel	+!				
	III	geelrood	0	geelrood	0				
	IV	paars	0	"	0				
Trypaflavine- lactose-bouil- v. Klimmer	I	kleur groengeel	gas 0	kleur groengeel	gas 0	geen groei flinke groei v. glanzende roode kolon.	als boven	(+) als boven	
	II	"	+	"	+				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol +!	groei	indol +!	zeer flinke groei v. glanzende roode kolonies	als boven	+	
	II	"	" +	"	" +!				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal- roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.	geel	gr.fl.	flinke groei als boven geen groei	als boven	+	
	II	geelrood	gr.fl.	geeloranje	(gr.fl.)				
	III	geen groei		"	(gr.fl.)				
	IV	"	"	geen groei					

Opmerking. Bij den uit Pegallac gekweekten stam werd spontaan geen melk ge-coaguleerd na 5 dagen (daar de melk niet verhit is geworden vermoedelijk). Volgens Levine zijn er colistammen waarbij melkcoagulatie pas na verhitten is te constateeren. Ook zijn er colistammen beschreven, waarbij de coagulatie van melk pas na langer dan 5 dagen plaats vindt. Deze stam is daarom wel tot de coli gerekend.

Glucose- bouillon v. Chalmers	Lactose- bouillon v. Chalmers	Saccharose- bouillon v. Chalmers	Maltose- bouillon v. Chalmers	Galactose- bouillon v. Chalmers	Manniet- bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol	Neutraalrood- bouillon v. Vassileff	Glucose-pep- tonwater na 5 dagen		Gelatine steek- cultuur na 7 dagen	Conclusie							
							kl.	gas			gr.	ind.			MR.	VP.					
g	+	g	+!	p	0	g	+!	g	+	g	+!	dun gebleven	+	+!	+	+!	oranjegeel géén fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)
g	+!	g	+!	g.r.	0/ dub.	g	+!	g	+	g	+!	coagulatie! weiv. (gasb.)	+	+!	+	+!	als boven	+	-	niet ver- vloeid	(c)
g	+!	g	+!	g	0/ dub.	g	+!	g	+	g	+!	coagulatie! (weiv.) (gasb.)	+	+!	+	+!	geeloranje (gr.fl.)	+	-	niet ver- vloeid	cl
g	0	p	0	g.r.	0	g	0	g	0	g	0	dun gebleven	+	+!	+	+!	oranjegeel géén fl.	+	-	niet ver- vloeid	0
g	+!	g	+	g	0/ dub.	g	+!	g	+	gbl	+!	coagulatie! weiv. (gasb.)	+	+!	+	+!	oranjegeel (gr.fl.)	+	-		cl

Soort. Avondmelk (rauw) van eigen vee d.d. 19-IV-'33.

Herkomst. T. te A.

Monstername. 20-IV-'33, v.m. 9.20 uur.

In ijskast. 20-IV-'33, v.m. 10.30 uur.

Ingezet. 20-IV-'33, n.m. 2 uur.

Monster no. 9 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur	gas	kleur	gas	flinke groei v. roode, deels glanzende, deels doffe kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	(+) korte, vrij plompe staafjes Gram-negatief	
	II	rood	0	rood	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei	"	geen groei	"				
Pegallac-bodem	I	kleur	gas	kleur	gas	na 2 maal overenten géén groei			
	II	rose	0	rose	0				
	III	rood	0	"	0/dub.				
	IV	lichtrood	0	roseroed	0/dub.				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur	gas	kleur	gas	flinke groei v. glanzende roode kolon.	als boven	(+) tamelijk kleine staafjes Gram-negatief	
	II	geel	0	geel	+				
	III	geelblauw	0	geelblauw	0/dub.				
	IV	"	0	"	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur	gas	kleur	gas	Zeer spaarzame groei, enkele zeer kleine (puntvormige) roode kolon.	zeer dun witgeel beslag	(+) kleine staafjes polymorph Gram-negatief	
	II	geelgroen	0	geelgroen	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei	"	geen groei	"				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol	0	0	flinke groei van doffe onregelmatige roode kolon.	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+)) vrijplompe staafjes Gram-negatief	
	II	"	"	0	+				
	III	"	"	0	0				
	IV	"	"	0	0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranje	geen fl.	oranje	geen fl.	1e keer geen groei, 2e keer spaarzame groei v. roode metaalglanzende kolonies	dun witgeel glanzend beslag	+ zeer kleine staafjes Gram-negatief	
	II	"	"	"	"				
	III	rood	"	"	"				
	IV	geen groei	"	geen groei	"				

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie
		kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		kl.	g.	gr.	ind.		gr.	ind.		
g +	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatie! (gasb.)	+	0	+	0	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	g +!	gbl +!	gbl +!	gedeelte-lijke coagulatie	+	+	+	(+)	geen groei	+	+	niet ver-vloeid	i
gbl 0	gbl 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	coagulatie! weiv. peptonif.	+	0	+	0	oranjegeel	+	-	ver-vloeid	0
g +	g +	g (+)	g +	g +	g +	g +	g +	g +	g +	coagulatie! (weiv.) gasb.!	+	+	+	+	geen groei	+	-	niet vloeid	(c)
g 0	g.r. 0	rbl 0	g.r. 0	rbl 0	rbl 0	rbl 0	rbl 0	rbl 0	rbl 0	coagulatie weiv. peptonif.	+	0	+	0	oranjegeel	+	-	niet ver-vloeid	0

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 20-IV-'33.

Herkomst. Wed. H. te A.

Monstername. 20-IV-'33, v.m. 9.15 uur.

In ijskast. 20-IV-'33, v.m. 10.30 uur.

Ingezet. 20-IV-'33, n.m. 2 uur.

Monster no. 10 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleurig
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur steenrood	gas 0/dub.	kleur steenrood	gas +	flinke groei v. roode glanzende kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	(+) kleine staafjes Gram-negatief	
	II	rood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas (+)	als boven	als boven	0 als boven	
	II	"	+	"	+				
	III	rood	0	rood	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +!	kleur geel	gas +!	als boven	als boven	0 als boven	
	II	"	+	"	+				
	III	paars	0	geelrood	0				
	IV	"	0	"	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +!	} beide als boven verder m. III	als boven	0 als boven	
	II	"	+	"	+				
	III	"	0/dub.	"	+				
	IV	geen groei		geen groei					
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	als boven	als boven	0 als boven	
	II	"	" +!	"	" +!				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.	geel	gr.fl.	als boven kolonies tamelijk dof en onregelmatig	als boven	0 als boven	
	II	"	gr.fl.	"	gr.fl.				
	III	oranjerood, geen fl.		oranjerood, geen fl.					
	IV	"	"	"	"				

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1/100 carbol	Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie	
							kl.	g.			gr.	ind.			MR.
g +!	g +	g +	g +!	g +	gw +!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	rood geen fl.	+	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +!	p 0	g +!	g +	g +!	coagulatie! (gasb.)	+	0	+	0	oranje gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gw +!	g +	g +!	g +!	g +	gw +!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	oranje geen fl.	+	+	niet ver-vloeid	i
g +!	g +	g +!	g +!	g +	g +!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gw +!	g +	g +!	g +!	g +	g +!	coagulatie!	+	+	+	+	als boven	+	(+)	niet ver-vloeid	i
g +!	g +	g 0/dub.	g +!	g +	g +	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	oranje (gr.fl.)	+	(+)	niet ver-vloeid	i

Soort. Rauwe avondmelk van eigen vee d.d. 27-IV-'33.

Herkomst. v. W. te A.

Monstername. 28-IV, 10 uur v.m.

In ijskast. 28-IV, 11 uur v.m.

Ingezet. 28-IV, 5 uur n.m.

Monster no. 11 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleurig	Glucose-bouillon v. Chalmers		Lactose-bouillon v. Chalmers		Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol		Neutraalrood-bouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie					
		24 uur	gas	48 uur	gas					kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		gr.	ind.	gr.	ind.		MR.	VP.							
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur rood	gas 0	kleur steenrood	gas (+) 0	flinke groei v. glanzende roode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	kleine staafjes Gram-negatief	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! gasb.! weiv.!	+	0	+	0	rood geen fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)					
	II	"	0	rood	0					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	geen groei		geen groei																																
	IV	"	"	"	"																															
Pegallac-bodem	I	kleur lichtrose	gas 0/dub.	kleur rose	gas +!	als boven	als boven	((+))	kleine poly-morphe staafjes Gram-negatief	g	+	g	(+)	g	+	g	+	g	+	g	+	coagufatie! weiv.	+	+	(+)	0	oranje geen fl.	+	+	niet ver-vloeid	i					
	II	rose	0/dub.	"	(+)					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	"	0/dnb.	"	+																															
	IV	rood	0	"	0																															
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur geelwit	gas +!	als boven kolonies deels dof	als boven	0	als boven	g	+	g	+	p	0	g	+	g	(+)	g	+	coagulatie	+	0	+	0	rood geen fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)					
	II	"	+	geel	+					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	"	+	"	+																															
	IV	"	+	"	+																															
Trypafflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas 0/dub.	kleur geelgroen	gas +	beide flinke groei v. roode kolonies, enkele glanzend, meeste dof. Verder met IV	als boven	(+)	als boven	g	+	g	+	p	0	g	+	g	(+)	dub.	g	+	coagulatie!	+	0	+	0	oranje geen fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)				
	II	"	+	"	+					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	"	+	"	+																															
	IV	"	0/dub.	"	+																															
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol ((+))	groei	indol 0	als boven	als boven	0	als boven	gw	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! weiv.	+	+	+	+	oranje geen fl.	+	(+)	niet ver-vloeid	i					
	II	"	" +!	"	" +!					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	"	" +!	"	" +!																															
	IV	"	" 0	"	" 0																															
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geeloranje	(gr.fl.)	geeloranje	gr.fl.	beide flinke groei v. glanzende roode kolonies Verder met III	als boven	((+))	zeer kleine staafjes Gram-negatief	gw	+	g	+	g	+	g	+	g	+	wbl	+	coagulatie!	+	+	+	+	oranje geen fl.	+	+	niet ver-vloeid	i					
	II	"	gr.fl.	geelbruin	"					" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "
	III	lichtrood	geen fl.	"	"																															
	IV	"	"	geelrood	geen fl.																															

Opmerking. Uit de melk die in de verdunning III op neutraalroodbouillon een positieven uitslag gaf (geelbruin met groene fluorescentie) is een stam gekweekt waarbij in dezelfde neutraalroodbouillon wel een oranje verkleuring, echter geen fluorescentie optrad.

Soort. Rauwe avondmelk van eigen vee d.d. 27-IV-'33.

Herkomst. Br. te A.

Monstername. 28-IV, 10 uur v.m.

In ijskast. 28-IV, 11 uur v.m.

Ingezet. 28-IV, 5 uur n.m.

Monster no. 12 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-keuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur steenrood	gas 0	kleur steenrood	gas (+)	flinke groei v. glanzende donkerroode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	zeer kleine staafjes Gram-negatief
	II	paarsrood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur witrose	gas (+)	kleur witrose	gas +	als boven	als boven	((+))	poly-morphe staafjes Gram-negatief
	II	rose	0	rose	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur witgeel	gas +!	als boven, kolonies zijn wat grooter en doffer	als boven	((+))	zeer kleine staafjes Gram-negatief
	II	"	+	geel	+!				
	III	"	0	"	0				
	IV	paars	0	geelrood	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas 0	kleur geelgroen	gas 0	flinke groei v. glanzende roode kolon.	als boven	((+))	grootendeels zeer kleine polymorphe staafjes Gram-negatief
	II	"	+!	"	+!				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei		"	0				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	donkerrood beslag met weinig vrijliggende kolonies van 2 mm. doorsnee, wat doffer	als boven	+	poly-morphe staafjes, meest vrij plomp Gram-negatief
	II	"	" 0	"	" ((+))				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.	geel	gr.fl.	flinke groei van roode glanzende kolonies	als boven	((+))	poly-morphe staafjes Gram-negatief
	II	rood	geen fl.	"	"				
	III	geen groei		roodbruin	"				
	IV	"	"	geen groei	"				

Opmerking. In het met melk geënte peptonwater is de reactie op indol niet geheel conform het voorschrift toegepast, daar reagens A zooals nader bleek niet het voorgeschreven gehalte aan paradimethylaminobenzaldehyde en HCl had.

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1/100 carbol	Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie							
							kl.	g.			gr.	ind.			MR.	VP.					
gw	+	g	+!	g	+	g	+	g	+!	wbl	+!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gbr	+	g	+!	g	0/dub.	g	+	g	+!	wbl	+!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	c!
g	+	g	+!	p	0	g	+	g	+	g	+!	coagulatie! gasb. weiv.	+	0	+	0	roodbruin gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+!	p	0	g	+	g	+	g	+	coagulatie! (gasb.) weiv.	+	0	+	0	roodbruin gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gw	+	g	+!	g	+	g	+	g	+	g	+!	coagulatie! gasb. weiv.	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+	g	(+)	g	+	g	+	g	+	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)

Soort. Avondmelk (rauw) van eigen vee d.d. 11-V-'33.

Herkomst. v. B. te A.

Monstername. 12-V, 9.15 v.m.

In ijskast. 12-V, 10 v.m.

Ingezet. 12-V, 5 n.m.

Monster no. 13 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
		kleur	gas	kleur	gas				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	steenrood	0	steenrood	(+)	flinke groei van roode glanzende kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	kleine staafjes Gram-negatief
	II	rood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	witrose	0?	rose	+	als boven: kolonies iets grooter	als boven	+	poly-morphe kleine staafjes Gram-negatief
	II	rose	+	"	+				
	III	"	+	"	+				
	IV	"	+	"	+				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	geel	gas +!	geelwit	+!	als boven; kolonies iets kleiner	als boven	((+))	als boven
	II	"	+!	geel	+!				
	III	"	+!	"	+!				
	IV	"	+!	"	+!				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	geelgroen	gas +!	geelgroen	+!	weinig geïsoleerde kolonies, meest plakaten, glanzend en rood, ook veel doffere on-regelm. kolon.	als boven	((+))	als boven
	II	"	+	"	+!				
	III	"	0/dub.	"	+!				
	IV	"	0/dub.	"	+!				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol ((+))	groei	indol ((+))	flinke groei v. glanzende kleinere en doffe grotere kolonies	als boven	(+)	als boven
	II	"	" 0	"	" ((+))				
	III	"	" 0	"	" ((+))				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.	geel	gr.fl.	beide flinke groei v. glanzende roode kolonies. Verder met IV	als boven	((+))	als boven
	II	"	"	"	"				
	III	geelbruin	"	"	"				
	IV	"	"	"	"				

Opmerking over indolreactie als bij monster 12.

Glucose-bouillon v. Chalmers		Lactose-bouillon v. Chalmers		Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ⁰ / ₁₀₀ carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie
kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		gr.	ind.	gr.	ind.		MR.	VP.		
g	+	g	+!	g	+!	g	+!	g	+!	g	+!	coagulatie! gasb! (weiv.)	+	+!	+	+!	roodbruin (gr.fl.)	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+!	g	+!	g	0/ dub.	g	+	g	+!	g	+!	coagulatie! gasb! (weiv.)	+	+!	+	+!	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	c!
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+!	coagulatie! ((gasb.)) ((weiv.))	+	+!	+	+!	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+!	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatie! (gasb.) ((weiv.))	+	+!	+	+!	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gw	+	g	+!	gbr	(+)	g	+!	g	+!	wbl	+!	coagulatie! ((gasb.)) weiv.	+	+!	+	+!	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+	gbr	(+)	g	+	g	+!	g	+!	coagulatie! ((gasb.)) ((weiv.))	+	+!	+	+!	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)

Soort. Avondmelk (rauw) van eigen vee d.d. 11-V-'33.

Herkomst. W. V. te A.

Monstername. 12-V, 9 uur v.m.

In ijskast. 12-V, 10 uur v.m.

Ingezet. 12-V, 5 n.m.

Monster no. 14 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Beveeglijkheid	Vorm en Gramkleuring	Glucose-bouillon v. Chalmers		Lactose-bouillon v. Chalmers		Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol		Neutraalrood-bouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie						
		24 uur		48 uur						kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		gr.	ind.	gr.	ind.		MR.	VP.								
		kleur	gas	kleur	gas																																
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	paarsrood	0	witrose rood	(+)	flinke groei van roode glanzende kolonies	flink witgeelbeslag, glanzend, iets slijmig en iriseerend	(+) vrij plompe staafjes Gramnegatief	rb	+	rbr	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	coagulatief (gasb.) (weiv.)	+	0	(+)	0	rood geen fl.	+	na 12 uur	+	niet verwloeid	i				
	II	"	0	"	0																																
	III	geen groei		geen groei																																	
	IV	"	"	"	"																																
Pegallac-bodem	I	rose	0	rose	0/dub. (+)	als boven	als boven	((+)) als boven	g	+	g	+	g	+	gbr	+	gbr	+	g	+	+	coagulatief (gasb.)	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet verwloeid	(c)						
	II	"	0	"	0																																
	III	"	0	"	0																																
	IV	"	0	"	0																																
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	geel	0/dub.	geel	0/dub. +!	als boven	als boven	0 zeer kleine staafjes Gramnegatief	g	0	p	0	g	0	gw	(+)	gbr	0	gbr	0	0	dun vloeibaar	+	+	+	+	geen groei	+	-	niet verwloeid	0						
	II	"	0/dub.	"	+																																
	III	geelbruin	0/dub.	geelbruin	+																																
	IV	geelpaars	0	"	+																																
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	geelgroen	0/dub.	geelgroen	+!	als boven	als boven	0 vrij plompe staafjes Gramnegatief	rb	+	g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	+	coagulatief gasb. weiv.!	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet verwloeid	(c)						
	II	"	0	"	+!																																
	III	"	0	"	0																																
	IV	"	0	"	0																																
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	bijna geen geïsoleerde kolonies, dik, iets dof donkerrood beslag	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+)) kleine staafjes Gramnegatief	g	0	g	+	g	0	g	0/dub.	g	0/dub.	g	0	0	coagulatief	+	+	+	+	geen groei	+	-	niet verwloeid	0						
	II	"	" +!	"	" +!																																
	III	"	" +!	"	" +!																																
	IV	"	" 0	"	" ((+))																																
Neutraalroodbouillon v. Vassileff	I	oranje rood	geen fl.	oranje rood	geen fl.	slechts 1 kol., rood, glanzend, ± 3 mm. doorsnede	flink beslag, glanzend, witgeel, iets slijmig en iriseerend	(+) zeer kleine staafjes Gramnegatief	g.r.	+	p	0	p	0	rbr	0/dub.	g	+	g.r.	+	+	dun vloeibaar	+	0	(+)	0	rood geen fl.	+	-	niet verwloeid	0						
	II	"	"	"	"																																
	III	geen groei		geen groei																																	
	IV	"	"	"	"																																

Soort. Rauwe avondmelk van eigen vee d.d. 16-V-'33.

Herkomst. Mh. te V.

Monstername. 17-V, v.m. 9.15.

In ijskast. 17-V, v.m. 10 uur.

Ingezet. 17-V, n.m. 7 uur.

Monster no. 15 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 á 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
		kleur	gas	kleur	gas				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	steenrood	0	steenrood	0	flinke groei v. onregelmatige roode kolon. meeste dof, enkele glanzend	droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	(+) vrij plomp staafje Gram-negatief	
	II	paarsrood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	rose	0	rose	0	na 3 maal overenten slechts op 1 plaat 1 kol. rood en glanzend	geel dun beslag, niet iriseerend	0 zeer plomp staafje Gram-positief	
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	geel	0	geel	0	flinke groei v. roode kolonies, meeste dof, enkele glanzend	flink beslag, droog witgeel iriseerend glanzend	(+) polymorphe kleine staafjes Gram-negatief	
	II	"	0/dub.	geelwit	+				
	III	geelrood	0	geelbruin	0				
	IV	geelpaars	0	geel	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	geelgroen	0	geelgroen	+	als boven, alle kolonies glanzend	als boven	((+)) kleine staafjes Gram-negatief	
	II	"	0	"	+				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol +	groei	indol +	als boven	als boven	+ als boven	
	II	"	" 0	"	" 0				
	III	"	" 0	"	" 0				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranje	geen fl.	oranje	geen fl.	als boven	als boven	(+) vrij plomp staafje Gram-negatief	
	II	rood	"	roodbruin	gr.fl.				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				

Opmerking. Uit de verdunning II in neutraalroodbouillon, die een positieven uitslag gaf, is een coli-achtige gekweekt die in dezelfde neutraalroodbouillon geen groei vertoonde.

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol	Neutraalroodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie	
		kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		kl.	g.			gr.	ind.			MR.
g +!	g +!	gbr	0/dub.	g +	g +!	g +	g +!	g +	g +	coagulatief! ((weiv.))	+	0	+	0	geen groei	+	-	iets ver-vloeid?	(c)
In de heele reeks zijn geen veranderingen ingetreden.																			
gw +	gw +!	p	0	g.r.	+	gw +	gw +!	gw +!	gw +!	coagulatief! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	oranje gr.fl.	+	+	niet ver-vloeid	i
g +	g +	g +	g +	g +	g +	g +!	g +!	g +!	g +!	coagulatief! (gasb.)	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g +	g 0/? dub.	p	0	g +	g +!	g +	g +!	g +	g +	coagulatief! (gasb.)	+	+	+	+	rood geen fl.	+	-	niet ver-vloeid	0
g +!	g +!	gbr +!	g +!	g +!	g +	g +	gw +	gw +	gw +	coagulatief!	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet ver-vloeid	(c)

Soort. Avondmelk (rauw) van eigen vee d.d. 17-V-'33.

Herkomst. H. te A.

Monstername. 6.30 n.m. op 17-V.

Direct ingezet om ± 7 n.m. op 17-V.

Monster no. 16 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 á 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur	gas	kleur	gas	na herhaald enten enkele speldepunt-groote roode kolonies	zéér dun witgeel beslag iets iriseerend?	0	staphylococceen Gram-positief
	II	steenrood	0	steenrood	0				
	III	paarsrood	0	rood	0				
	IV	geen groei		geen groei					
Pegallac-bodem	I	kleur	gas	kleur	gas	als boven	als boven	0	als boven
	II	rose	0	rose	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur	gas	kleur	gas	als boven	als boven	0	als boven
	II	geel	0	geel	0				
	III	"	0	geelbruin	0				
	IV	geelbruin	0	"	0				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur	gas	kleur	gas	4 glanzende roode kolonies	flink witgeel beslag droog glanz., iets iriseerend	((+))	vrij plumpe staafjes, Gram-neg., ook enkele Gram-pos. staphyloc.
	II	geelgroen	0	geelgroen	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	geen groei		geen groei					
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol	groei	indol	uit I geen groei, uit III enkele speldepunt-groote roode kolonies na herhaald enten	zeer dun witgeel beslag, iets iriseerend?	+	staafjes met onbestemde kleur
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	"	0	"	0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranjebruin	gr.fl.	oranjebruin	geen fl.	uit I flinke groei van glanzende roode kolon., uit II geen groei	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	0	zeer kleine staafjes Gram-negatief
	II	roodbruin	(gr.fl.)	geelbruin	gr.fl.				
	III	geen groei		roodbruin	"				
	IV	"	"	geen groei	"				

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^{0/100} carbol		Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie
		kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		kl.	g.	gr.	ind.		gr.	ind.		
g.r. 0	g.r. 0	r 0	g 0	g.r. 0	r 0	dun vloeibaar	+	0	+	0	oranje gr.fl.!	+	-	niet vervloeid	0				
g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	g.r. 0	r 0	coagulatie!	+	0	+	0	oranje gr.fl.!	+	-	niet vervloeid	0				
gbr 0	gbr 0	rbr 0	g 0	g 0	r 0	dun vloeibaar	+	0	+	0	oranje gr.fl.!	+	-	niet vervloeid	0				
gbr (+)	gbr (+)	g +!	g 0/ dub.	g (+)	g (+)	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	oranje gr.fl.!	+	-	niet vervloeid	(c)				
r 0	r 0	r 0	g.r. 0	g.r. 0	p 0	coagulatie	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet vervloeid	0				
g 0	g 0	g 0	g 0	g 0	r 0	coagulatie!	+	0	+	0	oranje gr.fl.	+	-	niet vervloeid	0				

Soort. Rauwe avondmelk van eigen vee d.d. 19-V-'33.

Herkomst. J. v. W. te A.

Monstername. 19-V, n.m. 6 uur.

Ijskast. 19-V, n.m. 6.30 uur.

Ingezet. 20-V, n.m. 6.30 uur.

Monster no. 17 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-keuring	Glucose-bouillon v. Chalmers		Lactose-bouillon v. Chalmers		Saccharose-bouillon v. Chalmers		Maltose-bouillon v. Chalmers		Galactose-bouillon v. Chalmers		Manniet-bouillon v. Chalmers		Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 0/100 carbol		Neutraalrood-bouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie		
		24 uur		48 uur						kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.	kl.	g.		gr.	ind.	gr.	ind.		MR.	VP.				
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur	gas	kleur	gas	flinke groei v. glanzende roode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	0	kleine staafjes Gram-negatief	gw	+	gw	+	gw	+	g	+	gw	+	gw	+	coagulatie!	+	((+))	+	((+))	geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)		
	II	bruin	0	witrose	0																												
	III	rood	0	rood	0																												
	IV	geen groei		geen groei																													
Pegallac-bodem	I	kleur	gas	kleur	gas	uit I spaarzame groei v. dofke kolonies uit II flinke groei v. roode glanzende kolonies	als boven	0	als boven	g	+	gw	+	gw	(+)	g	+	gw	+	gw	+	gw	+	coagulatie!	+	((+))	+	((+))	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)
	II	rose	0	rose	0																												
	III	"	0	"	0																												
	IV	"	0	"	0																												
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur	gas	kleur	gas	uit beide flinke groei v. roode glanzende kolonies. Verder met II	als boven	0	als boven	gw	+	gw	(+)	gw	+	gw	(+)	g	+	gw	+	coagulatie!	+	((+))	+	((+))	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)		
	II	witgeel	dub./(+)	witgeel	(+)																												
	III	"	dub./(+)	"	+																												
	IV	geen groei		"	(+)																												
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur	gas	kleur	gas	beide als boven. Verder met III	als boven	0	als boven	gw	+	gw	(+)	gw	(+)	gw	+	gw	+	gw	+	coagulatie!	+	((+))	+	((+))	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)		
	II	geelgroen	0/dub.	geelgroen	+																												
	III	"	0/dub.	"	(+)																												
	IV	"	0/dub.	"	dub./(+)																												
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	uit I spaarzame groei v. dofke kolonies, uit III flinke groei v. glanzende roode kolon.	als boven	0	als boven	g	+	gw	(+)	gw	(+)	g	+	gw	+	gw	+	coagulatie!	+	+	+	((+))	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)		
	II	"	" 0	"	" 0																												
	III	"	" (+)	"	" +																												
	IV	"	" ((+))	"	" (+)																												
Neutraalroodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.!	geel	gr.fl.!	uit beide flinke groei v. glanzende roode kolonies. Verder met IV	als boven	0	als boven	g	+	gw	(+)	gw	(+)	gw	(+)	gw	+	gw	+	coagulatie	+	((+))	+	((+))	als boven	+	-	niet ver-vloeid	(c)		
	II	"	"	"	"																												
	III	bruingeel	"	"	"																												
	IV	"	"	"	"																												

Opmerking. De zwakroode tint bij de indolproef kwam voor den dag als het licht in de lengte door de buis viel.

Soort. Morgenmelk (rauw) van eigen vee d.d. 19-V-'33.

Herkomst. H. te A.

Monstername. 19-V, 6 uur n.m.

In ijskast. 19-V, 6.30 uur n.m.

Ingezet. 20-V, 6.30 uur n.m.

Monster no. 18 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo- agar	Na 24 uur op schuine agar	Be- weeg- lijk- heid	Vorm en Gram- kleuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur geelrood	gas 0	kleur steenrood	gas 0	flinke groei v. glanzende roode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	kleine plompe poly- morphe staafjes Gram- negatief
	II	rood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac- bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas 0	enkele roode ronde kolonies iets doffer	als boven	0	als boven
	II	"	0	"	0				
	III	"	0	"	0				
	IV	niet ingezet		"	0				
Lactose- bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +!	kleur geel	gas +!	beide flinke groei van glanzende roode kolonies Verder met IV	als boven	((+))	als boven
	II	0	+!	"	+!				
	III	0	dub./(+)	"	(+)				
	IV	0	dub./(+)	"	+				
Trypaflavine- lactose-bouil- v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +!	beide als boven, verder met IV	als boven	((+))	als boven, staafjes iets slanker
	II	"	+	"	+!				
	III	"	+	"	+!				
	IV	"	dub./(+)	"	+!				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol (+)	groei	indol (+)	als boven	als boven	((+))	als boven, staafjes zéér klein
	II	"	" +!	"	" +!				
	III	"	" 0	"	" +!				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal- roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.!	geeloranje	gr.fl.!	beide als boven, verder met IV	als boven	((+))	als boven
	II	"	"	"	"				
	III	bruingeel	"	"	"				
	IV	"	"	"	"				

Glucose- bouillon v. Chalmers	Lactose- bouillon v. Chalmers	Saccharose- bouillon v. Chalmers	Maltose- bouillon v. Chalmers	Galactose- bouillon v. Chalmers	Manniet- bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol		Neutraalrood- bouillon v. Vassileff	Glucose-pep- tonwater na 5 dagen		Gelatine steek- cultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	gas	kl.	g.		kl.	g.		
gw +!	g +!	g +	g +	g +	gw +	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+	+	+	oranjegeel gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)
g +!	g +	p 0	g +	g +	g +	als boven	+	+	+	+	als boven	+	-	niet ver- vloeid	c!
g +	g (+)	g +	g +	g +	g +	coagulatie! (gasb.)	+	+	+	+	roodbruin gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	(c)
g +	g +	g (+)	g +!	g +!	g +	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	als boven	+	-	niet ver- vloeid	(c)
g +	g +!	p 0	g +	g +	gbr +	als boven	+	+	+	+	geel gr.fl.	+	-	niet ver- vloeid	c!
gw +	g (+)	g (+)	g +	g +!	gw +	als boven	+	+	+	+	roodbruin gr.fl.!	+	-	niet ver- vloeid	(c)

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 26-V-'33.

Herkomst. P. v. V te A.

Monstername. 26-V, n.m. 2 uur.

Ijskast. 26-V, n.m. 3.30 uur.

Ingezet. 27-V, n.m. 4.30.

Monster no. 19 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm e Gram-keurint
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur steenrood	gas (+)	kleur steenrood	gas +	flinke groei v. glanzende roode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	0	kleine plompe polymorphe staafjes Gram-negatief
	II	rood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur wit	gas +	kleur wit	gas +	als boven	als boven	((+))	als boven
	II	rose	+	rose	+				
	III	"	+	"	+				
	IV	niet geënt		"	+				
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur geel	gas +!	als boven	als boven	0	als boven
	II	"	+	"	+				
	III	"	+	"	+				
	IV	"	+	"	+				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +!	als boven	als boven	0	als boven
	II	"	+	"	+				
	III	"	+	"	+				
	IV	"	0	"	0/dub.				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol 0	groei	indol 0	als boven	als boven	0	als boven
	II	"	" +!	"	" +!				
	III	"	" +!	"	" +!				
	IV	"	" 0	"	" 0				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	oranje	geen fl.	geeloranje	geen fl.	beide als boven. Verder met III	als boven	0	als boven
	II	geelbruin	(gr.fl.)	"	gr.fl.				
	III	roodbruin	(gr.fl.)	roodbruin	(gr.fl.)				
	IV	geen groei		geen groei					

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol	Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steek-cultuur na 7 dagen	Conclusie							
							kl.	g.			gr.	ind.			MR.	VP.					
g.r.	+	g	+	g	+	g	+	g	+	gw	+	coagulatie! gasb.	+	+	+	+	oranje-geel gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+	g	+	g	(+)	g	+	gw	+	coagulatie! gasb.	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	gw	+	coagulatie! gasb. weiv.	+	0	+	0	bruinrood (gr.fl.)	+	-	niet ver-vloeid	(c)
g	+	g	+	g	+	g	+	g	+	gw	+	coagulatie! gasb. weiv.	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet ver-vloeid	(c)
gw	+	g	+	g	+	g	+	g	+	gw	+	coagulatie! (gasb.)	+	+	+	+	geen groei	(+)	+	niet ver-vloeid	i
gw	+	g	(+)	g	+	g	+	g	+	gw	+	coagulatie! (gasb.)	+	+	+	+	bruinrood gr.fl.	(+)	+	niet ver-vloeid	i

Soort. Morgenmelk (rauw) van eigen vee d.d. 26-V-'33.

Herkomst. W. V. te A.

Monstername. 26-V, n.m. 2 uur.

Ijskast. 26-V, n.m. 3.30 uur.

Ingezet. 27-V, n.m. 4.30 uur.

Monster no. 20 geënt op	Geënte hoeveelheid	Beoordeeling na				Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Na 24 uur op schuine agar	Be-weeg-lijk-heid	Vorm en Gram-keuring
		24 uur		48 uur					
Bodem v. Den Dooren de Jong	I	kleur steenrood	gas 0	kleur steenrood	gas 0	flinke groei v. glanzende roode kolonies	flink droog glanzend witgeel beslag, iets iriseerend	((+))	klein dik polymorph staafjes Gram-negatief
	II	rood	0	rood	0				
	III	geen groei		geen groei					
	IV	"	"	"	"				
Pegallac-bodem	I	kleur rose	gas 0	kleur rose	gas dub./(+)	als boven	als boven	((+))	als boven
	II	wit	dub./(+)	"	+				
	III	niet ingezet							
	IV	niet ingezet							
Lactose-bouillon v. Chalmers	I	kleur geel	gas +	kleur witgeel	gas +!	beide als boven, verder gewerkt met IV	als boven	(+)	als boven staafjes iets slanker
	II	"	0/dub.	"	+				
	III	geelbruin	(+)	"	+				
	IV	geelwit	(+)	"	+				
Trypaflavine-lactose-bouillon v. Klimmer	I	kleur geelgroen	gas +	kleur geelgroen	gas +!	als boven	als boven	((+))	als boven
	II	"	+!	"	+!				
	III	"	+!	"	+!				
	IV	"	+	"	+!				
Peptonwater v. Lerner	I	groei	indol +	groei	indol +	als boven, kolonies kleiner	als boven	+	als boven
	II	"	" (+)	"	" +!				
	III	"	" +!	"	" +!				
	IV	"	" +!	"	" +!				
Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	I	geel	gr.fl.!	geel	gr.fl.!	beide als boven, kolon. iets grooter. Verder met IV	als boven	+	zeer kleine staafjes Gram-negatief
	II	"	"	geeloranje	"				
	III	bruingeel	"	"	"				
	IV	"	"	"	"				

Opmerking. Hoewel in alle met melk geënte peptonbodems indol-vorming werd aangetoond, is een coli-achtige geïsoleerd die deze eigenschap mist.

Glucose-bouillon v. Chalmers	Lactose-bouillon v. Chalmers	Saccharose-bouillon v. Chalmers	Maltose-bouillon v. Chalmers	Galactose-bouillon v. Chalmers	Manniet-bouillon v. Chalmers	Ondermelk	Peptonwater v. Lerner		Peptonwater v. Lerner + 1 ^o / ₁₀₀ carbol	Neutraal-roodbouillon v. Vassileff	Glucose-peptonwater na 5 dagen		Gelatine steekcultuur na 7 dagen	Conclusie
							kl.	g.			gr.	ind.		
gw +	g +!	g +	g +	gw +!	gw +!	coagulatie! (gasb.)	+	0	+	0	geen groei	+	-	niet ver-vloeid (c)
gw +	g +	g +!	g +	g +!	gw +!	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	+!	+	+!	roodbruin ((gr.fl.))	+	-	niet ver-vloeid (c)
g +!	g +	p 0	g (+)	g +!	gw +!	coagulatie!	+	0	+	0	geeloranje gr.fl.	+	-	niet ver-vloeid (c)
g +	g +!	p 0	g (+)	g +!	gw +	coagulatie!	+	0	+	0	als boven	+	-	niet ver-vloeid (c)
g +	g +	p 0	g +	g +!	g +	coagulatie! (gasb.) (weiv.)	+	0	+	0	als boven	+	-	niet ver-vloeid (c)
g +	g +!	p 0	g (+)	g +	gw +!	coagulatie!	+	0	+	0	als boven	+	-	niet ver-vloeid (c)

Soort. Rauwe morgenmelk van eigen vee d.d. 26-V-'33.

Herkomst. J. D. te A.

Monstername. 26-V, n.m. 2.30 uur.

Ijkast. 26-V, n.m. 3.30 uur.

Ingezet. 27-V, n.m. 4.20 uur.

Samenvatting van de resultaten, verkregen bij het eerste deel van het eigen onderzoek

I. Vergelijking der gebruikte bodems op hun gevoeligheid en betrouwbaarheid.

Uit alle 20 onderzochte monsters werd, hetzij uit één, hetzij uit meerdere der gebruikte bodems een coli-achtige geïsoleerd uit een hoeveelheid van 1 cc of kleiner.

Bij deze 20 monsters werd coli door een „typische” verandering in één of meer der gebruikte bodems aangetoond in

Verdunning	IV	11 keer
„	III	2 „
„	II	4 „
„	I	2 „
„	0	1 „ , d.w.z. bij dit monster

(no. 16) is in geen enkele der gebruikte bodems coli door een typische verandering na 1 of 2 maal 24 uur aangegeven, maar is ze alleen geïsoleerd uit de onveranderde Trypaflavinebouillon.

a. De bodem v. den Dooren de Jong.

De aanwijzingen hiermee verkregen, zijn, overeenkomstig de ervaringen van dezen auteur geïnterpreteerd als volgt:

Positief : er is kleurverandering en (veel of weinig) gas ontstaan.

Dubieus : „ „ „ „ , echter geen gasvorming.

Negatief: „ „ géén „ en géén gasvorming.

Van de 20 keeren, dat deze bodem werd gebruikt, was de aanwijzing:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief	7 keer	13 keer
Dubieus	13 „	7 „
Negatief	0 „	0 „

Opgemerkt moet worden, dat in de verdunning III en IV nimmer groei is geconstateerd na 2×24 uur, wat natuurlijk een gevolg is van het gebrek aan assimileerbare bestanddeelen. In de verdunningen I en II is de groei, althans de gasvorming, gering en langzaam vergeleken met de andere bodems — waarschijnlijk een gevolg van het hooge Na-taurocholaatgehalte. Na 2 dagen was het

aantal monsters, waarmee geen positieve veranderingen waren verkregen, terwijl er coli uit te kweken was, nog 5, d.w.z. 25% van het totaal. Van de 13 keeren, dat werd uitgegaan van een bodem, die na hoogstens 48 uren een positieve reactie gaf, werd 13 keer een coli-achtige gevonden. 3 keer ging deze positieve reactie met een zeer minieme gasvorming gepaard (no. 1 — 4 — 5). Van de 7 keeren, dat van een bodem werd uitgegaan, die een dubieuze aanwijzing gaf na 2×24 uur, werd 5 keer coli aangetroffen (no. 9 — 15 — 17 — 18 — 20).

In alle gevallen, waarin in een hogere verdunning een positieve uitslag werd gevonden, werd deze ook geconstateerd in verdunning I.

Een concentratie van 1.0% Na-taurocholaat remt dus blijkbaar den groei van banale melkzuurvormers zóó, dat coli niet overgroeid wordt. Echter schijnt deze hoge concentratie op den groei van coli zelf ook ongunstig te werken, hoewel deze er blijkbaar wel in kan blijven leven.

b. De Pegallacbodem

De hiermee verkregen aanwijzingen zijn overeenkomstig de mededeelingen van diverse auteurs (o.a. *Lerner*) geïnterpreteerd als volgt:

Positief : er is kleurverandering en (veel of weinig) gas ontstaan.

Negatief: Gasvorming ontbreekt.

Van de 18 keeren, dat de Pegallacbodem werd gebruikt, was de aanwijzing:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief :	11 keer	13 keer (waarvan 1 keer nog maar zwak positief n.l. no. 14).
Negatief:	7 „	5 „

Bij de navolgende monsters werd in een hogere verdunning wél een voor coli typische verandering gevonden, in een lagere niet of onduidelijk. (Dit is misschien o.a. veroorzaakt door het feit, dat de gal een te geringe remmende kracht uitoefent op de banale kiemen, in de bodems geënt met grootere hoeveelheden melk, en kan natuurlijk ook een gevolg zijn van een ongelijkmatige verdeling van de coli-achtigen in het betreffende monster.) Het verloop was aldus onregelmatig bij:

No. v. h. monster

1. verdunning I zeer zwak positief, II III en IV positief
 2. „ II na 24 uur zeer zwakke, na 48 uur even sterke gasvorming als de hoogere verdunningen
 6. „ I als boven
 8. „ I II en III negatief, IV positief
 10. „ I na 24 uur negatief, na 48 uur zwakke gasvorming
 II positief, III en IV negatief
 14. „ I zeer zwakke gasvorming, II positief
 20. „ I na 24 uur negatief, na 48 uur zwakke gasvorming; II zwak positief.

Van de 13 keeren, dat werd uitgegaan van een bodem, die na hoogstens 2×24 uur positief was, werd 12 keer een coli-achtige gevonden, en 1 keer niet (no. 9).

Van de 5 keer, dat werd uitgegaan van een bodem, die na 2×24 uur negatief was, werd 2 keer coli gevonden (no. 17 en 18), en 3 keer niet (no. 7 — 15 en 16).

c. De Lactosebodem volgens *Chalmers*

Interpretatie der gevonden aanwijzingen:

Positief : geelkleuring en gasvorming, of wel andere kleur en gasvorming.

Negatief: gasvorming ontbreekt.

Van de 20 keeren, dat deze bodem werd gebruikt, was de uitslag:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief	17 keer	19 keer
Negatief	3 „	1 „

Een enkelen keer trad ook bij dezen bodem de reactie in een hoogere verdunning sneller en/of duidelijker op dan in een lagere, of bleef zij in de laatste achterwege.

No. 14: verdunning I vertoont na 48 uur nog zeer zwakke gasvorming, II III en IV flinke.

In no. 15 was na 48 uur verdunning II positief, I III en IV negatief.

No. 17: „ I en IV vertoonen na 48 uur zwakke, II en III flinke gasvorming.

In no. 20 was na 24 uur verdunning I III en IV duidelijk, en II zeer zwak positief, na 48 uur was de laatste ook flink positief.

Van de 19 keeren dat werd uitgegaan van een bodem, die na hoogstens 48 uren positieve aanwijzing gaf, werd 18 keeren een coli-achtige gevonden, en 1 keer (no. 14) een afwijkend, Gram-negatief staafje.

Den éénen keer, dat na 48 uren de aanwijzing nog negatief was, werd ook geen coli-achtige gekweekt (no. 16).

d. De Trypaflavinolactosebouillon volgens *Klimmer*

In dezen bodem is zuurvorming door kleurverandering niet te constateeren, en is alleen gelet op de gasvorming. De interpretatie is als volgt:

Positief : er is (veel of weinig) gas gevormd.

Negatief: gasvorming ontbreekt.

Van de 20 keeren, dat deze bodem werd gebruikt, was de aanwijzing:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief	15 keer	17 keer
Negatief	5 „	3 „

Een enkelen keer verliep de reactie bij dezen bodem sneller of duidelijker in een hogere verdunning dan in een lagere, of bleef zij in de laatste achterwege. Dit was het geval bij:

No. 2.	na 24 uur	waren verdunning	II en III	duidelijk,	I en IV	zeer zwak positief, na 48 uur alle flink positief
„ 6.	„ „ „ „ „ „					I en IV positief, II en III negatief, na 48 uur I II en IV positief, III negatief
„ 8.	„ 48	„ „ „ „				II positief, I III en IV negatief.
„ 11.						hier was het verloop als bij no. 2
„ 12.	„ „ „ „ „ „ „ „					„ „ 8.

Van de 17 keeren dat werd uitgegaan van een bodem, die na hoogstens 48 uur een positieve aanwijzing gaf, werd 17 keeren een

coli-achtige gevonden; in één dezer gevallen (no. 17), was er na 2 dagen nog maar een zwakke gasontwikkeling. 3 keeren was de aanwijzing na 48 uren nog negatief. In één dezer gevallen kon tòch coli worden geïsoleerd (no. 16). In dit laatste monster was de Trypaflavinebodern de eenige, waaruit nog coli te kweeken was (4 kolonies op Endo-agar). Bij de andere boderns, waar de aanwijzing in alle verdunningen eveneens negatief was, kon dit uit geen van allen geschieden. Het betrof hier dus een monster, dat zéér arm aan coli was, en het pleit voor de groote selectiviteit en de geringe toxiciteit van dezen bodern voor coli-achtigen, dat in dit geval nog dergelijke organismen, ondanks hun blijkbaar buitengewoon gering aantal, in leven waren gebleven, en waren aan te toonen.

e. De Peptonwaterbodern volgens *Lerner*

Interpretatie der met dezen bodern verkregen aanwijzingen:

Positief : er is (meer of minder) duidelijke indolvorming
= + of (+).

Dubieus : de roode kleur is alleen waar te nemen, in dien men van boven naar onder door de buis ziet = (+) .

Negatief: er is geen roodkleuring hoegenaamd ook waar te nemen
= 0.

Van de 20 keeren dat deze bodern werd gebruikt, was de aanwijzing:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief	13 keer	15 keer
Dubieus	3 „	2 „
Negatief	4 „	3 „

In een aantal gevallen is in de verdunning I wel indol gevormd al of niet tegelijk met andere verdunningen (bij de no.'s 3, 5, 6, 13, 18 en 20). Omgekeerd gaf een hoogere verdunning herhaaldelijk sneller of duidelijker indolvorming te zien als een lagere, of was ze in de laatste in het geheel niet aan te toonen. Speciaal in de verdunning I was dit dikwijls het geval (no.'s 2, 9, 10, 11, 12, 17 en 19). Waar in dezen bodern remmende stoffen ontbreken, en speciaal in I door het $\frac{1}{2}$ % lactosegehalte snel een vrij hooge zuur-

graad kan ontstaan, indien voldoende banale melkzuurkiemen aanwezig zijn, ligt het vermoeden voor de hand, dat in deze bodems door de hoogere zuurconcentratie de aanwezige coli zich niet heeft kunnen ontwikkelen (zie ook *Pien* en *Bachimont*).

Verschillende keeren werd na 24 uur in een of meer verdunningen van een bepaald monster geen of zwakke, na 48 uur een duidelijke of versterkte indolvorming gezien (no.'s 1, 2, 9, 13, 14, 17, 18 en 20).

Van de 15 keeren, dat werd uitgegaan van een bodem, waarin na hoogstens 48 uur indol was aan te toonen, werd 11 keeren coli gevonden, en 4 keeren niet (no. 1, 8, 14 en 15). Hiervan stonden de kiemen, uit no. 1, 14 en 15 geïsoleerd, dicht bij de coli-achtigen (geen glucosevergisting bij no. 1 en 14, geen gasvorming uit lactose bij no. 15).

2 keer werd gekweekt uit een bodem, die na 48 uur nog een dubieuze indolreactie te zien gaf. Hierbij werd één keer een coli-achtige geïsoleerd (no. 13) en één keer niet (no. 4).

3 keer werd uitgegaan van een bodem, die na 48 uur een negatieve reactie op indol te zien gaf. Hieruit werd 2 keer coli gekweekt (no. 7 en 12).

Vermeldenswaard is, dat in monster no. 20 in alle verdunningen indolvorming was aan te toonen, terwijl de hieruit gekweekte coli géén indol vormde!

f. De Neutraalroodbouillon volgens *Vassileff*

Interpretatie der verkregen aanwijzingen, overeenkomstig de door V. gegeven voorschriften:

Positief : kanariegele, oranjegele, of bruingele verkleuring met duidelijk groene fluorescentie.

Zwakpositief: roodachtige kleur met meer of minder duidelijke fluorescentie.

Negatief : roode of andere kleur zonder fluorescentie.

Van de 20 keeren, dat deze bodem gebruikt werd, was de aanwijzing:

	Na 24 uur	Na 48 uur
Positief	14 keer	15 keer
Zwak positief	2 „	2 „
Negatief	4 „	3 „

De meening van *Vassileff*, als zou de aanwezigheid van lactose storend werken op het ontstaan van een kanariegele kleur, is apert onjuist, daar heel dikwijls in de verdunning I een typische reactie optrad, terwijl hierin toch de concentratie der lactose $\frac{1}{2}$ % bedraagt.

Soms verdwijnt de reactie, die na 24 uur duidelijk is, bij langer bebroeden (no. 1 — verd. I), of wordt zij minder duidelijk (no. 18 en 20).

In de verdunning I trad geen typische verandering op, terwijl dat wel het geval was bij hoogere verdunningen, bij de monsters no. 4, 15 en 19. Meermalen zien wij het eigenaardige verschijnsel dat, terwijl in de oorspronkelijke met melk of haar verdunningen geënte bodems een typische reactie optrad, de hieruit gekweekte stammen het vermogen om neutraalroodbouillon volgens *Vassileff* typisch te veranderen, geheel of gedeeltelijk misten (no.'s 1, 10, 11, 15 en 18). Het maakt sterk den indruk, alsof fluorescentie constanter en van meer beteekenis is dan gele verkleuring.

Van de 13 keeren, dat werd uitgegaan van een bodem, waarin na hoogstens 48 uren een positieve aanwijzing was verkregen, werd 11 keer een coli-achtige gevonden, en 2 keer niet (no. 7 en 16).

4 keeren ging ik uit van een bodem, die na 48 uur nog pas een zwakpositieve aanwijzing gaf. Hierbij werd 3 keer coli gevonden, en 1 keer niet (no. 5).

3 keeren ging ik uit van een bodem, die na 48 uur nog steeds een negatieve aanwijzing gaf. Hieruit werd geen enkele keer een coli-achtige gekweekt.

De volgende tabel geeft een overzicht van de met elken bodem verkregen aanwijzingen, terwijl tevens, voorzoover dat bij een dergelijk betrekkelijk klein aantal onderzoeken waarde kan hebben, in procenten is uitgedrukt de betrouwbaarheid met betrekking tot de mogelijkheid van het isoleeren van coli-achtigen bij een positieve aanwijzing, en de gevoeligheid, d.w.z. het door positieve reacties juist aangegeven percentage van het totaal van de met den betreffende bodem onderzochte monsters.

Bodem	Aantal reacties na 48 uur			Aantal keeren dat coli werd gekweekt uit aanwezig.			Betrouwbaarheid van een + reactie	Gevoeligheid
	pos.	dub.	neg.	pos.	dub.	neg.		
Den D. de J.	13	7	0	13	5	0	100 0/0	65 0/0
Pegallac	13	0	5	12	0	2	92,4 0/0	66,6 0/0
Chalmers	19	0	1	18	0	0	95 0/0	90 0/0
Trypaflavine	17	0	3	17	0	1	100 0/0	85 0/0
Peptonwater	15	3	2	11	1	2	73 0/0	55 à
Vassileff	15	2	3	11	3	0	73 0/0	60 0/0 55 à 70 0/0

De gebruikte bodems ieder voor zich gaven coli aan door een min of meer uitgesproken typische reactie als volgt:

Bodem	Verdunningen					0 (d.i. geen typische reactie, maar wel geïsoleerd)
	IV	III	II	I		
Den D. de J.	0	0	6	7	5	
Pegallac	5	2	4	1	2	
Chalmers	9	0	6	3	0	
Trypaflavine	10	1	5	1	1	
Peptonwater	4	4	3	2	1	
Vassileff	6	5	2	1	0	

De verdeling der uit de diverse bodems geïsoleerde stammen van coli-achtigen over de verschillende types (zie ook de volgende paragraaf) was als volgt:

Bodem	Type der geïsoleerde coli-achtigen				
	cl	(c)	i	(a)	a
Den D. de J.	2	10	6	0	0
Pegallac	5	6	2	1	0
Chalmers	2	8	8	0	0
Trypaflavine	1	13	4	0	0
Peptonwater	2	5	7	0	0
Vassileff	2	9	3	0	0
Totaal	14	51	30	1	0

Geen enkele bodem schijnt een uitgesproken voorkeur te hebben voor een bepaald type, behalve misschien de Pegallac, waaruit naar verhouding iets vaker het type c! werd geïsoleerd. Slechts vier keer werd uit een monster melk door alle bodems eenzelfde type tot ontwikkeling gebracht, n.l. in

Monster	3	type	c!
„	7	„	i
„	17	„	(c)
„	20	„	(c)

Overigens werden uit elk monster 2 of meer der genoemde types gekweekt.

II. Geïsoleerde stammen en hun eigenschappen

In totaal werden geïsoleerd 96 stammen van coli-achtigen.

Uit het verloop der Methylrood- en Voges-Proskauerreactie bleek, dat hiervan 65 stammen te rekenen waren tot de coligroep, 1 tot aërogenesgroep, terwijl bij 30 stammen de beide reacties positief verliepen. Deze laatste werden als „intermediair” betiteld. De 65 eerstgenoemde stammen werden nader onderverdeeld in 14 typische faecale colistammen (c!), en 51 eenigszins afwijkende stammen (c) — zulks overeenkomstig de reeds eerder gegeven uiteenzetting. Bij de bespreking der diverse bodems voor de determinering gebruikt, zal voor elk type een overzicht gegeven worden van de geconstateerde eigenschappen. Het blijkt dat van het type (c) zeer veel stammen, wat betreft saccharosevergisting — indolvorming en beweeglijkheid, dicht bij de aërogenesgroep staan. Indeling hierbij is echter niet mogelijk op grond van het verloop van de M.R.- en de V.P.-reactie.

Van de 30 stammen van het intermediaire type (i) bleken verreweg de meeste saccharosevergisting onder zuur- en gasvorming te vertoonen, naast een positieve V.P.-reactie. Zij staan dus zeer dicht bij de groep aërogenes. Indeling hierbij is echter niet mogelijk op grond van de eveneens positief verlopende M.R.-reactie.

Slechts 1 aërogenesachtige werd geïsoleerd (V.P. + en M.R. —) — echter ook al weer niet het klassieke type, daar saccharose niet werd vergist, en de beweeglijkheid duidelijk was.

Hier moge nu volgen een bespreking van elk gebruikt reactief afzonderlijk.

1. De cultures op Endo-agar.

De „typische” kolonies op Endo-agar waren steeds: donkerrood, glanzend, plat tot gering convex, en 1 à 3 mm in doorsnede.

Metaalglans kwam lang niet steeds voor.

Op Endo-agar zijn 7 keer „typische” kolonies gezien (Chalmers no. 14, Peptonwater no. 8 en 15, Vassileff no. 5 — 9 — 14 en 16), zonder dat er coli uit gekweekt kon worden.

De groei op Endo-agar was echter niet steeds „typisch”; deze verliep als volgt bij de hieronder genoemde stammen:

- 1 stam (den D. de J. 7. type i) gaf op Endo-agar lichtroode kolonies
- | | | | | |
|-----------|---|------------------------|---|--|
| 3 stammen | { | Pegallac 18 type c! | } | gaven op Endo-agar
doffe kolonies |
| | | Chalmers 11 „ (c) | | |
| | | „ 12 „ (c) | | |
| 2 stammen | { | Peptonwater 9 type (c) | } | gaven op Endo-agar
doffe en onregelmatige
kolonies |
| | | Vassileff 10 „ i | | |
- 1 stam (Peptonwater 12 type (c)) gaf op Endo-agar doffe, onregelmatige plakken.

Zeer kleine roode kolonies, waaruit géén coli en soms Gram-positieve streptococci of afwijkende soorten te kweken waren, kwamen voor.

Deze bevindingen bevestigen de reeds eerder uitgesproken opinie, dat het zéér bezwaarlijk is om, zooals *Demeter c.s.* of *Velthorst* gedaan hebben, voor quantitative colibepaling in melk als maatstaf te nemen het aantal op groote of kleine plaat groeiende „typische” kolonies.

2. Alle 96 stammen gaven op schuingestolden bouillonagar een flink, droog, glanzend, wit tot zeer lichtgeel beslag, dat bij schuin doorvallend licht iets iriseerde. Slechts in drie gevallen was het beslag iets slijmig (monsters no. 14 den D. de J. type i, Pegallac type (c) en Trypaflavine type (c)).

3. Alle 96 cultures bleken te bestaan uit Gram-negatieve staafjes, waarvan de vorm en de grootte sterk uiteen liepen. Dikwijls bleken in één cultuur meerdere vormen voor te komen (polymorphie).

4. De beweeglijkheid varieerde ook sterk, 48 stammen waren meer of minder duidelijk beweeglijk (+ tot (+)), 28 uiterst weinig ((+)), en 20 onbeweeglijk (0). De beweeglijkheid voor de verschillende types was als volgt:

		+ of (+)	((+))	0
14	type cl	12	1	1
51	„ (c)	18	20	13
30	„ i	17	7	6
1	„ (a)	1	0	0

5. Alle cultures vergistten onder zuur- en gasvorming: glucose — lactose — manniet, en tevens galactose (stam Trypaflavine no. 11 type (c) gaf hierin een zeer zwakke gasvorming te zien), en maltose (stam Trypaflavine no. 16 type (c) gaf hierin een dubieuze gasvorming te zien).

De saccharosevergisting onder zuur- en gasvorming verliep bij de verschillende stammen als volgt:

		positief	dubieuze gasvorm.	negatief
14	type cl			14
51	„ (c)	30	7	14
30	„ i	27	1	2
1	„ (a)			1

Het is reeds lang bekend, dat de mate van zuur- en gasvorming door de verschillende colistammen uit de verschillende suikers zeer uiteen loopt.

Sterk valt dit in ons onderzoek op bij den bodem van *Chalmers*, waar herhaaldelijk inplaats van de meer of minder duidelijke gele of oranjegele verkleuring van de broomkresolpurper een onbestemd roodachtig-blauwe, een bruingele, een vuilgele, een witblauwe of vuilwitte kleur ontstond, speciaal in den mannietbouillon. Mogelijk is hier, evenals in de bodems bereid met lakmoes een gedeeltelijke reductie der kleurstof zèlf in het spel, terwijl voor het terugkeeren van een paarse of blauwe tint secundaire NH_3 -vorming aansprakelijk gesteld zou kunnen worden (waarop o.a. door *Chalmers* gewezen is).

6. 95 stammen gaven binnen hoogstens 5 dagen (meestal binnen veel korteren tijd) spontane coagulatie in melk, al of niet met gas- en weivorming gepaard gaande. Alleen de stam Pegallac 8 type (c) coaguleerde binnen dezen tijd niet spontaan. Deze stam is niet langer dan 5 dagen geobserveerd; in de literatuur vindt men stammen beschreven, die, bij overigens normale coli-eigenschappen, soms pas na méér dan 10 dagen de melk coaguleerden.

7. Alle 96 stammen groeiden goed in peptonwater met en zonder toevoeging van 1⁰/₀₀ carbol. De indolvorming verliep bij de verschillende stammen in deze milieu's als volgt:

		Indolvorming in					
		peptonwater			peptonwater met 1 ⁰ / ₀₀ carbol		
		+ en (+)	((+))	0	+ en (+)	((+))	0
		pos.	dub.	neg.	pos.	dub.	neg.
14	type cl	14	—	—	14	—	—
51	„ (c)	23	5	23	21	7	23
30	„ i	17	1	12	16	1	13
1	„ (a)			1			1

8. De kweek in neutraalroodbouillon volgens Vassileff gaf het volgende beeld te zien:

		positief	zwak-positief	negatief
14	type cl	14		
51	„ (c)	31	2	18
30	„ i	4	1	25
1	„ (a)			1

9. Het verloop der Methylrood- en der Voges-Proskauerreactie is bij de indeeling der stammen reeds besproken.

10. Geen enkele stam, behalve stam den D. de J. no. 15 type (c) vervloede gelatine in steekcultuur binnen 7 dagen.

Er blijkt dus, dat bij 96 stammen die uit melk werden geïsoleerd de saccharosevergisting onder zuur- en gasvorming 31 × negatief, en 8 × zwak tot dubieus verliep

de indolvorming in peptonwater: 36 × negatief en 6 × dubieus

de indolvorming in peptonwater + 1⁰/₀₀ carbol: 37 × negatief en

8 × dubieus

de neutraalomzetting: 44 × negatief en 3 × zwakpositief.

Waaruit dus volgt, dat de identificatiemethoden voor coli in melk, die op deze eigenschappen berusten, een zeer belangrijk percentage miswijzingen kunnen geven.

Van alle stammen waren er maar 14, die direct in een groep, n.l. (faecale) coli, in te deelen waren. De rest bestond uit in totaal 82 tusschenvormen, waarvan een aantal eigenschappen sterk varieerden, zoodat een indeeling nòch bij de aërogenes-, nòch bij de coligroep kon plaats vinden. Dit stemt overeen met de bevindingen, die in den laatsten tijd zijn gepubliceerd door *Kon, Malcolm, Demeter* en *Sauer* — en *Lipska*.

Ook zij kregen immers bij rechtstreeks kweken uit melk een zeer groot percentage tusschenvormen. Indien zij deze een herhaalde passage over brilliantgroencitraatagar of dergelijke bodems lieten ondergaan, dan bleken verschillende cultures zich te zuiveren, en hielden zij hieruit pure coli- of aërogenesstammen over, maar toch bleven er ook bij zéér vaak herhaalde passages over selectieve platen, nog een aantal niet te definieeren vormen, nòch tot de coli-, nòch tot de aërogenesgroep behoorend, over.

Voor wat betreft de M.R.- en de V.P.-reactie vinden ook deze auteurs, dat deze heel vaak bij uit melk geïsoleerde stammen verlopen, alsof wij met coli te doen hebben, terwijl de overige eigenschappen wijzen op aërogenes.

Voorloopige conclusies

Voor een snelle en gemakkelijke aantooning van coli-achtigen in melk e.d. verdient een ophoopingsmethode in vloeibaar milieu de voorkeur boven de z.g.n. plaatmethodes op selectieve bodems.

Van deze „vloeibare presumptieve tests” komen alleen die in aanmerking, welke gebaseerd zijn op eigenschappen, die inhaerent zijn aan de geheele coligroep, met uitsluiting liefst van zooveel mogelijk andere bacteriesoorten.

Uit dien hoofde zijn methoden als de peptonwatermethode volgens *Lerner* en de neutraalroodmethode volgens *Vassileff* niet aan te bevelen; dit blijkt o.a. uit het feit, dat van de 96 stammen er 36 geen indol vormden, en 44 geen neutraalroodomzetting gaven, en bovendien hieruit, dat de gevoeligheid dezer bodems voor melk is

te stellen op slechts resp. 55 à 60% en 55 à 70%, de betrouwbaarheid bij positieven uitslag op resp. 73% en 73%.

Daar één van de constante eigenschappen van de geheele coli-groep is het vergisten in aërobe en anaërobe omstandigheden, onder zuur- en gasvorming, van lactose, terwijl deze eigenschap niet eigen zou zijn aan andere bacteriesoorten, speciaal in milieu's waaraan remmende stoffen zijn toegevoegd, dienen bij voorkeur dergelijke milieu's voor het (voorloopig) aantonen van coli-achtigen te worden gebruikt.

Bij de vier op dit principe gebaseerde voedingsbodems, die in het onderzoek werden betrokken, bleek, dat de lactosebouillon volgens *Chalmers* en die volgens *Klimmer* wegens hun zéér hoogen graad van betrouwbaarheid (resp. 95% en 100%) en hun groote gevoeligheid voor coli in melk (resp. 90% en 85% — zie blz. 111) de voorkeur verdienen boven den bodem volgens *den Dooren de Jong* en den *Pegallac*bodem.

De miswijzingen betroffen voor de *Trypaflavine*bouillon 3 zeer coliarne monsters (no. 3 — 9 en 16), en voor de *Chalmers*bouillon 2 eveneens zeer coliarne monsters (no. 14 en 16), waarbij van deze 5 miswijzingen alleen *Chalmers*bouillon no. 14 een positieven uitslag bij negatieve colivondst te zien gaf.

De *Trypaflavine*- en de *Chalmers*bouillon gaven bovendien het vaakst een positieve uitkomst in de hoogste gebruikte verdunning. De temperatuur en tijd van bebroeden zullen voor deze bodems moeten bedragen resp 37° C. en 2 × 24 uur.

Een differentieering van faecale en niet-faecale coli in melk is zeer moeilijk door te voeren. Er zijn aanwijzingen gevonden, dat vele coli-achtigen in melk van niet-faecalen oorsprong zijn. Dit stemt overeen met de gegevens uit de literatuur.

Het bovenstaande bevestigt dus hetgeen eerder ook alreeds is geopperd, n.l. dat het geen zin heeft te trachten de in melk aanwezige coli-achtigen nader te determineeren.

Gezien het verloop der reacties schijnt het in het algemeen voldoende te zijn om bij melk, afkomstig van behoorlijke bedrijven, de gebruikte voedingsbodems te enten met hoeveelheden tusschen 1 en 0.001 cc; er behoeven géén hoogere verdunningen te worden aangelegd.

TWEEDE DEEL

EEN NADER ONDERZOEK OVER EEN GROOTER
AANTAL MONSTERS MELK, OM NA TE GAAN, OF BIJ
TOEPASSING DER BEIDE (VOORLOOPIG ALS DE BESTE
ERKENDE) METHODEN DE AANVANKELIJK GECON-
STATEERDE BETROUWBAARHEID EN GEVOELIGHEID
BEHOUDEN BLIJVEN**Inleiding en algemeene beschouwingen**

Hiertoe werden van 57 monsters rauwe, 23 monsters „losse” gepasteuriseerde, en 3 monsters gepasteuriseerde flesschenmelk van goede herkomst wisselende hoeveelheden geënt op Trypaflavine-lactosebouillon v. *Klimmer* en lactose-pepton-broomkresolpurper-taurocholaatbouillon v. *Chalmers*.

Vóór het enten werden de monsters behandeld als vroeger is omschreven.

De geënte bodems werden gecontroleerd na 24, 48, en voorzoover noodig ook na 72, 96, 120 en 144 uur, om te zien of in sommige gevallen ook nog na langer dan 2×24 uur een positieve reactie optrad, die aan coli te danken was.

Van de monsters no. 11, 12, 17, 18, 19, 25, 45 tot en met 67, en 79 tot en met 83 werd na 1 dag overgeënt op Endo-agar, van de andere na 2 dagen.

Van de ± 20 uur oude cultures op Endo-agar werd, voorzoover mogelijk een „typische” kolonie afgeënt op schuinen agar. Ook nu werd weer opgemerkt, dat de colikolonies bijna steeds, maar niet altijd, waren: donkerrood, glad, glanzend en rond. De grootte liep nogal uiteen, en metaalglans kwam lang niet steeds voor.

Soms waren de kolonies erg groot, vertoonden min of meer een „Delle”, of waren slijmig en convex.

Van de 24 uur oude cultuur op schuinen agar werd een uitstrijkje gemaakt en gekleurd volgens Gram. Bleken de gekweekte kiemen Gram-negatieve kleine staafjes te zijn, dan werd de cultuur weer, nadat een steek in bouillongelatine was gemaakt, afgespoeld met ± 1 cc physiologische NaCl-oplossing, en hiervan 4 à 5 druppels geënt (dus weer „heavy inoculation”) op glucose- en lactosebouillon v. *Chalmers*, en op ondermelk, waaraan lakmoes en

Na_2CO_3 waren toegevoegd, tot een neutrale tint van de lakmoes was verkregen. Deze laatste bodem, die in het voorgaande onderzoek niet is gebruikt, is, strikt genomen, beter dan ondermelk zonder lakmoes voor het aantoonen van coli-achtigen, omdat naast coagulatie, in melk ook zuurvorming ontstaat, die met dezen bodem direct is af te lezen. De bereiding der lakmoes-ondermelk vond plaats op dezelfde wijze, als de ondermelk zonder lakmoes, nl. door de cultuurbuisjes na vulling op 3 achtereenvolgende dagen telkens 15 à 30 minuten bij 100 à 105° C. te steriliseeren (voor de bereiding werd uitsluitend versch gepasteuriseerde ondermelk gebruikt).

De contrôle dezer bodems werd, voorzoover noodig, voortgezet gedurende 5 dagen, die van de gelatinesteekcultuur in elk geval gedurende 14 dagen. Aan eventueel optredende gas- en weivorming in de lakmoes-ondermelk is geen aandacht geschonken bij het noteeren der uitkomsten.

Ter beoordeeling der vraag of wij met coli te doen hadden of niet, is dus niet toegepast de uitvoerige determinering van het eerste deel van het onderzoek, maar is deze beperkt tot de voornaamste en meest constante eigenschappen der geheele coligroep, te weten: zuur- en gasvorming uit glucose en lactose, zuurvorming en coagulatie in ondermelk, als regel geen vervloeiing veroorzakend in gelatine.

Beweeglijkheid, indolvorming, saccharosevergiftiging, en neutraal-roodomzetting zijn als zeer inconstant niet nader bekeken. Ook van kweeken in galactose-, maltose- en manniëtbouillon en in 1% carbolzuurhoudend milieu is afgezien, om het onderzoek niet al te zeer uit te breiden.

In de rubriek „conclusie” is tenslotte, als de geïsoleerde kiem een coli-achtige was, c ingevuld. Werd niet een kiem uit deze groep geïsoleerd, of in het geheel niets gekweekt, dan werd 0 genoteerd.

De in de verschillende rubrieken der hierna volgende tabellen gebruikte afkortingen zijn de volgende:

Rubriek soort der melk

- r rauwe melk
- lp losse gepasteuriseerde melk
- fp gepasteuriseerde flesschen melk

Rubriek gebruikte bodems

- Ch Chalmers lactosebouillon
 Tr Trypaflavine lactosebouillon

Rubriek beoordeeling (geldt eveneens voor de rubrieken voor identificatie)

onder kleur: p	paars	g	geel
r	rood	gr	groen
bl	blauw	o	oranje
w	wit	neutr.	neutraal
onder gas:	0	geen gas	
	0/dub	0 — 5%	gas
	dub/(+)	5 — 10%	„
	(+)	10 — 15%	„
	+	> 15%	„

Rubriek Endo-agar

- fl. gr. flinke groei
 sprz. gr. spaarzame groei
 mat. gr. matige groei
 typ. kol. typische kolonies (glanzend — rond — tamelijk vlak — grootte 1 à 3 mm, met of zonder metaalglans)
 kl. kol. kleine kolonies
 gr. kol. groote kolonies
 sl. slijmig
 sp.p.v. speldepuntvormig
 klr.l. kleurloos
 d.r. donkerrood
 l.r. lichtrood

Rubriek schuine agar

- | | | | |
|-------|------------|--------|-----------------|
| fl. | flink | w | wit |
| besl. | beslag | g | geel |
| dr. | droog | kl. s. | kleine staafjes |
| gl. | glanzend | Gr. 0 | Gram-negatief |
| ir. | iriseerend | | |

Rubriek gelatinesteeekcultuur

vervl. vervloeid
n. vervl. niet vervloeid

Bij de beoordeeling van de suikerbodems v. *Chalmers* is elke met kleurverandering gepaard gaande gasvorming, hoe gering ook, als een positieve reactie beschouwd.

Bij de Trypaflavinebouillon is gasvorming, hoe gering ook, beoordeeld als positief verloopende reactie; een en ander overeenkomstig de vroeger gegeven definities.

No. v. h. monster	Soort der melk	Geënte hoeveelheid in cm ³	Gebruikte voedingsbodem	Na 24 uur		Na 48 uur		Na langer dan 48 uur		Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Cultuur op schuinen agar	Chalmers lactose-bouillon		Chalmers glucose-bouillon		Lakmoes-oudermelk		Gelatine-steekcultuur na hoogstens 14 dagen	Conclusie
				kleur	gas	kleur	gas	kleur	gas			kleur	gas	kleur	coag.				
15	1p	1.0	Ch	niet opgenomen	g	g (+)	na 6 d g (+)	na 6 d g (+)	enk. typ? kl. kolon. Sp.p.v. klrl. kolon. mat. gr. kl. typ? kolon.	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven	g	0	g	0	r	+	n. vervl.	0	
16	1p	1.0	Ch	"	g	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	geen groei als boven	als boven	g	+	g	0	r	+	n. vervl.	0	
17	r	1.0	Ch	g	g	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	enk. typ? kl. kolon. sprz gr. sp. pv. klrl. kolon.	als boven	g (+)	0	g	0	r	+	n. vervl.	0	
18	1p	1.0	Ch	niet opgenomen	g	g	na 6 d g	na 6 d g	geen groei	geen groei	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0	
19	1p	1.0	Ch	"	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0	
20	r	0.1	Ch	rg	rg	rg 0	na 6 d rg 0	na 6 d rg 0	typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c	
		0.1	Tr	g gr	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	sp. p. v. klrl. kolon.		g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0	

21	1p	0.5	Ch	g	g	g (+)	na 3 d g (+)	na 3 d g (+)	fl. gr. typ. kolon.	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		0.5	Tr	g gr	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	fl. gr. l.r. kolon.	fl. besl. rood coccen zwak Gram posit.	pr	0	pr	0	r	+	vervloeid	0
22	r	1.0	Ch	niet opgenomen	g	g (+)	na 3 d g (+)	na 3 d g (+)	fl. gr. typ. kolon.	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	"	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	sp. p. v. klrl. l. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0
23	r	1.0	Ch	"	g	g	na 6 d g	na 6 d g	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	"	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	sp.p.v. klrl. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0
24	r	1.0	Ch	"	g	g	na 6 d g	na 6 d g	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	"	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	sp. p. v. klrl. l. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0
25	r	1.0	Ch	g	g	g 0	na 3 d g	na 3 d g	enk. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	g gr	g gr 0	na 6 d g gr 0	na 6 d g gr 0	geen groei		g	+	g	+	r	+	n. vervl.	0
26	r	0.1	Ch	gr	gr	gr 0	na 6 d gr 0	na 6 d gr 0	fl. gr. klrl. kolon.	zéér dun besl. w.g. kl. st. Gr. 0	p	0	g	0	bl	0	vervloeid	0
		0.1	Tr	g gr	g gr	g gr 0	na 3 d g gr 0	na 3 d g gr 0	zeer sporadisch typ. kol.	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
27	1p	0.5	Ch	gr	gr	gr 0	na 6 d gr 0	na 6 d gr 0	fl. gr. klrl. l. kolon.	zeer dun geel besl. kl. st. Gr. 0	pr	0	pr	0	bl	0	n. vervl.	0
		0.5	Tr	g gr	g gr	g gr (+)	na 6 d g gr (+)	na 6 d g gr (+)	fl. gr. typ. kolon.	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c

No. v. h. monster	Soort der melk	Gente hoeveelheid in cm ³	Gebruikte voedingsbodem	Na 24 uur		Na 48 uur		Na langer dan 48 uur	Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Cultuur op schuinen agar	Chalmers lactose-bouillon		Chalmers glucose-bouillon		Lakmoes-oudermelk		Gelatine-steekcultuur na hoogstens 14 dagen	Conclusie
				kleur	gas	kleur	gas				kleur	gas	kleur	coag.	kleur	gas		
28	r	0.5	Ch	gr	0	gr	0	na 6 d gr 0	fl. gr. kol. rood, minder glans	dr. gl. besl. w.g. cocco-bacillen Gr. 0	g	0	g	0	r	0	n. vervl.	0
29	1 p	0.5	Tr	g gr	dub. /(++)	g gr	+	na 6 d gr 0 na 3 d g gr	fl. gr. klr.l. kolon. fl. gr. typ. kolon.	als boven als boven	g	+	g	r	+	n. vervl. n. vervl.	c	
30	1 p	1.0	Ch	niet opgenomen	0	g	0	na 6 d g 0	fl. gr. kl. r. gl. kol.	als boven	g	0	g	r	+	n. vervl.	0	
31	r	0.1	Ch	g	+	g	+		mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c	
31	r	0.1	Tr	g gr	+	g gr	+		fl. gr. typ. kolon. als boven	als boven als boven	g	+	g	r	+	n. vervl. n. vervl.	c	
32	r	0.1	Ch	p	0	g	(+)	na 3 d g	als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c	
32	r	0.1	Tr	g gr	dub. /(++)	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c	
33	r	0.1	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c	
33	r	0.1	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c	

34	1 p	0.1	Ch	g	dub. /(++)	g	+		fl. gr. typ. kolon. als boven	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
34	1 p	0.1	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
35	1 p	0.1	Ch	g r	dub. /(++)	g r	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
35	1 p	0.1	Tr	g gr	+	g gr	+		spz. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	w	+	n. vervl.	c
36	r	0.1	Ch	g r	dub.	g	+		fl. gr. typ. kolon. als boven	als boven als boven	g	+	g	r	+	n. vervl. n. vervl.	c
36	r	0.1	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
37	r	0.1	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
37	r	0.1	Tr	g gr	dub.	g gr	+		sprz. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	w	+	n. vervl.	c
38	1 p	0.5	Ch	g	+	g	+		fl. gr. typ. kolon. als boven	als boven als boven	g	+	g	r	+	n. vervl. n. vervl.	c
38	1 p	0.5	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	w	+	n. vervl.	c
39	r	0.5	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
39	r	0.5	Tr	g gr	dub.	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
40	r	0.5	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
40	r	0.5	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
41	r	0.5	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
41	r	0.5	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
42	r	0.5	Ch	g	+	g	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
42	r	0.5	Tr	g gr	dub.	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	w	+	n. vervl.	c
43	1 p	0.5	Ch	g r	0	g r	0	na 6 d gr 0	als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
43	1 p	0.5	Tr	g gr	+	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
44	r	0.5	Ch	g r	0	g r	0	na 6 d gr 0	als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c
44	r	0.5	Tr	g gr	0	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	r	+	n. vervl.	c

No. v. h. monster	Soort der melk	Geente hoeveelheid in cm ³	Gebruikte voedingsbodem	Na 24 uur		Na 48 uur		Na langer dan 48 uur		Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Cultuur op schuinen agar	Chalmers lactose-bouillon		Chalmers glucose-bouillon		Lakmoes-oudermelk		Gelatine-steekcultuur na hoogstens 14 dagen	Conclusie
				kleur	gas	kleur	gas	kleur	gas			kleur	gas	kleur	coag.				
45	r	0.5	Ch	g	+	g	+			fl. gr. typ. kolon. als boven	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven	g	+	gr	+	r	+	n. vervl.	c
46	r	0.5	Tr	ggr	+	ggr	+			als boven	als boven	g	+	gr	+	r	+	n. vervl.	c
47	r	0.5	Ch	g	+	g	+			als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
48	r	0.5	Tr	ggr	dub.	ggr	+			als boven	als boven	g	+	gr	+	r	+	na 5 dagen ± geheel vervl. n. vervl.	c
49	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+			fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	w	+	n. vervl.	c
50	lp	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+			als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	diffuse groei n. vervl.	c
51	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+			als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
52	lp	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+			als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+			sprz. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	diffuse groei n. vervl.	c
		0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+			fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c

53	lp	0.5	Ch	g	+ <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">na 3 d</th> <th rowspan="2">sprz. gr. typ. kol. als boven <th rowspan="2">dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th></th></th></th></th></th>	g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">na 3 d</th> <th rowspan="2">sprz. gr. typ. kol. als boven <th rowspan="2">dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th></th></th></th></th>	+ <th rowspan="2">na 3 d</th> <th rowspan="2">sprz. gr. typ. kol. als boven <th rowspan="2">dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th></th></th></th>	na 3 d	sprz. gr. typ. kol. als boven <th rowspan="2">dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th></th></th>	dr. gl. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th></th>	g <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th></th>	+ <th rowspan="2">gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th></th>	gr <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th></th>	+ <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th>	r <th rowspan="2">+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th>	+ <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th>	n. vervl. <th rowspan="2">c </th>	c
54	lp	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
55	lp	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+		fl. gr. typ. kolon. als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
56	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+		fl. gr. typ. groote kolon. iets slijmig als boven	als boven	g	+	g	+	w	+	n. vervl.	c
57	r	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+		fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	gr	+	r	+	n. vervl.	c
58	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
59	r	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
60	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
61	r	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
62	r	0.5	Ch	g	dub. /(+)	g	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
63	r	0.5	Tr	ggr	dub. /(+)	ggr	+		als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c

No. v. h. monster	Soort der melk	Geente hoeveelheid in cm ³	Gebruikte voedingsbodem	Na 24 uur		Na 48 uur		Na langer dan 48 uur	Na 20 à 24 uur op Endo-agar	Cultuur op schuinen agar	Chalmers lactosebouillon		Chalmers glucosebouillon		Lakmoes-oudermelk	Gelatine-steekcultuur na hoogstens 14 dagen	Conclusie
				kleur	gas	kleur	gas				kleur	gas	kleur	gas			
64	r	0.5	Ch	g	0	g	+		sprz. gr. typ. kol. als boven	dr. ql. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven	g	+	g r	+	r	na 7 dagen ± geheel vervl. n. vervl.	c
65	r	0.5	Tr	g gr	dub. 0	g gr	+		fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g r	+	r w	n. vervl.	c
66	r	0.5	Ch	g	0	g	+		als boven	als boven	g	+	g r	+	r	n. vervl.	c
67	r	0.5	Tr	g gr	dub. 0	g gr	+		als boven	als boven	g	+	g	+	-	n. vervl.	c
68	r	0.5	Ch	g	0	g	+		als boven	als boven	g	+	g	+	-	n. vervl.	c
69	r	1.0	Ch	g	0	g	+	na 6 d	mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	n. vervl.	c
70	r	1.0	Tr	g gr	0	g gr	+	na 3/6 d	sprz. gr. typ. kol. als boven	als boven	g	+	g	+	r	n. vervl.	c
71	r	1.0	Ch	g	0	g	+	na 3 d	als boven	als boven	g	+	g	+	r	n. vervl.	c
72	r	0.1	Ch	g	0	g	+	na 3 d	fl. gr. typ. kolon. als boven	als boven	g	+	g	+	r	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	0	g gr	+		mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	n. vervl.	c

73	1 p	0.1	Ch	niet opgenomen	g r	+	fl. gr. typ. kolon. als boven	dr. ql. besl. w.g. ir. kl. st. Gr. 0 als boven	g <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">g <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th></th>	+	g <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">r <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th></th>	+	r <th rowspan="2">+</th> <th rowspan="2">n. vervl. <th rowspan="2">c </th></th>	+	n. vervl. <th rowspan="2">c </th>	c
74	1 p	0.1	Ch	g	g gr	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	na 3 d	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		0.01	Tr	g gr	na 3 d	+	sprz. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
75	r	1.0	Ch	g	g	+	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	na 3 d	+	sprz. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	w	+	n. vervl.	c
		0.001	Tr	g gr	na 3 d	+	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
76	r	0.1	Ch	g	g	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	na 3 d	+	mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
77	r	1.0	Ch	g	0	g	sprz. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	0	g gr	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	w	+	n. vervl.	c
78	r	0.01	Ch	g	g	+	mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	g gr	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
79	r	0.1	Ch	g	g	+	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	g gr	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
80	r	0.1	Ch	g	g	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	g gr	+	als boven	als boven	g	+	g	+	r	+	n. vervl.	c
81	r	0.1	Ch	g	g	+	mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g r	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	g gr	+	als boven	als boven	g	+	g r	+	r	+	n. vervl.	c
82	r	1.0	Ch	g	0	g	fl. gr. typ. kolon.	als boven	g	+	g r	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	0	g gr	mat. gr. typ. kol.	als boven	g	+	g	+	w	+	n. vervl.	c
83	r	1.0	Ch	g	0	g	als boven	als boven	g	+	g r	+	r	+	n. vervl.	c
		1.0	Tr	g gr	0	g gr	fl. gr. zeer licht-roode glanz. kol.	als boven	r br	+	g r	+	r	+	n. vervl.	c

Bij no. 66 en 67 is ondermelk zonder lakmoes gebruikt.

Samenvatting van het tweede deel van het onderzoek

Uit 83 — meerendeels zeer coliarne — monsters melk, werd, hetzij uit één, hetzij uit beide gebruikte bodems, 64 keer een coli-achtige gekweekt.

19 keer (no. 1 — 19) werd uit géén der gebruikte bodems coli geïsoleerd, t.w. bij de monsters: 1, 2, 3, 4, 5 en 6, waarvan 0.1 cc, 7, 11 en 12 waarvan $\frac{1}{2}$ cc, en 8, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18 en 19, waarvan 1 cc èn op Chalmers, èn op Trypaflavine-lactosebouillon was geënt.

Een iets afwijkend (glucose niet vergistend) Gram-negatief staafje, dat niet tot de coli-achtigen gerekend is, werd gekweekt uit 15 Tr en 17 Ch.

Van 2 monsters (74 en 75) werden 2 Trypafl. bodems geënt met verschillende hoeveelheden melk; uit beide werd een coli-achtige gekweekt bij een positieve reactie; er is verder van elk dezer no.'s maar één bodem in aanmerking genomen.

Van de 64 keer, dat coli werd gekweekt uit een monster, gaf de Chalmersbouillon een meer of minder duidelijk positieve reactie na 2 à 3 dagen te zien in 51 gevallen. Van deze 51 gevallen waren er na 2 dagen 45 duidelijk positief, terwijl 4 een zwakke reactie te zien gaven (no. 21, 22, 32 en 54), en 2 een negatieve (no. 25 en 77). Na 3 dagen waren ook de 4 voorlaatste no.'s duidelijk positief geworden, terwijl no. 25 en 77 een zwak positieve reactie te zien gaven (dit waren bijzonder coliarne monsters).

In deze 51 stammen zijn inbegrepen 3 vervloeiende soorten (no. 59 iets vervloeiend, en no. 47 en 64 sterk vervloeiend).

Mogelijk is hier van een mengcultuur sprake, hoewel dit uit het microscopisch onderzoek niet blijkt, of is hier de variëteit *B. cloacae* speciaal naar voren gekomen.

2 keeren was er na 2 dagen een positieve reactie, terwijl coli niet kon worden geïsoleerd (no. 15 — hier was na $\frac{2}{6}$ dagen een zwak-positieve reactie ontstaan, en no. 18 — waar reeds na 2 dagen een duidelijke positieve reactie te zien was. — Beide monsters betroffen losse gepasteuriseerde melk).

8 keeren werd coli ook na 6 dagen nog niet aangewezen door een positieve reactie (no. 20, 24, 43, 44, 60, 69, 82 en 83), en wel gekweekt.

22 keeren was de reactie ook na 6 dagen negatief, en kon ook geen coli gekweekt worden.

De relatieve gevoeligheid van de Chalmerslactosebouillon blijkt dus over een grooter aantal monsters te zijn (na 2 à 3 dagen juist aangegeven positieve gevallen 51 van 64) $\pm 80\%$.

De betrouwbaarheid van een positieve reactie binnen dit tijdvak is bij dezen bodem (51 van 53 keer) $\pm 96\%$. Van een negatieve reactie is deze (22 van 30 keer) $\pm 73\%$.

Het aantal keeren, dat coli niet werd aangegeven, en ook niet geïsoleerd uit den bodem v. Chalmers, en wel uit de Trypaflavinebouillon bedroeg 5 n.l. de nummers 26 tot en met 30, alle zeer coli-arme monsters, waarbij de aanwijzing in Tr. bouillon als volgt verliep:

26	na 2 dagen negatief, na 3 dagen positief
27	„ „ „ positief
28	„ „ „ „
29	„ „ „ zwak positief, na 3 dagen duidelijk positief
30	„ „ „ positief.

Ook over een grooter aantal monsters is dus gebleken, dat bij kweken van B. coli uit melk in Chalmerslactosebouillon een broedtijd van 2×24 uur in het algemeen voldoende is. Hoogstens is in een enkel geval (zie no. 25 en 77 — samen ongeveer 4%) bij zeer coli-arme monsters verlenging van den broedduur met 24 uur aan te bevelen.

Waar na 2 tot hoogstens 3 dagen geen positieve aanwijzing is opgetreden, komt deze ook na langeren tijd bebroeden niet meer voor den dag (zie no. 20, 24, 43, 44, 60, 69, 82 en 83).

Van de 64 keeren, dat coli werd geïsoleerd, gaf de Trypaflavinebouillon dit na 2 à 3 dagen door een positieve reactie 58 keeren aan. Van deze 58 waren er na 2 dagen duidelijk positief 54 en zwak positief 2 (no. 29 en 71) d.i. samen $96\frac{1}{2}\%$.

Na 3 dagen waren al deze 56 bodems duidelijk positief geworden, en waren er nog 2 bijgekomen, n.l. de nummers 26 (die positief was) en 69 (die na 3 — 6 dagen het niet verder bracht dan zwak positief). Deze beide laatste monsters waren blijkbaar zeer coli-arm. (No. 26 gaf in 0.1 cc in Ch. zelfs na 6 dagen geen aanwijzing, en no. 69 in 1 cc evenmin; op de Endoplaat groeiden bij

no. 26 uit Tr. maar heel enkele, uit Ch. geen typische kolonies, bij 69 uit beide maar spaarzaam.)

Geen enkelen keer werd coli geïsoleerd als na 2 — 3 dagen de aanwijzing negatief was (totaal 22 keeren).

Geen enkelen keer was de aanwijzing positief na 2 — 3 dagen, terwijl coli niet kon worden geïsoleerd.

De betrouwbaarheid van den Trypaflavinebodem is dus over een grooter aantal monsters gebleken te zijn 100%.

De relatieve gevoeligheid dezer reactie is (na 2—3 dagen juist aangegeven positieve reacties — samen 58 van 64 keer) 90.6%.

In het algemeen zal het dus voldoende zijn om ook dezen bodem 2×24 uur te bebroeden, hoewel, evenals bij den bodem v. *Chalmers*, blijkbaar bij zeer coliarne monsters in ongeveer $3\frac{1}{2}$ % der gevallen na 3 dagen nog een meer of minder duidelijk positieve reactie te voorschijn kan komen.

Van de monsters, die na 3 dagen nog negatief waren, waren er 3 (no. 5, 15 en 21), die na langeren tijd (resp. 6, 4 en 6 dagen) een zeer zwakke gasontwikkeling te zien gaven. Alle 3 monsters betroffen losse gepasteuriseerde melk. Uit no. 15 werd een afwijkend Gram-negatief staafje, uit no. 21 een zwak Gram-positieve coccus, en uit no. 5 in het geheel niets gekweekt. Dit stemt overeen met de bevindingen van *W. Ritter*, die voor dezen bodem, speciaal bij het opsporen van *B. coli* in reïnculturen voor de kaasfabricage vond, dat na langer bebroeden een enkelen keer anaërobe lactosevergifters of oïdiumsoorten een weinig gas konden vormen.

In totaal werd uit 6 monsters op Tr. bouillon geënt géén, en op Ch. bouillon geënt wél coli gekweekt, n.l. bij de no.'s 20 tot en met 25. Dit waren zeer coliarne monsters (van no. 20 werd 0.1 cc geënt, van no. 21 $\frac{1}{2}$ cc, van de overige 1 cc). Het verloop bij de Chalmersreactie was bij deze monsters als volgt:

bij no. 20	was na 6 dagen de aanwijzing	nog negatief
„ „ 21	„ „ 2 „ „ „	zwak,
		na 3 dagen duidelijk positief
„ „ 22	„ „ „ „ „ „	zwak,
		na 3 dagen duidelijk positief
„ „ 23	„ „ „ „ „ „	positief
„ „ 24	„ „ 6 „ „ „	nog negatief
„ „ 25	„ „ 2 „ „ „	negatief,
		na 3/6 dagen zwak positief

Dat bij zeer coliarne monsters het verloop der beide reacties wat ongelijk was kan 2 oorzaken hebben, n.l.:

Ten eerste: dat, ondanks het grondige en vrij langdurige schudden van elk monster de verdeeling der kiemen over het monster niet gelijkmatig is, en wij dus te maken krijgen met het toeval, waarover reeds door *Mc. Grady* in zijn publicaties over het vaststellen van „the most probable number” is geschreven.

Ten tweede: dat de beide bodems afwisselend een grootere of kleinere remmende werking op den groei der verschillende coli-achtigen uitoefenen.

Bij het hierna volgende derde deel van het onderzoek zal het m.i. het beste zijn, om van elk monster melk of zijn verdunningen de beide bodems naast elkander in te zetten, waardoor zooveel mogelijk rekening met beide bovengenoemde eventualiteiten wordt gehouden.

Het is mij opgevallen, dat bij het opsporen van coli-achtigen in melk, somtijds uit deze beide bodems na 2 dagen wèl, bij langer bewaren géén groei van coli-kolonies meer op de Endoplaat is te krijgen. Dit betreft hoofdzakelijk die bodems, waarop na 2 à 3 dagen, en ook verder of géén, of zeer geringe gasontwikkeling is tot stand gekomen.

Blijkbaar sterft een in gering aantal aanwezige, eventueel weinig vitale coli dus soms af, hetzij door den vergiftigenden invloed van het milieu, hetzij doordat de zuurgraad tengevolge van het niet voldoende remmen van banale streptococcensoorten, te hoog stijgt.

Wat betreft geconstateerde afwijkingen bij de geïsoleerde coli-achtigen het volgende:

3 stammen (no. 59 in geringe, no. 47 en 64 in ergere mate), alle gekweekt uit Chalmers' lactosebouillon, vervloeiden gelatine binnen 14 dagen.

Uit de monsters gepasteuriseerde losse melk werd bij no. 29 Ch., 15 Ch., en 30 Ch. een niet gasvormende Gram-negatieve kiem geïsoleerd, die niet tot de coli-achtigen gerekend is, maar mogelijk identiek is aan de „slow fermenters”, die *Rogers, Clark* en *Evans* als periodieke vondsten in gepasteuriseerde melk vermelden.

Afwijkende kolonies op Endo-agar gaven de stammen Ch. en Tr. no. 55 (groot en slijmig) en Tr. 83 (lichtrood en glanzend).

Min of meer typische kolonies op Endoagar, waaruit geen coli kon worden gekweekt, gaven de bodems 21 Tr. (lichtroode kolon.), 28 Ch. (iets minder glanzend roode kolon.), 15 Ch. en Tr. (beide tamelijk wel typische kolon.), 30 Ch. (kleine, roode glanzende kolon.) en 17 Ch. (vrijwel typische kolon.).

Conclusies

Over een grooter aantal (83) — meerendeels zéér coliarne monsters — is gebleken, dat van de Chalmers- en de Trypaflavine-lactosebouillon de betrouwbaarheid van binnen 2 à 3 dagen optredende positieve reacties, t.a.v. aantoonen van coli-achtigen in melk is te stellen op resp. 96% en 100%, en de relatieve gevoeligheid op resp. 80% en 90.6%.

Bij de Chalmers-, evenals bij de Trypaflavinebouillon werd, doorgaans na hoogstens 2×24 uur bebroeden bij 37° C., bij aanwezigheid van coli-achtigen een positieve reactie gezien.

Bij beide bodems trad in ongeveer $3\frac{1}{2}$ à 4% der gevallen, waarin coli werd geïsoleerd een positieve reactie pas na 3 dagen op. Dit betrof zeer coliarne monsters.

Voor het coli-onderzoek in melk is het practisch niet noodig, na gebruik van één of beide genoemde bodems bij een positieve reactie nader te bewijzen, dat de waargenomen veranderingen inderdaad door coli-achtigen worden veroorzaakt.

Bij een negatieve reactie volgens *Chalmers* mag de aanwezigheid van coli niet worden uitgesloten.

De Trypaflavinebouillon verdient door haar grootere gevoeligheid en betrouwbaarheid in een routineonderzoek in melkcontrôle-laboratoria e.d. de voorkeur.

DERDE DEEL

INLEIDING EN ALGEMEENE BESCHOUWINGEN

Als derde deel van het onderzoek is gedurende langeren tijd (Augustus tot December 1933) nagegaan de qualiteit der melk van

A. Een aantal veehoudersbedrijven

B. Een aantal distributiebedrijven

door van deze melk — zooveel mogelijk wekelijks — te onderzoeken: 1°. Den colititer, 2°. het totaal-kiemcijfer, 3°. het sediment, en bovendien na te gaan het gedrag bij de reductase-gistingproef.

Door meer of minder vaak herhaalde inspecties is getracht een zoo goed mogelijk beeld te krijgen van het betreffende bedrijf. Verder is een klinisch onderzoek verricht van het vee op de gecontroleerde boerderijen, bij welk onderzoek, behoudens enkele gevallen van mastitis, géén afwijkingen zijn gevonden. Het meerendeel der onderzochte koeien was blijkens de in de voorafgaande stalperiode verrichte tuberculatie vrij van tuberculose.

Omtrent het gekozen tijdvak merk ik op, dat hierin vallen de warme maanden Augustus en September (waarin het gehalte der melk aan coli-achtigen blijkens de tot heden opgedane ervaringen het hoogst is), verder de periode der bladgroenvoeding — opstalling — enz., waarin de melk bij uitstek kans loopt met faeces besmet te raken, en tenslotte het koude jaargetijde. Men mag dus met vrij groote zekerheid aannemen, dat er een overzicht verkregen wordt, hoe de melk van bepaalde soorten bedrijven gedurende het geheele jaar is, of kan zijn.

Zoogenaamde modelbedrijven, waar de productiekosten hoog worden opgevoerd, zijn niet in het onderzoek opgenomen, nòch in groep A., nòch in groep B. Bij géén der gecontroleerde bedrijven zijn maatregelen genomen, die uitgingen boven datgene, dat redelijkerwijs van goede consumptiemelkbedrijven mag worden verwacht, zooals vroeger reeds is besproken.

De eigenaars der veehoudersbedrijven in de hierna te noemen ondergroepen I en II noemden mij als extra-productiekosten, boven die van de industrie- of handelsmelk (d.i. melk zooals ze door de meeste boeren aan fabriek of slijter wordt geleverd) bedragen, die varieerden van een fractie van een cent, tot hoogstens één cent per liter melk. Deze hoogere kosten worden veroorzaakt door het toe-

passen van meerdere zorg bij de melkwinning en -behandeling, alsmede door het aanschaffen en onderhouden van goed bedrijfs-materiaal, en het toepassen van geregelde veterinaire contrôle op den veestapel (met name op tuberculose éénmaal 's jaars).

Vóór alles is er zooveel mogelijk tegen gewaakt, geflatteerde resultaten te krijgen. De geboekte gegevens vormen een zoo getrouw mogelijke afspiegeling van de doorsnee-uitkomsten der betreffende consumptiemelkbedrijven. In verband hiermee is o.a. de bemonstering, die om practische redenen meestal op Zaterdag moest plaats vinden, enkele keeren ook op andere data geschied.

Op een bepaald aantal der gecontroleerde bedrijven zijn zeer eenvoudige en weinig ingrijpende maatregelen geadviseerd; de invloed hiervan op de qualiteit der melk is nagegaan.

Ter contrôle zijn in beide hoofdgroepen een gering aantal ongeveer gelijksoortige — bedrijven opgenomen, waarmee geen nauw contact werd gehouden, doch waar alleen een enkele maal een inspectie plaats vond.

Aldus werd een zoo goed mogelijk inzicht verkregen in de tegenwoordige gesteldheid der consumptiemelk, en hoe deze bij een niet overdreven maar met zorg toegepaste behandeling van dit artikel zou kunnen zijn.

In totaal werden geregeld gecontroleerd 22 bedrijven van veehouders — slijters — melkinrichtingen — venters — enz..

Deze zijn — zooals reeds werd opgemerkt — te verdeelen in 2 hoofdgroepen, n.l.

A. De hoofdgroep Veehoudersbedrijven

B. De hoofdgroep Distributiebedrijven

De hoofdgroep A. is weer onderverdeeld in de navolgende ondergroepen

I. Een viertal bedrijven, waarbij van meet af aan gunstige resultaten werden geboekt bij de bepaling van kiemcijfer en colititer.

II. Zeven bedrijven, die in het begin van het onderzoek hetzij een hooger en colititer, hetzij een hooger kiemcijfer, hetzij beide vertoonden als de voorgaande, maar waarbij deze verdwenen, nadat het vaatwerk en zijn reiniging, of de wijze van winning en van koeling der melk waren verbeterd.

III. Drie bedrijven, waarvan er één tamelijk goed, één matig en één onvoldoende beheerd wordt, en waar geen bijzondere maatregelen zijn geadviseerd. Deze bedrijven hebben dus in zeker opzicht als controle gefungeerd.

De ondergroepen I en II bestaan voor een gedeelte uit bedrijven, waarvan de melk geleverd wordt aan de fabriek C. te A.; zij staan daar ter zake van de kwaliteit der geleverde melk en de bedrijfsvoering gunstig bekend. Tot en met 16 September is door deze bedrijven, die allen op een afstand van $2\frac{1}{2}$ à 3 km van de fabriek gelegen zijn, $2 \times$ per dag de melk geleverd. Gedurende dit tijdvak werd slechts de avondmelk bemonsterd, en den volgenden dag onderzocht.

Ná 16 September werd maar $1 \times$ per dag geleverd (de ochtendmelk van den zelfden, en de avondmelk van den vorigen dag). Vanaf dezen datum werd van beide soorten melk een monster genomen en den zelfden dag onderzocht.

Voor het overige bevatten deze beide groepen een aantal veehoudersbedrijven, die $2 \times$ daags de rauwe, versch van eigen vee gewonnen melk verhandelen, en die bijna nooit melk in voorraad hebben, die ouder is dan een halven dag. Verder vindt men daaronder nog één bedrijf, waarvan alleen de avondmelk, verpakt in flesschen, den volgenden morgen in consumptie wordt gebracht door bemiddeling van een te Arnhem gevestigd wederverkooper, waarheen deze melk direct na winning, koeling op 10 à 11° C., en verpakking wordt gebracht (duur van het transport hoogstens $\frac{1}{2}$ uur).

De bedrijven in ondergroep III verhandelen hun melk 2 keer daags versch, als de veehouders-slijters uit de ondergroepen I en II.

De hoofdgroep B. Distributiebedrijven

Omvat een prima melkinrichting (no. 15), die z.g.n. losse gepasteuriseerde melk op verschillende wijze in consumptie brengt n.l.: 1° . door middel van eigen venters (no. 16), 2° . door zelfstandige slijters (no. 17), en 3° . door tusschenkomst van een slijtersorganisatie (no. 18), welke engros inkoopt, en dan verder zorgt voor distributie over de aangesloten leden. Tevens zijn in deze groep ondergebracht één verkooper van rauwe consumptiemelk (no. 22),

en drie verkoopers van losse gepasteuriseerde melk (no. 19, 20 en 21), als voorbeelden van de doorsnee-slijters.

Met de hoofden der bedrijven uit de ondergroepen I en II, en die der drie eerste van hoofdgroep B. werd geregeld contact gehouden. Zij kregen in den loop der eerste weken een inzicht in de beteekenis van het onderzoek, waarbij hun nog eens extra onder het oog werd gebracht géén andere, dan de bij hen gebruikelijke voorzorgen bij de winning enz. toe te passen, voor zoover die niet uitdrukkelijk door mij werden geadviseerd. Aan al deze bedrijven werd geregeld om de 2 à 3 weken een overzicht verstrekt van de kwaliteit der geleverde melk, benevens een advies voor de wijze van winning enz. in de komende periode. Geregeld werd nagegaan en genoteerd, of men met de gegeven wenken rekening hield.

Met de veehoudersbedrijven uit de ondergroep III en met de overige distributiebedrijven, wier wijze van bedrijfsvoering aan den Keuringsdienst van Waren vrij goed bekend is, werd geen bijzonder contact gehouden. Slechts is hier gedurende het geheele genoemde tijdvak één of twee maal door inspectie nagegaan, of in de bekende wijze van bedrijfsvoering (belangrijke) veranderingen waren aangebracht.

TECHNIEK VAN HET ONDERZOEK

I. De bemonstering

Deze geschiedde bij de bedrijven uit de ondergroepen I en II, waarvan de melk aan de — op korten afstand gelegen — fabriek wordt afgeleverd aldus:

Uit elke aan de fabriek afgeleverde bus melk werd met een uitgestoomden lepel tijdens het uitgieten in de bascule een hoeveelheid van circa 50 gram genomen. Van alle bussen werd deze hoeveelheid te samen gevoegd in een steriele flesch.

In den tijd, dat er van elk bedrijf 2 monsters werden genomen, bevatte de ééne flesch een monster der ochtend-, en de andere een van de avondmelk. Deze monsters werden (voor zoover het die van de periode t/m 16 September betreft) genomen te \pm 8 uur 's avonds, d.i. hoogstens 3 uren nadat het melken was afgelopen, en tot 's anderen daags 's morgens bewaard bij 6° C., waarna zij werden getransporteerd naar het laboratorium van den K. v. W. (op 3

minuten afstand) en aldaar op ijs bewaard tot 's middags te ± 2 uur. De ná 16 September genomen monsters werden op de zelfde wijze getrokken te ± 8 à 9 uur v.m., d.i. $\pm 2\frac{1}{2}$ uur na het ochtendmelken, en direct naar het laboratorium van den K. v. W. gebracht, en aldaar tot 's middags op de boven omschreven wijze bewaard.

De overige bedrijven uit de ondergroepen I en II, en ook die uit III, werden bemonsterd door een der keurmeesters. Deze nam (in gesteriliseerde flesschen) een gewoon straat- of winkelmonster van de ten verkoop voorradige melk, en noteerde meteen diverse, voor het onderzoek van belang zijnde, zaken. De flesschenmelk werd bemonsterd aan het filiaal te Arnhem (slechts één keer aan de boerderij zelf, welke keer genoteerd is), waar zij zich als regel, maar niet steeds, in de ijskast bevond.

De bemonstering der groep „Distributiebedrijven” geschiedde als volgt.

Aan de groote melkinrichting (no. 15) werd des morgens te 6.30 à 9 uur een monster getrokken uit den tank, waaruit op dat moment door de bedrijven no. 16, 17 en 18 melk in ontvangst werd genomen. In den verderen loop van den voormiddag brachten de laatstgenoemde bedrijven deze melk in consumptie; bij elk hunner werd dan een z.g.n. straatmonster getrokken.

De bemonstering der bedrijven 19 t/m 22 geeft geen aanleiding tot bijzondere opmerkingen. Nu eens werden hier winkel-, dan weer straatmonsters getrokken.

De bemonstering van alle bedrijven, behalve van die waarvan de melk aan de fabriek geleverd wordt, vond bijna steeds plaats tusschen ± 9 en ± 12 uur v.m. — doorgaans op Zaterdag, in verband met de werkzaamheden van den betrokken keurmeester — maar enkele keeren óók op andere dagen.

Alle monsters werden op ijs bewaard, tot zij des namiddags werden onderzocht.

II. De wijze van onderzoek der monsters

Vóór zij in bewerking kwamen, werden alle monsters grondig gedurende 3 à 5 minuten geschud, en bleven zij ter ontfluchting een poosje staan, zooals vroeger reeds is omschreven.

Vervolgens werd — nadat de hals der flesch geflambeerd was — van elk monster de reductase-gistingproef ingezet. Daarna werd

de flesch weer gesloten en op ijs bewaard, tot de verdere bewerking aanving. Deze bestond uit een onderzoek naar het aantal colibacteriën in 1 — 0.1 — 0.01 — en 0.001 cc (resp. genoemd colititer I — II — III en IV), met behulp van de methoden van *Chalmers* en *Klimmer* (nader omschreven op pag 148), verder uit een onderzoek naar het aantal kiemkrachtige micro-organismen in 1 cc (zie pag 152), en ten slotte uit het onderzoek van het sediment, en het toepassen van de reactie van *Storch* (vide pag. 154 en 155).

De reductase-proef

De reductase-proef, die voor het routineonderzoek zoo gemakkelijk is, wordt zeer verschillend beoordeeld.

Barthell en *Orla-Jensen* bijv. meenen op grond van den tijd, benodigd voor de reductie van het methyleenblauw, 4 klassen melk te kunnen onderscheiden, n.l.:

een zéér slechte	—	ontkleuring binnen 20 minuten	—	aantal kiemen groter dan 20.000.000/cc
een slechte	—	ontkleuring na 20 min. tot 2 uur	—	aantal kiemen 4 à 20.000.000/cc
een matige	—	ontkleuring na 2 tot 5 uur	—	aantal kiemen 500.000 à 4.000.000/cc
een goede	—	ontkleuring na langer dan 5 uur	—	aantal kiemen kleiner dan 500.000/cc

Volgens deze auteurs, en ook volgens *Burri* en *Kürsteiner* (cit. n. v. *Gelder* en *Lerner*), is de reductasetijd een uiting van het meer of minder snelle verbruik (door de aanwezige micro-organismen) van de in de melk opgeloste zuurstof. Dit verbruik hangt geheel af van het aantal en de vitaliteit, maar vooral ook van de soort der bacteriën. Om deze reden mag men dan ook niet verwachten, dat indeeling in bepaalde klassen naar bacterieaantal zoo fraai zal kloppen met de tijden, noodig voor de reductie van het methyleenblauw, zooals B. en O. J. aangeven.

Verschillende auteurs nemen dan ook stelling tegen deze uitspraak.

Van Gelder en *Lerner* meenen dat men in het algemeen kan zeggen, dat bij een reductasetijd van korter dan 3 uur, het aantal kiemen te hoog is, wat wijst op onvoldoende koelen en roeren, en op slechte behandeling der melk.

Van Raalte en *Lerner* zeggen, dat bij een reductasetijd kleiner dan $3\frac{1}{2}$ uur, het aantal kiemen steeds grooter is dan 1.000.000/cc.

Klimmer geeft ontkleuringstijden en kiemgetallen op als *Barthell* en *Orla-Jensen*, en beveelt aan, om Janusgroen te gebruiken, in plaats van methyleenblauw.

Troy onderscheidt 3 klassen:

- A. met ontkleuringstijd grooter dan 3 uur, en een kiemcijfer kleiner dan 300.000/cc
- B. „ „ 2 à 3 uur, en een kiemcijfer van 300.000 à 1.500.000/cc
- C. „ „ kleiner dan 2 uur, en een kiemcijfer grooter dan 1.500.000/cc

T. vindt met de plaatmethode een correlatie van $\pm 86\%$. Omshudden en verblijf in de ijskast zou de hoeveelheid zuurstof in de melk, en daarmee den reductasetijd, doen toenemen. Uit hun proeven concludeeren *Van Gelder* en *Lerner* dat dit niet het geval is. Ook *Thornton* en *Hastings* beweren, dat versche melk verzadigd is met zuurstof, en zelfs een dóórstromen hiermede de hoeveelheid niet doet toenemen.

Dorner vindt een zekere overeenkomst tusschen kiemcijfer en reductasetijd, en zegt dat — voor Zwitsersche omstandigheden — men eischen kan, dat door alle boeren melk met minder dan 100.000 kiemen/cc geleverd wordt, wat volgens hem in het algemeen overeenkomt met een reductasetijd van langer dan 4 uren.

Er zijn echter 10% miswijzingen. D. maant aan tot voorzichtigheid in het gebruik dezer proef.

Kirchner zegt „Die Zahl der Keime wird durch die Reduktaseprobe zwar nur annäherend angegeben, die Plattenzählmethode liefert aber ebenfalls keine genauen Ergebnisse“. Hij acht de reductaseproef geschikt, om de houdbaarheid der melk te beoordeelen. Hoe meer kiemen (die een maatstaf zijn voor de doelmatigheid van winning en behandeling), hoe sneller in het algemeen de ontkleuring.

Van Oyen uit zich, ter plaatse waar hij de verschillende methoden ter bepaling van het aantal bacteriën in melk bespreekt, aldus: „Voor een nauwkeurige contrôle levert de zoogenaamde indirecte methode (reductaseproef) geen betrouwbare resultaten“.

Okkinga en *Tymstra* zeggen dat, in verband met het verschillende snelle verbruik van de hoeveelheid zuurstof door de diverse soorten in melk aanwezige kiemen, de ontcleuringstijd nooit een juiste maatstaf kan zijn voor het aantal der laatste. Zij achten de proef geschikt om oude melk te onderkennen, en meenen, dat men in het algemeen kan aannemen, dat snel ontcleurende melk veel kiemen bevat.

Stapensea (cit. n. *Clarenburg*) meent dat, als men de grens voor het aantal kiemen stelt op 1.000.000/cc, en die voor den ontcleuringstijd op 6 uur, de reductaseproef nóg ongeschikt is, daar zelfs bij een reductasetijd van grooter dan 6 uur, er geen waarborg gegeven kan worden, dat het aantal kiemen beneden deze grens ligt.

Höyberg (cit. n. idem) noemt de reductaseproef geen fijne reactie.

Dons (cit. n. idem) zegt „Die Reduktaseproble ist als Keimzählungsmethode sehr ungenau, und aus diesem Grunde nicht verwendbar für die amtliche Milchkontrolle”.

Clarenburg geeft als zijn meening, dat een onderzoek op groote schaal over de waarde dezer proef zal moeten beslissen. Volgens zijn idee zal zij echter alleen beteekenis kunnen krijgen voor het onderzoek van zéér kiemrijke melk.

Barthell zegt in 1917 bij een bespreking van de — van verschillende kanten op de reductaseproef uitgeoefende — kritiek het volgende: „Die Methode hat indessen niemals einen Anspruch darauf gemacht eine eigentliche Bakterienzählmethode zu sein. Der Zweck war von Anfang an nur die Ermöglichung einer ungefähren Schätzung des Bakteriengehaltes der Milch innerhalb ziemlich weiter Grenzen, mit anderen Worten eine allgemeine Orientierung in Bezug auf den Bakteriengehalt der Milch, und damit auf ihre Haltbarkeit”.

B. heeft uitvoerig het mechanisme der ontcleuring bestudeerd en komt daarbij tot de conclusie dat „Der Verlauf der Entfärbung des Methylenblaus in der Milch keineswegs so einfach ist, wie man früher angenommen hat”. Er zijn minstens 3 factoren, n.l. het O₂-verbruik door de bacteriën, directe ontcleuring van het methyleenblauw door de bacteriën, en reductie der kleurstof door de melk zelf, als de opgeloste O₂ is opgebruikt. De aard der reduceerende stoffen in de melk is echter nog onbekend. Volgens B. is het van

zeer veel belang, hoeveel O_2 in de melk is opgelost. In dit verband zou heftig schudden der melk den reductasetijd verlengen, echter niet van melk, die niet ouder is dan 24 uur. Hierin is n.l. lang niet alle O_2 door de aanwezige bacteriën opgebruikt, en hier is de wijze van behandeling der monsters van weinig invloed op den reductasetijd. Voor een uniforme beoordeeling acht B. het gewenscht om vóór het inzetten der proef alle monsters grondig te schudden. B. citeert dan nog *Skarr*, die constateerde, dat ook leucocyten methyleenblauw reduceeren, hoewel veel minder dan bacteriën. B. vindt dit een voordeel voor de reductaseproef, omdat op deze wijze ook in ander opzicht (etterhoudende) hygiënisch abnormale melk wordt aangewezen. Met betrekking tot de kritiek van *Dons*, die zegt na vermenging der melk met groote hoeveelheden faeces geen verkorting van den reductasetijd te hebben kunnen constateeren, zegt B., dat vuilgehalte en bacteriëngehalte twee zeer verschillende zaken zijn. Het aantal kiemen zou, blijkens door B. genomen proeven, althans bij bewaring bij kamertemperatuur gedurende 4 uren, bij toevoeging van koemest niet belangrijk stijgen. Bij $37^\circ C.$ zou dit wel in sterkere mate het geval zijn. Op deze wijze zou het goed te verklaren zijn, dat *Dons* geen belangrijke verkorting van den reductasetijd vond.

De oude klasse-indeeling, die B. samen met *Orla-Jensen* opstelde, was gebaseerd op bepaling van het kiemcijfer met de groote plaatmethode. In zijn nieuwe serie onderzoeken heeft B. toegepast de directe methode van *Skarr* en *Breed*, die hij voor versche, niet gepasteuriseerde melk beter acht ter zuivere bepaling van het kiemcijfer. Hij komt op grond hiervan tot een nieuwe klasse-indeeling, n.l.

klasse	ontkleuring na	aantal kiemen per cc
III	2 min — 1 uur	boven 70.000.000
II	1 — 5 „	10 — 70.000.000
I	5 — 10 „	500.000 — 10.000.000

Deze klasse-indeeling geeft volgens B. voor 88.8% betrouwbaar resultaat.

Lind (cit. n. *Barthell*) meent, dat de reductaseproef te gebruiken is, als men melk wil onderkennen met meer of minder dan 500.000 kiemen per cc.

Tot slot zij hier nog vermeld de volgende uitspraak van

Barthell „Bei einem sehr niedrigen Bakteriengehalt der Milch lässt sich weder mit der directen Zählmethode, noch mit der Reduktaseprobe eine weitere Klasseneinteilung erreichen. Hier hat die Plattenmethode sicher Vorteile”.

Er blijkt dus, dat de reductaseproef voor melk met lagere kiemcijfers (boven of beneden 50.000 per cc) geen goed meetinstrument kan zijn. De met deze proef aangegeven grens ligt, volgens vrijwel alle auteurs bij 500.000 (of meer — zie *Barthell*) kiemen per cc. Hoewel dus reeds op theoretische gronden niet verwacht mocht worden, dat deze proef voor ons doel geschikt zou zijn, is zij nochtans toegepast bij dit onderzoek, in navolging van hetgeen op dit oogenblik op vele laboratoria bij het melkonderzoek gebruikelijk is.

De gistingproef

De gistingproef is een oude, in de Zwitsersche kaasmakerij gebruikte methode, om uit te maken of bepaalde bacteriegroepen de overhand hebben, die aan de kaas ongewenschte eigenschappen kunnen geven.

Löhnis en *Orla-Jensen* zeggen dat zij met en zonder lebtoevoeging wordt toegepast. Normale, goede, bacterie-arme melk moet, na 12 uren bij 37° C. te hebben gestaan, nog dun vloeibaar zijn. Zijn er veel melkzuurstreptococcen, dan is er een gedeeltelijke of totale gelijkmatige coagulatie.

Zijn er lebvormende bacteriën, dan ontstaat een caseïne-coagulum met meer of minder wei; zijn er gasvormers, dan is het coagulum uiteengereten (bij *B. coli* bijv.), of is er een drijvende, met gasbellen doorzeefde prop (bij boterzuurvormers); vaak ook ziet men het ge-coaguleerde eiwit weer geheel of ten deele in oplossing gaan (peptonificatie).

Bij lebtoevoeging ziet men een kaasje ontstaan, waarin de meer of minder sterke gasontwikkeling iets zeggen kan omtrent den aard der bacterieele verontreiniging.

Löhnis noemt de proef „eine sehr wertvolle Qualitätsprobe”.

Orla-Jensen zegt dat een slechte gisting van rauwe melk wijst op vuile winning. Hij combineert de gistproef (zonder leb) met de reductaseproef, en beoordeelt de eerste na 20 à 24 uur.

Hij maant echter aan tot voorzichtigheid bij de beoordeeling, als

naast een langen reductasetijd een minder goede gisting optreedt. Het aantal banale melkzuurkiemen is dan n.l. te gering geweest om de ontwikkeling der (in gering aantal) aanwezige gas- of lebvormers te verhinderen.

Tiemann vindt dat de proef aan te bevelen is voor melk die gebruikt wordt voor de bereiding van kaas. Normale melk stolt na 6—24 uur niet of gelijkmatig, abnormale (wat onder abnormale melk verstaan dient te worden geeft T. niet nader aan) geeft afwijkende beelden.

Okkinga en *Tymstra* zeggen dat de bedoeling dezer proef oorspronkelijk was het ontdekken van gasvormende micro-organismen in kaasmelk. Behalve gasontwikkeling kan men ook nog andere veranderingen waarnemen, die door bepaalde bacteriën worden veroorzaakt. In kiemrijke melk treden deze verschillende veranderingen veel meer op, dan in kiemarme. Zij wenschen de uitkomsten dezer proef na 12 uur, en niet na 24 uur te beoordeelen, omdat goede, kiemarme melk na 24 uur dezelfde veranderingen kan laten zien als kiemrijke. De beoordeeling is moeilijk. Is de melk nog dun, dan was ze in elk geval goed (ook de reuk dient te worden beoordeeld); is er gasvorming, dan is de kwaliteit slecht. Zijn er veel melkzuurvormers, dan worden de gasvormers onderdrukt, en krijgt men òf wel een gelijkmatig porceleinachtig stolsel („zuurcoagulatie“) òf wel een fijnvlokkig („lebcoagulatie“), dat later nog weer gedeeltelijk in oplossing kan gaan (peptonificatie). Dit laatste geschiedt ook door sommige bacteriën, die noodig zijn voor de kaasrijping.

Kirchner zegt dat goede melk na 12 uur niet gestremd is, maar alleen zuur ruikt. Is er een vlokkig of ongelijkmatig stolsel met gas- of weivorming, dan was de melk voor kaasbereiding ongeschikt. Hij haalt nog een uitspraak aan van *Burri* en *Hohl*, volgens welke auteurs de samenhang tusschen het gedrag bij de gistingproef en de bacterieele hoedanigheid der melk niet steeds duidelijk is, vooral bij kiemarme melk.

Uit de literatuur valt dus de slotsom te trekken dat — hoewel ze bij het melkonderzoek steeds hardnekkig wordt toegepast — de uitslag dezer proef geen enkele, ook maar eenigszins nauwkeurige conclusie t.a.v. het *gehalte* aan bepaalde soorten kiemen (gasvormers) toelaat. Geen enkele auteur geeft aan, dát en hóe deze proef

correspondeert met de bacterieele samenstelling der consumptiemelk.

Ook deze methode is, in navolging van hetgeen elders geschiedt bij het volgende onderzoek opgenomen, hoewel alreeds op theoretische gronden verwacht kon worden, dat zij voor het beoogde doel ongeschikt was.

Uitvoering der proef

De reductaseproef geschiedde in de broedstroof in gesteriliseerde open buizen, waarin 20 cc melk + $\frac{1}{2}$ cc van een hoogstens 14 dagen oude oplossing van 1 tablet methyleenblauw (*Blauenfeldt* en *Tvede*) in 200 cc aq. dest. De broedtemperatuur werd gehouden op 37° C. Beoordeeling vond plaats, door na ongeveer 1, 2, 3 en 5 à 6 uur na te gaan, of ontkleuring was opgetreden.

De uitkomsten der gistingproef werden opgenomen na \pm 20 uur bebroeden van deze zelfde buizen met melk, waarbij genoteerd werd al of niet vloeibaar zijn, totale of gedeeltelijke, gelijkmatige of met gasontwikkeling gepaard gaande coagulatie, weivorming, peptonificatie, event. drijvende coagula enz..

Zeër sterk sprekende verschijnselen werden weer van het teekenen voorzien.

In de tabellen werden de volgende afkortingen gebruikt:

pept. = peptonificatie	dr. = drijvend	tot. = totaal
coag. = coagulatie	pr. = prop	ged. = gedeeltelijk
weiv. = weivorming	g.b. = gasbellen	gel. m. = gelijkmatige

De teekens > of < zijn gebruikt in de beteekenis van resp. meer dan of langer dan, en minder dan of korter dan.

Het onderzoek op B. coli

Wanneer aldus van elk monster de reductasegistingproef was ingezet, werd hieruit, nadat het nogmaals was geschud, 1 cc geënt op Chalmers' en Trypaflavinelactosebouillon, en op 9 cc physiologische NaCl-oplossing. Deze verdunning werd in ijswater geplaatst, op haar beurt geschud, en hieruit werden dan weer de beide genoemde bodems en een nieuwe buis physiologische NaCl-oplossing geënt met 1 cc, en zoo vervolgens, tot en met de reeds vroeger genoemde concentratie IV. Op beide bouillonsoorten werd dus resp. geënt 1 cc — 0.1 cc — 0.01 cc en 0.001 cc. Werden in

deze hoeveelheden nog coli-achtigen aangetoond, dan had het monster een colititer van resp. I — II — III en IV.

Bij toepassing in het groot van de bepaling van den colititer, vormt het maken van verdunningen, waarbij een groote hoeveelheid steriele pipetten en andere steriele voorwerpen gebruikt moet worden, een belangrijk beletsel.

Ik meende, dat het mogelijk moest zijn dit euvel te ondervangen, door voor het afmeten van 0.1 — 0.01 cc enz. niet van verdunningen, doch van „gestandariseerde oeses” gebruik te maken, d.z. oeses, die steeds weer een nauwkeurig bekende, gelijke hoeveelheid melk afgeven bij afspoelen in voedingsmedia.

Omtrent het ijken van dergelijke oeses vindt men nadere gegevens bij *Dorner* en *Demont*, ter plaatse waar zij berichten over de praktische toepassing der methode *Burri* ter bepaling van het aantal kiemen in melk.

Aan hun medeelingen zij het volgende ontleend:

De platinaoeses moeten gesoldeerd zijn, om hun grootte constant te houden. Het ijken kan dan op 2 manieren plaats vinden.

a. Door na te gaan, welke hoeveelheid men gemiddeld per oese aan een bekende gewichtshoeveelheid water of melk onttrekt. Dit is echter altijd ietwat onzuiver, ten eerste wegens gewichtsfouten ten gevolge van verdamping, en ten tweede doordat het metaal de kiemen aantrekt, en ook niet alle melk afgeeft.

(Na afspoelen in vloeibaar milieu blijven volgens de uitvoerige proeven van D en D hoogstens 4% — in doorsnee 1.4% — der kiemen aan de naald hangen, en na uitstrijken op schuinen agar volgens de methode *Burri* 1.6 — 12%, gemiddeld 7.2%).

Omdat deze gewichtscontrôle dus belangrijke nadeelen heeft, en het er in de eerste plaats op aan komt, hoeveel melk de oese afgeeft, hebben de auteurs de gewichtsanalytische ijking vervangen door de biologische.

b. De biologische ijking

Hiervoor nemen D. en D. 5 petrischalen, in elk waarvan 1 cc van een verdunning van 1 op 100 van een bepaalde melk. Deze dienen om het kiemgetal dezer melk middels de groote plaatmethode vast te stellen.

Daarnaast hebben zij nog 3 groepen, elk eveneens bestaande uit

5 dezer schalen. In elk dezer 15 schalen meten zij 1 cc physiologische NaCl-oplossing af. Vervolgens wordt door middel van oeses, waarvan de auteurs door voorafgaande wegingen weten, dat zij ongeveer 10 — 5 en 1 mgr. inhouden, van dezelfde melk op deze 3 laatste groepen van schalen geënt, en wel volgens het onderstaande schema:

Groep I — op elke schaal wordt 1 oese van 10 mgr in de physiologische NaCl-oplossing afgespoeld

Groep II — aan elke schaal worden 2 oeses van 5 mgr toegevoegd

Groep III — op elke schaal worden 10 oeses van 1 mgr geënt.

Van alle 20 schalen worden vervolgens met een zelfde soort agar platen gegoten. Deze worden 2×24 uur bebroed bij 30° C., en daarna wordt op elke plaat het aantal opgekomen koloniën geteld.

Aldus werkende krijgt men een inzicht in de *ware* grootte van elke oese.

D. en D. geven aan, dat men als volgt te werk moet gaan bij het gebruiken dezer oeses: De oese moet donkerrood gloeiend worden gemaakt (bij hooger verhitten smelt de soldeer te gauw). Daarna laat men afkoelen, en steekt (niet diep) onder een hoek van 45° de oese in de (goed geschudde) melk, waarbij men moet oppassen géén eventueele luchtbelllen mee te nemen. Vervolgens spoelt men af *in*, dan wel strijkt af *op* het gebruikte milieu, spoelt na in schoon water (om „aanbakken” te voorkomen) en gloeit tenslotte weer, enz. Vormt zich aanslag aan de naald, dan moet men deze gloeiend in salpeterzuur houden, waardoor zij weer zuiver blank wordt.

Van een drietal voor mij, door de firma Marius te Utrecht vervaardigde, oeses, die resp. ongeveer 10 — 5 en 1 mgr melk zouden bevatten, is nu door mij de inhoud bepaald. Allereerst werd door een aantal wegingen nagegaan of de opgegeven inhoud ten naasten bij klopte. Dit was vrijwel het geval met de oeses van 1 en 5 mgr. Met die van 10 mgr daarentegen was géén behoorlijk constante hoeveelheid aan melk of water te onttrekken. Deze oese werd daarom verder buiten beschouwing gelaten.

Op 25 October is een monster goede kiemarme, z.g.n. losse gepasteuriseerde melk genomen voor het ijken. Het is eerst zeer krachtig gedurende langen tijd geschud, en heeft vervolgens eenigen tijd gestaan voor ontluchting.

Daarna is hiervan 1 cc geënt op 99 cc physiologische NaCl-oplossing. Vervolgens is deze laatste zeer grondig geschud, waarna 5×1 cc op petrischalen is gezet. Verder is op 5 schalen met elk 1 cc physiologische NaCl-oplossing $2 \times$ een oese van 5 mgr., en op 5 andere $10 \times$ een oese van 1 mgr der melk geënt op de wijze, als door *Dorner* en *Demont* aangegeven. Vervolgens werden van alle schalen platen gegoten met 10 cc gewonen $1\frac{1}{2}\%$ neutralen bouillonagar. De platen zijn 2×24 uur bij 30° C. bebroed, hebben daarna nog 1×24 uur bij $\pm 18^\circ$ C. gestaan, en zijn toen geteld. Daar gepasteuriseerde melk was gebruikt, waren zeer veel z.g.n. „pin-point colonies” opgekomen.

Het resultaat was als volgt:

	verduunning 1/100 1 cc	10 oeses I in 1 cc phys. NaCl-opl.	2 oeses II in 1 cc phys. NaCl.-opl.
Plaat 1	378 kolonies	296 kolonies	309 kolonies
„ 2	302 „	326 „	355 „
„ 3	305 „	345 „	314 „
„ 4	324 „	361 „	299 „
„ 5	292 „	385 „	308 „
Gemiddeld	320	340	317

Oese I staat dus gemiddeld bij afspoelen in een vloeibaar milieu af $\frac{340}{10 \times 320} \times 0.01$ cc = 0.0010625, afgerond 0.001 cc melk.

Oese II staat gemiddeld af:

$\frac{317}{2 \times 320} \times 0.01$ cc = 0.0049531, afgerond 0.005 cc melk.

Met deze wetenschap is nu met ingang van 3 November het enten van de beide voor het coli-onderzoek gebruikte bodems veranderd. Het monster melk werd als steeds zeer grondig geschud, en dan een korte poos aan zich zelf overgelaten om uit te luchten. Daarna werden met een steriele pipet direct resp. 1 cc en 0.1 cc melk op beide bodems geënt. Vervolgens op beide $2 \times$ een oese II (0.01 cc) en $1 \times$ een oese I (0.001 cc).

Het enten met oeses ging aldus in zijn werk:

De oese met melk werd eerst grondig afgespoeld in de cultuurvloeistof, en daarna volkomen droog afgetikt en gewreven aan den binnenkant der cultuurbuis, dicht bij den bovenkant van het cultuurmilieu. Daarna werd (zoo noodig) direct weer een oese genomen, en op dezelfde wijze in den zelfden bodem geënt.

De cultuurvloeistof werd in aanraking gebracht met den binnenkant der buis op de plaats, waar de oese afgewreven was. Dan kwam de andere bodem aan de beurt. De naald werd tusschen de verschillende entingen uit het zelfde monster niet weer gegloeid. Dit gebeurde pas als èn de Chalmers- èn de Trypaflavinelactosebouillon waren geënt.

De bodems werden 2×24 uur bebroed bij 37° C., en dan beoordeeld. Gaven meerdere verdunningen een positieve reactie te zien, dan werd voor den betreffenden bodem alléén genoteerd de hoogste verdunning (titer), waarin deze nog voorkwam.

De interpretatie is dezelfde als bij het voorgaande onderzoek. Waren er afwijkingen, zoodat bijv. een hoogere verdunning wèl, een lagere géén of slechts een zwakpositieve aanwijzing gaf, dan werd dit mede genoteerd.

De bepaling van het totaalkiemcijfer der melk

Voor de bepaling van het aantal kiemen in melk staan een aantal methoden ten dienste, waarvan als voornaamste genoemd mogen worden:

1. De z.g.n. Kochsche plaatmethode
2. De z.g.n. kleineplaat-methode
3. De methode der directe telling.

De Kochsche plaatmethode, hetzij men de platen giet met agar-agar, hetzij met gelatine, geeft bevredigende uitkomsten. Zij heeft echter een zeer groot nadeel, waarop o.a. door *v. Oyen* en *Clarenburg* alreeds de aandacht is gevestigd, n.l. dat zij een uitgebreid steriel materiaal en een langdurige bebroeding vereischt, waardoor zij bezwaarlijk voor bepalingen in het groot in aanmerking kan komen. Nochtans heeft zij zich — voor gepasteuriseerde flesschenmelk — in het Melkbesluit als eenige officieele methode gehandhaafd.

De beide vorengenoemde auteurs hebben zeer uitvoerig nage-

gaan of voor melk deze Kochsche plaatmethode niet vervangen zou kunnen worden door de z.g.n. kleineplaat-methode volgens *Frost*. Beiden meenen deze vraag bevestigend te moeten beantwoorden.

Van Oyen noemt de kleineplaat-methode een hulpmiddel van groote waarde bij alle onderzoekingen, waarbij het aantal kiemkrachtige organismen in culturen of andere vloeistoffen moet worden bepaald. V. O. ziet een zeer wijd veld voor de mogelijkheid van toepassing dezer methode.

Clarenburg uit zich aldus: „De kleineplaat-methode van *D. W. Frost* is een uitstekende, betrouwbare en snel tot het doel voerende methode voor het quantitatief bacteriologisch onderzoek van melk. De kleineplaat-methode voldoet beter aan de eischen, die de practijk aan het quantitatief bacteriologisch melkonderzoek stelt, dan de methode der gelatineplaatculturen”. Deze schrijver citeert in zijn proefschrift nog de volgende auteurs.

Frost — deze vindt dat de kleineplaat-methode óók geschikt is voor gepasteuriseerde melk. Hij wenscht echter den duur van bebroeden tot 12 uur te verlengen; 18 uur bebroeden is volgens hem geen bezwaar.

Hatfield en *Park* — deze schrijvers zagen bij 39 monsters gepasteuriseerde melk op de groote plaat kleine kolonies ontstaan, terwijl zij op de kleine plaat alléén met groote vergrooting niet duidelijk tot kolonies uitgegroeide bacterie-hoopjes zagen. Bij deze groote vergrooting telde men bij de kleineplaat-methode méér kiemen als bij de Koch'sche methode (Men telt volgens de auteurs ook hoopjes *doode*, niet tot kolonies uitgegroeide kiemen mee). H. en P. achten een nader onderzoek gewenscht naar den invloed van verdunning en van een bepaalde bacteriënflora (zoals ze in gepasteuriseerde melk voorkomt), daar in hun proeven bij gepasteuriseerde melk grootere variaties tusschen de verschillende methoden van kiemgetalbepaling voorkwamen, dan bij rauwe melk. Zij zeggen echter tenslotte: „Our present opinion is, that both methods are to be depended upon”.

De methode der directe telling — ingevoerd door *Breed* en *Skarr* — heeft vele bestrijders gevonden, daar zij alleen voor zeer sterk kiemhoudende melk te gebruiken is (*Van Oyen* — *Barthell*). Omdat dergelijke melk bij het onderhavige onderzoek niet verwacht

mocht worden, is deze methode buiten beschouwing gelaten. Ook is afgezien van het gebruik der groote (Koch'sche) plaatmethode — ten eerste omdat toch al zoo buitengewoon veel materieel voor het andere onderzoek noodig was, en ten tweede omdat blijkens de uitspraken van bovengenoemde auteurs de kleineplaat-methode even betrouwbare uitkomsten geeft.

In het onderhavige onderzoek is dan ook alleen deze laatste toegepast; voor de techniek verwijzen wij naar de publicaties van *Van Oyen* en *Clarenburg*. De broedtemperatuur werd gehouden op 30° C. gedurende 18 uren. Bij gewone monsters werden 20 velden geteld, bij zeer kiemarme de geheele plaat.

De reactie van Storch

Deze reactie werd toegepast als overmaat van zekerheid, dat wij inderdaad de soort melk voor hadden, die wij ons voorstelden. Zij dient om na te gaan, of verhitting der melk boven 74 à 76° C. heeft plaats gehad (zie *Storch — Van Eck*).

Voor de uitvoering dezer proef werd gebruik gemaakt van het voorschrift van het Melkbesluit. Bij 10 cc melk worden 7 druppels $\frac{1}{2}$ % H_2O_2 -oplossing en een spoortje paraphenyleendiamine gevoegd. Men schudt, en controleert binnen hoogstens 5 minuten. Rauwe melk geeft vrijwel onmiddellijk met deze reagentia een donkerblauwe kleur. Tót hoogstens 76° C. verhitte melk geeft — al naar gelang den duur en den graad der verhitting — een meer of minder duidelijk blauwe verkleuring. Melk die boven $\pm 76^\circ$ C. verhit is geweest blijft wit. De methode wordt hoofdzakelijk gebruikt om na te gaan, of de pasteurisatie der melk — welke ten doel heeft pathogene en saprophytische kiemen zooveel mogelijk onschadelijk te maken — bij een genoegzaam hooge temperatuur heeft plaats gevonden. De methode berust op het feit, dat bij verhitting het steeds in melk aanwezige enzym peroxydase — dat H_2O_2 ontleedt in H_2O en actieve zuurstof, welke laatste aanleiding geeft tot blauwkleuring der paraphenyleendiamine — minder actief wordt, en bij verhitting boven 76° C. zelfs inactief.

Het verloop der reactie werd als volgt genoteerd:

- + positief : sterke en onmiddellijke blauwkleuring
- (+) zwak : lichtgrijs-blauwe verkleuring
- 0 negatief: de kleur blijft wit.

Onderzoek van het sediment vond tenslotte nog plaats op de wijze, als door *Trommsdorff* aangegeven, en welke wijze van uitvoering men o.a. ook kan vinden in de Bijlage B. van het Melkbesluit. Uit de hoeveelheid, de kleur en het aspect van het sediment meent T. conclusies te mogen trekken t.a.v. het bestaan van eventuele uierontstekingen. Dit is echter nogal speculatief, en het is zeer aan te bevelen van het verkregen sediment een microscopisch preparaat te onderzoeken op mastitisstreptococcen, en zoo noodig op andere pathogene micro-organismen, enz., ter verkrijging van meerdere zekerheid ten dezen.

De hoeveelheid sediment is niet genoteerd, daarentegen wèl de vondsten in het preparaat. In de tabellen zijn de navolgende afkortingen gebruikt:

L = leucocyten, lymphocyten en cellen van het uierweefsel

sldr. = fibrine- of slijmraden

D. = Diplococcen

B. = diverse soorten bacteriën

k. s. of k. str. = korte streptococcen

l. s. of l. str. = lange streptococcen

mast. = mastitis

C = coccen lact = lactis

!! = zeer veel, ! = veel, () = weinig, (()) = zeer weinig en

((())) = uiterst weinig.

Onderzoek der gepasteuriseerde tankmelk

Op de tankmelk van de groote inrichting uit hoofdgroep B. is behalve het gewone onderzoek zéér dikwijls toegepast het onderzoek op *B. coli* in grootere quanta, nadat deze op de door *Pien* en *Bachimont* aangegeven wijze gedurende 8 uur waren bebroed bij 37° C., en hiervan vóór en nà bebroeden de zuurgraad was bepaald (uitgedrukt in ° S.H. i. p. v. in ° D., zooals P. en B. hebben gedaan).

De genoemde auteurs hebben zeer uitvoerig en minitieus nagegaan hoe bekende hoeveelheden *coli* in bekende hoeveelheden melk saamgebracht met een overmaat van melkzuurstreptococcen zich na verloop van 8 uur bebroeden gedragen, en komen daarbij tot de volgende conclusies.

Indien de melk oorspronkelijk niet meer dan 5 colikiemen per liter bevatte, dan zal, na 8 uur bebroeden zeker in elken cc coli aangetoond kunnen worden, indien de zuurgraad niet gestegen is boven 40° D..

7 à 10 coli-achtigen per liter zijn aan te toonen, als de zuurgraad na 8 uur kleiner is dan 55 à 65° D., 12 à 15 indien deze blijft beneden 60 à 65° D., 20 indien beneden 85° D. en 25 à 30 indien beneden 100° D..

Van de aldus behandelde melk enten P. en B. 1 cc op peptonwater, (en wel op 50 à 100 cc, om de vroeger reeds aangegeven reden) en doen hierin na 1 × 24 uur de indolbepaling.

Deze methode is door mij gevolgd; bovendien werd van de bebroede melk telkens nog 1 cc geënt op Chalmers' en Trypaflavine-lactosebouillon. De resultaten van dit onderzoek zijn vermeld op de tabel van het betreffende bedrijf (no. 15).

Invloed van naspoeling van het vaatwerk enz. met chloorbleekloogoplossing

In het onderzoek is tenslotte ook opgenomen het nagaan van den invloed van een speciale reiniging van het vaatwerk e.d. op den bacterieelen toestand der melk.

Van Engelse (o.a. *Stenhouse Williams*), Hollandsche (*Van Oyen en Treffers*), Duitsche (o.a. *Meurer en Frank*) en Amerikaanse zijde (o.a. *Hunziker, Cordes en Nissen*) is geweest op den zeer grooten invloed, dien het melkmateriaal en zijn reiniging hebben op de bacterieele hoedanigheden der melk.

Vaatwerkreiniging geschiedt in hoofdzaak op 3 wijzen, althans in behoorlijke consumptiemelkbedrijven, t.w.

- A. Door alcalische wasschingen (heete soda-oplossing) met opvolgende koud- of heetwaterspoeling.
- B. Door eenzelfde reiniging en naspoeling met koude of heete oplossingen van desinfectantia (o.a. trinatriumfosfaat, en vooral hypochloriden).
- C. Door na gewone alcalische reiniging uit te stoomen.

Algemeen is men het er over eens dat, mits goed toegepast, bij stoomen het beste effect wordt verkregen (o.a. *Hoy en Rennie, Farral, e.a.*).

Ondertusschen is het doorsnee Hollandsche boerenbedrijf niet op stoomen ingericht, en zal het dit m.i. ook niet gemakkelijk kunnen worden. Deze werkmethode is bovendien wat omslachtig, mede doordat nà-stoomen van het vaatwerk minstens 3 à 10 minuten lang (liefst met oververhitten drogen stoom) moet geschieden. Voor practische toepassing in het groot komen dus alleen in aanmerking de methoden A. en B.

Op een aantal bedrijven (de ondergroepen I en II) is nu gedurende een bepaalde periode op alle melkgerei, flesschen enz. toegepast gewone sodawaterreiniging, met heet- of koudwater-naspoeling, en daarna gedurende zekeren tijd koude of heete naspoeling met het preparaat chloorbleekloog (welwillend beschikbaar gesteld door de directie der Kon. Ned. Zoutindustrie te Boekelo) in de voorgeschreven concentratie van $\frac{1}{4}$ tot $\frac{1}{2}$ eetlepel (3 à 5 cc) op 10 liter water (40 à 50 mgr. actief chloor per liter). In deze concentratie wordt het metaal niet aangetast. De lichte chloorlucht, die in de bussen blijft hangen, heeft geen enkelen invloed op reuk of smaak der melk.

De toepassing is zeer gemakkelijk, als in een schoonen melkemmer na de gewone reiniging de oplossing wordt klaargemaakt, en hiermee achtereenvolgens alle vaatwerk wordt nagespoeld.

De flesschen, waarin de melk van het in ondergroep I genoemde bedrijf werd verpakt, kwamen in een apart chloorbleekloogbad.

Bij ondergroep III heeft geen andere reiniging plaats gevonden, dan de gewone, min of meer zorgvuldige sodawaterreiniging en koudwaternaspoeling.

Bij de groep B. „Distributiebedrijven” zijn van den eenen verkooper (no. 16), de bussen (na 1 Sept.) steeds grondig gestoomd, van den anderen (no. 17) gewoon goed geboend met warm sodawater, en met heet water nagespoeld; voor de reiniging van den tankwagen van de slijtersorganisatie (no. 18) is nooit eenig advies gegeven. Deze wordt als regel uitgespoten, en met stoom en sodawater gebroeid, naar de directie mij verklaarde. Het geschiedt echter niet steeds even zorgvuldig.

Het reinigingsprocédé bij de groote melkinrichting (no. 15) ten slotte is zeer minutieus, en bestaat uit het maken van een ruim gebruik van koud- en heetwaterdoorpomping, heete sodawaterbroeiing, en nasteriliseeren gedurende 15 minuten met oververhitten

stoom. De inrichting laat geen melk toe voor verwerking tot consumptiemelk, die schift bij toevoeging van gelijke deelen alcohol 70%. Tevens legt zij zich in tamelijk uitgebreide mate toe op melkverbetering aan de bron.

In de tabellen van het onderzoek is verder genoteerd alles, wat aan bijzondere maatregelen is toegepast, benevens de weersomstandigheden en de buitentemperatuur ten tijde der winning en/of bemonstering. Verder is bij elke tabel opgenomen een samenvattend overzicht van de resultaten der inspecties bij het betreffende bedrijf gehouden, en de voornaamste daarbij geconstateerde fouten.

Tegelijkertijd zijn de bedrijven geklasseerd als goed — vrij goed — matig goed — matig — zeer matig en onvoldoende.

Na de tabellen volgt voor elke ondergroep een bespreking van de resultaten van het onderzoek der melk van de — tot de bewuste ondergroep behorende — bedrijven.

GROEP A Bedrijfsvoering.

Ondergroep I Normaal matig tot tamelijk goed consumptiemelkbedrijf, waar de winning en verpleging niet, de vaatwerk- en melkbehandeling echter wél met de noodige zorg geschiedden. — Op dit bedrijf is tot en met 16 September niet gekoeld. De melk werd hoogstens 1/2 uur na het melken getransporteerd naar de op ± 30 minuten

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	avond 11/8	morgen 19/8	avond 26/8	avond 1/9	avond 8/9
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 I	I I	I I (zwak)	II II	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	20.475	27.650 spread.	8.225	29.050	14.000
Reductase-gistingproef { ontleurd na coagulatie wei- en gasvorm. } na 20 uur peptonificatie	beg. na 5 1/4 u. ged. coag.	> 5 1/4 uur tot. gel. m. coag. (weiv., pept.)	> 5 uur tot. gel. m. coag.	> 5 uur tot. gel. m. coag. (g. b.)	> 5 1/2 uur tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	(L-D-str. lact.)	L. sldr.	L. sldr.	L. B.	L! (D.)

Bijzonderheden In deze periode gewone reiniging van vaatwerk enz. met sodawater en naspoeling met koud welwater.

afstand gelegen fabriek en dáár bemonsterd en direct bij ± 6° C. geplaatst. — Na 16 Sept. is de avondmelk geregeld goed gekoeld en geroerd. De reiniging en de toestand van het melkgerei was goed, behalve op enkele nader aangegeven data, waarop hetzij de knecht deze verrichtte, hetzij verhuisdrukte in het spel was. — Den geheelen zomer is de melk niet gezeefd. — Het melkgerei is naadloos vertind en goed onderhouden.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 1/2° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.
Soort der melk	avond 16/9	avond 22/9 morgen 23/9	avond 29/9 morgen 30/9	avond 6/10 morgen 7/10
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	II III	I I	III III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	3.675	25.550	12.250	20.825
Reductase-gistingproef { ontleurd na coagulatie wei- en gasvorm. } na 20 uur peptonificatie	> 5 1/2 uur tot. gel. m. coag.	< 3 uur > 5 1/2 uur tot. gel. m. coag. (g. b.)	> 5 1/2 uur tot. gel. m. coag. (weiv.)	> 5 uur tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L! sldr. ((D))	niet gedaan	L.	L! sldr. ((D))

In dit tijdvak is nagespoeld met koude chloorbeekloog-oplossing.

Datum van onderzoek . .	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 10° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.
Soort der melk	avond 12/10	morgen 18/10	avond 20/10 morgen 21/10
Coliliter na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV (zwak)	II 0	II III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	10.150	5.425	5.950
Reductase-gistingproef { ontleurd na coagulatie wei- en gasvorm. } na 20 uur peptonificatie	> 3 uur < 5 1/2 uur tot. gel. m. coag. (g. b.)	> 5 1/2 uur tot. gel. m. coag.	> 5 1/2 uur tot. gel. m. coag. ((g. b.))
Reactie van Storch	+	+	+
Sedimentonderzoek	niet gedaan	L!!	niet gedaan

Bijzonderheden

Vanaf 13 October is het vaatwerk enz. nagespoeld met heete chloorbleekloog-oplossing. — In de weken tusschen 1 en 14 October is 't melkmateriaal gereinigd door den knecht. Dit is minder zorgvuldig gebeurd als gewoonlijk. — Tusschen 26 October en 4 November zijn de koeien opgesteld.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	18 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 6° C.	droog 6° C.	droog 8° C.	regen ? droog koud
Soort der melk	avond 2/11	morgen 3/11	avond 10/11 morgen 11/11	avond 17/11 morgen 18/11
Coliliter na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV niet gedaan	III III	0 II (I niet)	II I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	47.425	6.475	niet gedaan	24.150
Reductase-gistingproef { ontleurd na coagulatie wei- en gasvorm. } na 20 uur peptonificatie	> 6 1/4 uur coag. pept. weiv. (g. b.)	> 6 1/4 uur tot. gel. m. coag. ((g. b.))	> 6 1/4 uur ged. coag.	> 6 1/4 uur tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	niet gedaan	L. ((D. C.))	niet gedaan	geen afw.

In deze week is 't heele bedrijf naar een andere boerderij overgebracht!

Bij inspectie op 14 November bleek het bussenrek op de deel te staan. De melk werd op de deel uitgezeefd. Een der bussenborstels rook iets zuur.

GROEP A Bedrijfsvoering in alle opzichten goed.

Ondergroep I Op dit bedrijf is tot en met 16 September niet gekoeld, maar de melk direct na Bedrijf No. 2 het melken getransporteerd naar de op $\pm 1/2$ uur afstand gelegen fabriek, waar

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	avond ¹¹ / ₈	morgen ¹⁹ / ₈	avond ²⁶ / ₈	avond ¹ / ₉	avond ⁸ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I 0	0 I	I I	II I	0 I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	4.375	14.450 spread.	4.200	9.450	6.125
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	ged. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L! ((D.k.str.))	L.	(L)	L!	L ((sldr. D))

Bijzonderheden In dit tijdvak zijn melkgerei enz. gereinigd met heet sodawater en nagespoeld met koud Nortonwater.

Datum van onderzoek . .	13 Oct.	21 Oct.		28 Oct.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.		regen 7° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹³ / ₁₀	avond ²⁰ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	avond ²⁷ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I 0	I 0	I (zwak) 0	I niet gedaan	II III (I en II negat.) 7.000
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	6.090	3.150	3.325	40.425	
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 uur
	niet opgenomen	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!!! (sldr.)	niet gedaan	L!!	niet gedaan	L!! sldr.

Bijzonderheden Vanaf 13 October is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing tot het eind van het onderzoek. De avondmelk van ²⁸/₁₀ is door een abuis niet goed gekoeld.

bemonsterd werd en bleef staan bij $\pm 6^\circ$ C. — Na 16 September is, behoudens op 27 October en 17 November, toen het minder goed geschiedde, de avondmelk steeds goed gekoeld in stroomend Nortonwater en goed geroerd. — Alle melkgerei is naadloos en vertind en in goeden staat.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.		7 Oct.		13 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C. gemengd avond ²² / ₉ morgen ²³ / ₉	zonnig 19° C.		zonnig 15° C.		regen 10° C.
Soort der melk	avond ¹⁵ / ₉	avond ²² / ₉ morgen ²³ / ₉	avond ²⁹ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	avond ⁶ / ₁₀	morgen ⁷ / ₁₀	avond ¹² / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I I (zwak)	II I, II en IV	II (I zwak) III	II 0	II II	II I (zwak)	II (I negat.) I en III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	700	4.025	21.000	4.450	8.400	4.550	4.900
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag. g. b.	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	ged. coag.	\pm geheel dun vloeibaar	niet opgenomen
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L! (((C.)))	L.	L! sldr.	L!	niet gedaan	L.	niet gedaan

In deze periode is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.		18 Nov.		18 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.		regen ?	droog koud	droog $\pm 0^\circ$ C.	
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	avond ¹⁰ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	avond ¹⁷ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	avond ¹⁷ / ₁₂	morgen ¹⁸ / ₁₂
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I 0	I I	I 0	II (I negat.) niet gedaan	0 0	0 I	II I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	2.275	niet gedaan	5.600	88.375	5.250	14.525	4.200
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 6 uur	> 6 uur
	dun vloeibaar	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	ged. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	preparaat stuk gevallen	niet gedaan	L.	niet gedaan	L!	L!! sldr.	L!! sldr. ((D))

Vanaf 13 Nov. zijn de koeien opgesteld.

N.B. Op 23 September is een gemengd monster van ochtend- en avondmelk samen genomen. Zie het voor dit bedrijf hoge colicijfer, en het lage totaal kiemcijfer.

GROEP A Bedrijfsvoering vrij goed.

Ondergroep I Zeeft 's zomers niet door watten. — Melkemers aanvankelijk van matige kwaliteit; na 30 September zijn naadlooze vertinde gebruikt.

Datum van onderzoek . .	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	16 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	zonnig 18° C.
Soort der melk	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁰ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉	morgen ¹⁰ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I I	II II	II (zwak) 0	0 0	III (zwak) III
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	12.600	29.837	30.100	3.325	19.075
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur			
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L! (sldr.-D.)	geen afw.	L. D.	(L.)	L. D.

Bizonderheden

Tot en met 16 September is het vaatwerk na de gewone reiniging nagespoeld met koud leidingwater.

Datum van onderzoek . .	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.
Soort der melk	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	II I	I (zwak) 0
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	5.425	11.375	< 350
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag. (weiv.)	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur	
Reactie van Storch	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!!	L.	L!

Alle melk wordt koewarm uitgevent. — Behoudens de monsters van 7 en 21 October, was geen enkel der onderstaande monsters gekoeld.

Datum van onderzoek . .	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.	3 Nov.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.	droog 6° C.
Soort der melk	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀	morgen ³ / ₁₁
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	II (I niet) II (I niet)	I 0	0 0	0 0	I en III (II niet) II	II III
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	11.375	34.300	5.250	18.550	64.225	8.225	77.175
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 6 ¹ / ₄ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur					
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	geen afw.	(L. (k. str. lact.))	geen afw.	((D.))	((D.))	geen afw.	L!! (D.-k.s.)

Van 16 t/m. 30 Sept. is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing.

Na 30 Sept. tot het eind van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing. — Op 21 Oct. stond de melk in een oude bus, die meestal niet meer wordt gebruikt.

Vanaf 27 October zijn de koeien opgesteld. — Zeer eenvoudig ingerichte stal.

GROEP A Bedrijfsvoering goed.

Ondergroep I Melkgerei in behoorlijk goeden toestand, alles naadloos vertind. — Op dit bedrijf wordt alle melk gekoeld over een open koeler met Nortonwater-doorstroming. Ze krijgt daarbij een temperatuur van 11° C. Direct na het melken komt ze in grondig

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.
Soort der melk	avond 11/8	avond 18/8	avond 18/8	avond 25/8	avond 1/9
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	III I	0 0	0 0	0 I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	128.450	10.850 spread.	66.150 spread.	19.950	3.150
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	+	+	+	+	+
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	C!!	L! (B.)	C!	(L.)	L.

Bizonderheden

Van 12 Aug. t/m 16 Sept. zijn bussen, melkgerei, flesschen enz. na de gewone reiniging in sodawater nagespoeld met koud Nortonwater. Op 19 Aug. zijn 2 monsters van dezelfde partij onderzocht — het eerste is direct na het melken en koelen op de boerderij op 18/8 genomen en tot 's anderen daags 2 uur op het laboratorium op ijs bewaard, het tweede is een monster dat den volgenden dag op het filiaal gehaald is, en daar niet koud was bewaard, doch gewoon in den kelder en dat ook eenige uren in den winkel had gestaan.

Datum van onderzoek . .	28 Oct.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 7° C.	droog 6° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.
Soort der melk	avond 27/10	avond 11/11	avond 17/11	avond 15/12
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	I (zwak) 0	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	1.050	20.200 (op gr. plaat na 3 d.)	9.100	9.975
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 uur	> 6 uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	dun vloeibaar
	+	+	+	+
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!!	geen afw.	L. (((C.)))	L!! ((D.-k.str?))

Bizonderheden

28 October zijn de koeien opgestald.

gereinigde flesschen die gecapsuleerd worden, en na ongeveer een kwartier per fiets gebracht worden naar het filiaal te Arnhem, op ongeveer 5 K.M. afstand gelegen. In dit filiaal moest meermalen aanmerking worden gemaakt op een onvoldoende koeling dezer flesschenmelk. Dit was het geval op 12 en 19 Aug. en 13 October. — Het monster van 26 Aug. heeft eenige uren gestaan bij kamertemperatuur.

Datum van onderzoek . .	9 Sept.	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 20° C.	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	regen 10° C.	zonnig 14° C.
Soort der melk	avond 8/9	avond 15/9	avond 22/9	avond 29/9	avond 6/10	avond 12/10	avond 20/10
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	0 0	I I	0 0	I 0	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	2.975	21.875	19.600	2.275	2.100	45.675	1.750
Reductase-gistingproef { ontkleurd na coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie na 20 uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 20 uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar
	+	+	+	+	+	+	+
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	(L.)	L.	L. (((B.)))	geen afw.	(L.)	(L. D.)	geen afw.

In dit tijdvak is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing.

Vanaf 13 Oct. tot het eind van het onderzoek is met heete chloorbleekloogoplossing nagespoeld.

GROEP A Bedrijfsvoering in alle opzichten goed.

Ondergroep II Alle melkgerie is naadloos en vertind en verkeert in goeden staat. — Op dit Bedrijf no. 5 bedrijf wordt de melk direct na het melken in den koelbak geplaatst en gekoeld in stroomend Nortonwater tot op het moment dat de melkrijder ze komt

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	avond d.d. 11/8	morgen d.d. 19/8	avond d.d. 25/8	avond d.d. 1/9	avond d.d. 8/9
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV II	IV IV	II III	III II	I I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	5.775	overgroeid	19.600	8.575	4.025
Reductase-gistingproef { ontleurd na . . . } { coagulatie . . . } { wei- en gasvorm. } { peptonificatie . . } na 20 uur	> 5 1/4 uur	1.35 uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5 1/2 uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv. en g.b.)	dun vloeibaar	dun vloeibaar	ged. coag.
	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek . . .	L! ((str.lact.))	L.-B!	L!! sldr. ((D.-k.s.))	L!!	L!
<i>Bijzonderheden</i>	In deze periode zijn de bussen enz. na de gewone reiniging met koud water nagespoeld.			Van 2—16 Sept. geschiedde de naspoeeling met kokend water.	

halen voor de op ± 15 minuten afstand gelegen fabriek. — Het hoge colicijfer in het begin van het onderzoek verdween, nadat de bussen met kokend water werden nagespoeld. Het water op dit bedrijf bevatte vrij veel kiemen, waarschijnlijk tengevolge van een vuile kraan, maar was vrij van coli in 100 cm³.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	2 Oct.	7 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 1/2° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.
Soort der melk	avond d.d. 15/9	avond d.d. 22/9	morgen d.d. 23/9	avond d.d. 1/10
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	0 I	0 0	II (zwak) II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	1.925	2.450	4.025	7.175
Reductase-gistingproef { ontleurd na . . . } { coagulatie . . . } { wei- en gasvorm. } { peptonificatie . . } na 20 uur	> 5 1/2 uur	> 5 1/2 uur	> 5 1/2 uur	> 7 1/2 uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv.)
	+	+	+	+
Sedimentonderzoek . . .	L!! (((C.)))	L. (((C.)))	L.	niet gedaan
<i>Bijzonderheden</i>	Naspoeeling met koude chloorbleekloogoplossing.		Vanaf 2 Oct. naspoeeling met heete chloorbleekloogoplossing t/m het einde van het onderzoek.	

Datum van onderzoek . .	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 10° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.
Soort der melk	avond d.d. 12/10	morgen d.d. 13/10	avond 20/10
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	0 0	I (zwak) niet gedaan
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	6.675	5.075	2.625
Reductase-gistingproef { ontleurd na . . . } { coagulatie . . . } { wei- en gasvorm. } { peptonificatie . . } na 20 uur	> 5 1/2 uur	> 5 1/2 uur	> 5 1/2 uur
	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	dun vloeibaar
	+	+	+
Sedimentonderzoek . . .	niet gedaan	L!	niet gedaan

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	18 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 6° C.	droog 6° C.	droog 8° C.	regen ? koud weer
Soort der melk	avond d.d. 2/11	morgen d.d. 3/11	avond 10/11	morgen 11/11
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 niet gedaan	I I	0 0	0 niet gedaan
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	38.675	5.775	niet gedaan	6.825
Reductase-gistingproef { ontleurd na . . . } { coagulatie . . . } { wei- en gasvorm. } { peptonificatie . . } na 20 uur	> 6 1/4 uur	> 6 1/4 uur	> 6 1/4 uur	> 6 1/4 uur
	dun vloeibaar	dun vloeibaar	grootendeels dun vloeibaar	dun vloeibaar
	+	+	+	+
Sedimentonderzoek . . .	L. ((D. k.str.))	niet gedaan	niet gedaan	L.

Bijzonderheden

Sinds 25 Nov. staan de koeien op stal.

Van alle koeien zijn bij herhaling steriele monsters genomen in verband met het voor dit bedrijf vrij hooge hoogstens 1 kiem per cm.³

colicijfer in het begin van het onderzoek. Hierbij kon slechts bij één der 18 koeien coli worden aangetoond tot

GROEP A Bedrijfsvoering vrij goed.

Ondergroep II Heeft géén naadlooze vertinde emmers, maar deze zijn van ander materiaal, goed
Bedrijf no. 6 schoon, echter niet al te best meer, behoudens 1 nieuwe emaille-emmer, die vanaf

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	morgen ¹² / ₁₀	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁶ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I II	I I	II II	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleineplaat	205.200	27.300 spread.	239.400	145.600 spread.	52.675
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur	(g.b.)		
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	C!!!	L! sldr. D.	(L.)	L. D. (k.s.)	L. ((D.-k.s.))

Bizonderheden

Van 12 Aug. t/m 16 Sept. is het vaatwerk enz. nagespoeld met heet water en aanvankelijk met een schoonen doek nagedroogd (alleen de eerste weken).

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II (zwak) 0	I I	I I	I 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleineplaat	47.075	29.400	19.425	10.150
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv.)	ged. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur		
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L. ((D.))	L. ((D.))	(L.)	((C.))

Bizonderheden

De koeien zijn 4 Nov. opgesteld. — De stalinrichting is vrij primitief.

eind Sept. is gebruikt. — In dit bedrijf wordt alle melk gekoeld tot op ± 14° C. vóór ze wordt verkocht. Ook de voorraad in den winkel blijft gekoeld in een teil met water.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²⁵ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II (zwak) I negat. I	II I	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleineplaat	82.075	30.100	26.950	18.200	6.300	44.450	28.175
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	ged. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	grootendeels dun vloeibaar	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur					
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L. C.	L ((C.))	L. ((D.-k.s.))	L.	L.	L. ((D.))	L! (C.)

In deze periode is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing.

Na 30 Sept. tot het eind van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing.

GROEP A Bedrijfsvoering goed.

Ondergroep II In de eerste weken is enkele keeren gewezen op het belang van grondige vaatwerkreiniging en de wenschelijkheid om een oude bus en melkemer niet meer te gebruiken. — Na 26 Aug. was de kwaliteit en de reinheid van het melkgerie enz. prima (alles naadloos en vertind). — Gekoeld wordt alleen de melk die thuis blijft.

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	avond ¹¹ / ₈	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁰ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III III	0 0	II (I niet) I	I I	I I	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	815.100	11.550	3.477.000	35.000	2.625	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	< 2 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 1 uur < 2 uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
na 20 uur						
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek	C!!	L! sldr. (l. str. lact.?)	L. str. lact!!	L. D. k.s.	L ((D.B.))	

Bizonderheden

Van 12 Aug. t/m 16 Sept. is het vaatwerk enz. na de reiniging met sodawater met koud water nagespoeld. Na 26 Aug. zijn een oude bus en melkemer vervangen door nieuw materiaal.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II I	0 0	II I	II I	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	22.750	2.100	5.425	27.650	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	coag. dr. pr. pept!! g.b.!!	tot. gel. m. coag.
na 20 uur					
Reactie van Storch	+	L.	+	+	
Sedimentonderzoek	L	geen afw.	geen afw.	geen afw.	

De rest wordt koewarm uitgevent, behalve met erg warm weer. — De melk thuis staat in een deel in het melklokaal, die soms wel, soms niet in den koelbak is blijven staan na de oorspronkelijke afkoeling en doorgaans met een schoonen doek is afgedekt. — De monsters van 19 en 26 Aug., 2 Sept. en 16 Dec. zijn straatmonsters.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I I	II II	III III	0 0	0 0	0 0	II 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	17.850	50.050	8.050	6.650	5.775	1.925	3.850
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	grootendeels dun vloeibaar	tot. gel. m. coag.
na 20 uur							
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	((D.))	L!! ((C))	L!	L!	L!	L!	L!!
<i>Bizonderheden</i>	In deze periode is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing.			Na 7 October tot het eind van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing.		25 Oct. zijn de koeien opgestald.	

GROEP A Bedrijfsvoering.

Ondergroep II Normaal matig tot goed consumptiemelkbedrijf, waar op de wijze van winning en Bedrijf no. 8 behandeling af en toe een aanmerking was te maken, vooral in het begin. — Alle melkgerei is naadloos en vertind en verkeert, behalve één emmer, in goeden staat. — Koeling heeft op dit bedrijf niet plaats gevonden tot en met

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	avond d.d. 11/8	morgen 19/8	avond 25/8	avond 1/9	avond 8/9	
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	0 II	III II	I I	IV III	II III	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	17.325	17.850 spread.	71.575	91.700	9.100	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. (weiv.) (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv.) (g.b.)
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek . . .	(L.) D.	L.	L.	L!	L ((D.))	

Bijzonderheden

In dit tijdvak heeft de behandeling van het vaatwerk bestaan in de gewone reiniging met sodawater en naspoelen met koud welwater.

16 September. — De melk werd ongeveer 1/2 uur na het melken naar de op ± 20 minuten afstand gelegen fabriek getransporteerd, aldaar bemonsterd en direct bij ± 6° C. geplaatst. — Na 16 Sept. is tot ± 21 October wel gekoeld; echter is het koelwater niet voldoende vaak ververscht, en de melk niet geroerd. Vóór 21 October is dat verbeterd. Het water op dit bedrijf was bacteriologisch goed.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.				
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.				
Soort der melk	avond 15/9	avond 22/9 morgen 23/9	avond 29/9 morgen 30/9	avond 6/10 morgen 7/10				
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	III III	III III	IV III	III III				
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	16.800	59.500 10.150	1.744.200 51.000	143.500 2.800				
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 50 min. < 1.40 uur	> 3 uur begint na 5 u.	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek . . .	L!!	L. C.	L.	D. str. lact!	(L.)	niet gedaan	geen afw.	

In dit tijdvak heeft een naspoeling plaats gevonden met koude chloorbleekloogoplossing, en is aangedrongen op beter melken en koelen, wat ten deele is opgevolgd.

Datum van onderzoek . .	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.			
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 10° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.			
Soort der melk	avond 12/10	morgen 13/10	avond 20/10 morgen 21/10			
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	IV IV	III III	II I (zwak) 0			
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	379.050	10.375	6.650 3.325			
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. (g.b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. m. coag. (g.b.)	ged. gel. m. coag.	grootendeels dun vloeibaar
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek . . .	niet gedaan	L!	niet gedaan	geen afw.	niet gedaan	geen afw.

Bijzonderheden

Vanaf 13 Oct. tot het einde van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing. Vanaf 21 Oct. is het systeem van koelen verbeterd.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	18 Dec.				
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	regen 6° C.	droog 6° C.	droog 8° C.	regen ? koud				
Soort der melk	avond 2/10	morgen 3/10	avond 10/11 morgen 11/11	avond 17/11 morgen 18/11				
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	III niet gedaan	0 0	0 I	I en III I				
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	40.425	13.650	niet gedaan	7.700				
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 6 uur	> 6 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. weiv. pept. (g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv.) (g.b.)	dun vloeibaar	dun vloeibaar baar ((g.b.)) onder de roomlaag	tot. gel. m. coag. (g.b.)	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag. (weiv.) (g.b.)
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek . . .	L. C.	niet gedaan	niet gedaan	L.	niet gedaan	L. (((D.)))	L!	L!

Vanaf 13 Nov. hebben de koeien op stal gestaan.

GROEP A Bedrijfsvoering.

Ondergroep II Normaal matig tot tamelijk goed consumptiemelk bedrijf, waar winning en specialisatie van de melkfabriek. Bedrijf no. 9 koeling en behandeling zonder moeite beter hadden kunnen geschieden. — Alle melkgerei is naadloos en vertind en verkeert in goeden staat. Op dit be-

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	regen 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	avond 11/8	morgen 19/8	avond 25/8	avond 1/9	avond 8/9
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	I 0	II III	III III	II III	II (I zwak) 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	8.750	10.430 spread!	39.725	112.875	48.475
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 1. ³⁵ < 2. ¹⁵ uur	begint na 5 u.	> 2 ³ / ₄ < 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. ((weiv.)) (g.b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	(L.D.str.lact.)	(L.D.str.lact.)	L.	L! C.	L. (D.)

Bizonderheden

In dit tijdvak is het vaatwerk na de gewone sodawaterreiniging nader gespoeld met koud Nortonwater.

drijf is tot en met 16 September in het geheel niet, en daarna onvoldoende gekoeld. — Een gedeelte der avondmelk wordt direct na het melken geleverd naar de op ± 20 minuten afstand gelegen fabriek. Een ander deel der avondmelk werd na 16 September pas 's anderen daags 's morgens geleverd. Dit gedeelte is toen steeds bemonsterd.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	regen 10° C.	
Soort der melk	avond 15/9	avond 22/9 en morgen 23/9 gemengd	avond 29/9	avond 6/10	avond 12/10	
Colititer na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	I I	I, II en IV III	II III	II II	I II	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	7.875	1.111.500	718.200	861.000	983.250	
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 1 ¹ / ₂ uur < 2 uur	> 2 uur < 2 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. ((weiv.))	tot. gel. m. coag. (peptonif.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. ((g.b.))
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek	L!! ((C.))	C!!	L. D. str. lact.	L. B.	niet gedaan	

In dit tijdvak is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing en aangedrongen op betere koeling der avondmelk. Er is met iets meer zorg gemolken.

Van 13 Oct. tot het einde van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloog oplossing.

Datum van onderzoek . .	21 Oct.	26 Oct.	28 Oct.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 14° C.	regen 11° C.	regen 7° C.	
Soort der melk	avond 20/10	morgen 21/10	avond 27/10	
Coliliter na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	IV IV	II (zwak) I (zwak)	III III	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	53.025	5.075	43.750	
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 5 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	niet gedaan
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. ((g.b.))	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	niet gedaan	L.	niet gedaan	L!

Bizonderheden

Het monster avondmelk van 25 October is ± 1 uur na het melken gezet bij een temperatuur van ± 6° C. De koeling geschiedt nog steeds niet voldoende.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	18 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	regen ? koud	droog ± 0° C.	
Soort der melk	morgen 3/11	avond 10/11	morgen 11/11	avond 17/12	
Coliliter na 2 (Chalmers) dagen volgens (Klimmer)	I I	III III	0 0	II niet gedaan	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	39.550	niet gedaan	17.850	438.900	
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 6 uur < 6 ¹ / ₄ uur	> 2 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. ((g.b.))	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. ((g.b.))
Reactie van Storch	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek	preparaat stuk gevallen	niet gedaan	L.	niet gedaan	

N.B. Op 23 Sept. is een gemengd monster van ochtend- en avondmelk samen genomen per abuis. Zie hoge coli en kiem-cijfer.

De koeien zijn 29 Nov. opgesteld. De melk wordt in de stal gezeefd somtijds!!

GROEP A Bedrijfsvoering aanvankelijk matig; na eind September beter. In deze eerste **Ondergroep II** periode moest herhaaldelijk aanmerking worden gemaakt op de wijze van winning. **Bedrijf no. 10** en vooral op toestand en reinheid van het melkmateriaal. Na 30 Sept. waren er een paar naadloze melkemmern aanwezig, en was de reiniging zorgvuldiger.

Datum van onderzoek . .	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	16 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	zonnig 18° C.
Soort der melk	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁶ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉	morgen ¹⁶ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV	IV IV	IV III	III III	II (I niet) II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	84.800 spread.	1.108.650	138.250 spread.	52.850	131.100
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 1 uur < 2 uur	> 2 ³ / ₄ uur < 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv.) (g.b.)	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	C!!	L. C!	L. D. k.s.	L!! (D. k.s. mast?)	L!! sldr. D. k. str.

Bijzonderheden

Van 19 Aug. t/m 16 Sept. is het vaatwerk enz. met soda gereinigd en nagespoeld met koud leidingwater.

Datum van onderzoek . .	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.
Soort der melk	morgen ¹⁰ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	I I	0 0
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	29.750	19.425	17.925
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	grootendeels dun vloeibaar	grootendeels dun vloeibaar
Reactie van Storch	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!! ((D. k.s.))	L!	L!

Bijzonderheden

Vanaf 1 Nov. zijn de koeien opgesteld.

Op dit bedrijf werd alle melk als regel gekoeld voor zij werd verkocht. De in den winkel voorradige melk echter, die als regel bemonsterd werd, bevond zich meestal in een niet-gesloten maat-
emmer, en werd ook verder niet gekoeld. — In de periode 23 t/m 30 Sept. heeft de reiniging van het vaatwerk door huiselijke omstandigheden te wenschen overgelaten.

Datum van onderzoek . .	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.	3 Nov.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.	droog 6° C.
Soort der melk	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀	morgen ³ / ₁₁
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III IV	IV IV	0 I	I, II en III alle zwak II	II (I niet) II	II (I niet) III	I I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	267.900	1.493.400	36.400	23.450	3.325	63.875	40.950
Reductase- gistingproef	> 5 ¹ / ₂ uur	> 1 ⁴⁰ / ₁₀₀ uur < 2 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur < 6 ¹ / ₄ uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag. (pept.) (g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b.) (pept.)
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!! C.	(L.) D! B!	L! sldr. (D. k.s.)	L. ((D.))	L!! sldr.	L!! ((D.))	L.

In deze periode is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing. Het vaatwerk is echter niet goed gereinigd.

Vanaf 7 Oct. tot het einde van het onderzoek is nagespoeld met heete chloorbleekloogoplossing.

GROEP A Bedrijfsvoering aanvankelijk matig, na eind September beter.

Ondergroep II Is een tweelingbedrijf van no. 10. In de weideperiode wordt gezamenlijk gemolken. Bedrijf no. 11 vaatwerk gereinigd en gekoeld. Alleen wordt de melk door ieder bedrijf apart verkocht. In de stalperiode zijn de bedrijven gescheiden. — De opmerkingen over wijze van melken, reiniging en toestand van het vaatwerk enz. zijn dezelfde als

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	morgen ¹² / ₈	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁶ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV III	IV IV	IV IV	II II	III III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	359.100	144.200 spread.	3.659.400	465.500 spread.	38.500
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	1.35 uur	> 1 uur < 2 uur	> 2 ³ / ₄ < 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g.b.)
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	C!!	B. C!	B.	B. C.	(L.) ((B.))

Bijzonderheden

Koudwaternaspoeling. — Voor reiniging enz. v.h. vaatwerk tot met 28 October zie ook no. 10.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud!	droog minus 5° C.
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂ I
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 I	0 0	0 0	(III zwak (I en II (negat.)
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	75.075	44.975	122.850	128.250
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. (g. b.)	dun vloeibaar	grootendeels dun vloeibaar
Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L! (D.)	L!!((D.k.s.))	L.	L! ((D.))

Bijzonderheden

1 Nov. zijn de koeien opgesteld.

bij no. 10. — In de weideperiode is de melk na te zijn gekoeld naar den winkel gebracht en daar in een open bus of teil verder geplaatst in koud water, bedekt met een doekje. — In de stalperiode heeft de koeling te wenschen overgelaten, en is de naspoeling van het vaatwerk met chloorbleekloogoplossing wel eens achterwege gebleven (o.a. op 3 November).

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II (I negat.) IV	0 0	IV IV	II II	III III	II I	I II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	236.550	15.225	877.800	4.025	24.325	12.425	5.755
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 3 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 50 min. < 1.40 min.	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L. (D. B.)	L! ((C.))	(L.) D! B!	geen afw.	L! D.	geen afw.	geen afw.

Naspoeling met koude chloorbleekloogoplossing.

Vanaf 7 Oct. tot het einde van het onderzoek heete chloorbleekloognaspoeling.

GROEP A Bedrijfsvoering.

Ondergroep III Eerste weken vrij slordig, later matig tot vrij goed (na 2 September). Speciaal Bedrijf no. 12 wijze van winning en toestand en kwaliteit van het melkgereedschap lieten aanvankelijk te wenschen over. — Later was er niet anders dan naadloos vertind melkgerei, dat nooit anders dan gewoon gereinigd is met heete sodaoplossing en

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	morgen ¹² / ₈	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁶ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I I	IV IV	IV IV	II (I negat.) I	III II	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	11.725	15.400 spread.	960.450	406.000 spread.	14.000	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na . . .	> 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 2 uur < 2 ¹ / ₂ uur	> 2 ³ / ₄ < 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie . . .	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie . .	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek	((C.))	C!	B.	geen afw.	geen afw.	

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I I	II (zwak) I (zwak)	0 0	0 0	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	7.175	19.775	62.700	21.875	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na . . .	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie . . .	dun vloeibaar	dun vloeibaar	coag. dr. pr. pept! g. b!	tot. gel. m. coag. (pept.)
	wei- en gasvorm. peptonificatie . .	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	
Sedimentonderzoek	geen afw.	((C.))	L. ((D.))	L. ((D.))	

Bijzonderheden

Vanaf 31 October zijn de koeien opgesteld. — Stal-
inrichting primitief.

koud leidingwater-naspoeling (na 31 October heetwater-naspoeling). — Op dit bedrijf wordt alle melk zoo spoedig mogelijk na het melken in overvloedig leidingwater gekoeld. De melk die niet wordt uitgevent blijft in den koelbak staan. — De monsters van 19 en 26 Aug. en van 9 Sept. zijn straatmonsters.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	18 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	droog 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹⁸ / ₁₀	morgen ²¹ / ₉	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I 0	II II	III III (zwak)	I 0	0 0	0 0	0 I
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	38.500	2.450	10.325	17.325	7.350 > 2 uur niet later opgenomen	4.200	13.825
Reductase- gistingproef	ontkleurd na . . .	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie . . .	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	grootendeels dun vloeibaar	gedeeltelijke coagulatie
	wei- en gasvorm. peptonificatie . .	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
Reactie van Storch . . .	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	geen afw.	geen afw.	(L. D.)	geen afw.	geen afw.	(L.)	L!

GROEP A Bedrijfsvoering matig — kwaliteit van het melkgerei en koeling zijn niet geheel voldoende. — Bussen zijn vrij oud. De emmers ook; deze zijn van gegalvaniseerd plaatijzer en hebben vrij veel aanslag van z.g.n. melksteen. De reiniging geschiedt met heete sodaoplossing, waarna spoeling met koud leidingwater. — Koeling vindt

Datum van onderzoek . . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	morgen ¹² / ₈	morgen ¹⁸ / ₈	morgen ²⁰ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II II	III III	II IV (zwak)	III II	II II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	77.000	923.400 spread.	1.627.350	395.500	3.500
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 ¹⁵ uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 2 uur < 2 ¹ / ₂ uur	> 2 ³ / ₄ uur < 5 uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur			
Reactie van Storch	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	C.	L. C!! B!!	L. B!!	C. B.	L!! (D.k.s.B.)

Datum van onderzoek . . .	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁶ / ₁₂	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III I	II I	II (I negat.) 0	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	230.850	93.800	5.600	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag. (weiv.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g. b.)	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur		
Reactie van Storch	+	+	+	
Sedimentonderzoek	(B.)	((D.))	L. (((C.)))	

Bijzonderheden

De dieren hebben vanaf 1 Nov. op stal gestaan.

in dit bedrijf niet plaats, dan hoogstens in een kleinen teil met leidingwater in open emmers en dan nog doorgaans alleen de avondmelk. Het melklokaal is vrij warm binnenshuis gelegen en de ventilatie ervan is maar matig. In de stalperiode is het door de slechte stalrichting zeer moeilijk het vee schoon te houden, hoewel men hiervoor zijn best doet.

Datum van onderzoek . . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹³ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III III	II III	II III	III IV	III II	III IV	II II (zwak)
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	3.500	133.000	73.500	360.500	47.950	156.750	48.475
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	begint na 3 ²⁰ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur					
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!! ((D.))	L! D.k.s. lact.	L. D. B.	D. B.	D.	L. B.	L!! sldr. B.

GROEP A Bedrijfsvoering onvoldoende.

Ondergroep III Reiniging en kwaliteit van het melkgerie zijn slecht. Laat o.a. de melkemers wel eens in het land liggen. De winning geschiedt vrij slordig. Een behoorlijke melkbewaarplaats is niet aanwezig, wel een soort vliegenkast met grooten koelbak op de achterplaats, waar 't tamelijk schoon is. De koeling geschiedt onregelmatig.

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	morgen ¹² / ₈	morgen ¹⁹ / ₈	morgen ²⁶ / ₈	morgen ² / ₉	morgen ⁹ / ₉
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III IV	IV IV	IV IV	IV (zwak) III	III II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	196.450	79.800 spread	718.200	252.000 spread.	10.500
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 5 ¹ / ₄ uur	na 5 ¹ / ₄ uur bijna	> 3 uur < 5 uur	> 5 uur > 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
	Reactie van Storch	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!! D. k.str.	L! sldr.	L! sldr. k.s.	L!! D. k.str.	L!!

Bizonderheden

Heeft in dit tijdvak melk afgeleverd van een kennelijk uierzieke koe. Is eerst gewaarschuwd, waarna inspectie plaats vond op 4 Sept.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	18 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog 0° C.
Soort der melk	morgen ³ / ₁₁	morgen ¹¹ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₁	morgen ¹⁸ / ₁₂
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV (zwak) II	IV IV	IV IV	III II
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	99.500	79.275	396.150	21.175
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur > 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	coag! dr. pr. pept! g. b.!	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv. g. b.)
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
	Reactie van Storch	+	+	+
Sedimentonderzoek	D. tetrac L!! pl. staafjes	L!! ((D.k.s.))	L! (D. k.s.)	L! ((C.))

Bizonderheden

1 November zijn de koeien opgesteld. — De stal is gelegen in een oude stoffige schuur; de melk wordt in deze schuur provisorisch gezeefd, en na het melken mee naar huis genomen.

soms goed, soms onvoldoende. — In de stalperiode geschiedt de reiniging van de (gegalvaniseerde) melkemers op den stal met heet zeepwater en koude pompwateraspoeeling. Zij blijven daar op een vrij vies rekje op een dito vuil plaatsje in de buitenlucht staan. De bussen worden thuis (op ± 1/2 uur afstand) gereinigd, met heete sodaoplossing en koude waspoeling met leidingwater. Meermalen zijn waarschuwingen voor vuile bussen e.d. gegeven, of werd een procesverbaal in uitzicht gesteld.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	18 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	droog 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	morgen ¹⁶ / ₉	morgen ²³ / ₉	morgen ³⁰ / ₉	morgen ⁷ / ₁₀	morgen ¹⁸ / ₁₀	morgen ²¹ / ₁₀	morgen ²⁸ / ₁₀
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV	III IV	0 IV	IV IV	IV IV	III IV	IV III (IV niet gedaan)
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	108.500	364.000	89.250	253.750	105.875	90.300	350.550
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 3 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur > 5 ¹ / ₄ uur	> 2 uur / niet langer opge- nomen	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur	na 20 uur
	Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+
Sedimentonderzoek	L!! D.k.s.lact.	L!! D. k. str. lact.	L!! ((D.)) k. str.	L. sldr. (D.) k. str. lact.	L. D. Schim- melsporen	L!! sldr. (D. k.s.)	L! (D.)

Typisch is, dat kort na 4 Sept. de toestand iets beter was, maar al zéér spoedig weer minder werd.

GROEP B Bedrijfsvoering zeer goed ingericht en zeer goed beheerd melkinrichtingbedrijf.
 Bedrijf No. 15 Alle monsters zijn genomen op het moment dat aan de no.'s 16, 17 en 18 deze melk werd verstrekt. Bij genoemde no.'s werd deze zelfde melk dan in den loop

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	hebben géén invloed kunnen hebben. De monsters der op 6½° C.				
Soort der melk	gepasteuris.	id.	id.	id.	id.
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0	0	0	0	0
Kiemgetal/cm³ v. kleine plaat	40	80	160	< 10	< 10
Reductase-gistingproef { ontkleurd na . . . coagulatie . . . wei- en gasvorm. peptonificatie . . . na 20 uur	> 5¼ uur	> 5¼ uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5½ uur
	tot. gel. m. coag.	coag! weiv! pept. (g.b.)	tot. gel. m. coag.	coag! dr. pr! pept! g. b!	tot. gel. m. coag.
	0	0	0	0	0
Reactie van Storch	geen afw.	geen afw.	geen afw.	geen afw.	geen afw.

Bijzonderheden

In het monster van 13 October, getrokken bij nos. 16 en 17 was vóór ontdekt werd, dat nog geen colireeks van de onbebroede

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .				
Soort der melk	gepasteuris.	id.	id.	id.
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0	0	0	0
Kiemgetal/cm³ v. kleine plaat	< 10	< 10	30	< 10
Reductase-gistingproef { ontkleurd na . . . coagulatie . . . wei- en gasvorm. peptonificatie . . . na 20 uur	> 6¼ uur	> 6¼ uur	> 5¼ uur	> 5½ uur
	tot. gel. m. coag. (pept.)	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag. ((weiv.))	grootendeels dun vloeibaar
	0	0	0	0
Reactie van Storch	preparaat stuk gevallen	L!! ((D.k.s.))	L!! ((D. k.s.))	L.(((D.C.)))

van den voormiddag nog eens bemonsterd. — De melk wordt aan de inrichting hoog gepasteuriseerd en bewaard bij ± 6½° C. in een of meer gesloten geëmailleerde tanks.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	bewaarde tankmelk, zijn direct nadat ze getrokken zijn op ijs gelegd.						
Soort der melk	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0	0	I (zeer zwak)	0	I	0	0
Kiemgetal/cm³ v. kleine plaat	10	< 10	10	60	50	< 10	< 10
Reductase-gistingproef { ontkleurd na . . . coagulatie . . . wei- en gasvorm. peptonificatie . . . na 20 uur	> 5½ uur	> 5½ uur	> 5 uur	> 5¼ uur	> 5½ uur	> 5½ uur	> 5 uur
	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag. (g.b.)	coag! dr. pr! pept! g. b!	dun vloeibaar	tot. gel. m. coag.
	0	0	0	0	0	0	0
Reactie van Storch	geen afw.	L! ((l. str.))	(L.)	geen afw.	L. ((l.s.))	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))

in 1 cm³ géén coli aan te toonen. Dat van no. 15 heeft echter eenige uren open in het laboratorium gestaan melk was ingezet.

GROEP B

Bedrijf no. 15

(Vervolg)

Overzicht van het coli-onderzoek in grotere hoeveelheden na ophooping, volgens Pien et Bachimont

Datum van onderzoek	26 Aug.			2 Sept.			9 Sept.			16 Sept.			23 Sept.			30 Sept.			7 Oct.			13 Oct.		
Zuurgraad vóór bebroeden	niet bepaald			6.4° S.H.			6.4°			6.4°			6.4°			6.6°			6.7°			7.0°		
„ na 8 uur „ bij 37° C.	„ „			7.0° S.H.			6.2°			6.4°			6.4°			6.4°			7.0°			7.4°		
Gebruikte Voedingsbodems	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.
1 cm ³ onbebroed	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	dub./0	0	niet gedaan	0	0	0	0	0	0	+	+	+
1 cm ³ uit 10 cm ³ bebroed	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	+	0
1 cm ³ „ 20 „ „	+	+	0	0	0	0	niet gedaan			+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(+)	0	0
1 cm ³ „ 50 „ „	niet gedaan			0	0	0	niet gedaan			+	+	+	0	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0
1 cm ³ „ 100 „ „	„ „			niet gedaan			niet gedaan			+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0
1 cm ³ „ 750 „ „	„ „			„ „			+ + +			+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)

Datum van onderzoek	21 Oct.			28 Oct.			3 Nov.			11 Nov.			18 Nov.			16 Dec.			Opmerking					
Zuurgraad vóór bebroeden	7.2° S.H.			7.3°			6.3°			7.0°			7.4°			7.6°			Uit de zwak positieve „Peptonwater“ van 30 Sept. en 7 Oct. en de + Chalmers van 16 December is géén coli gekweekt kunnen worden.					
„ na 8 uur „ bij 37° C.	6.8° S.H.			7.4°			6.9°			7.4°			7.6°			7.6°								
Gebruikte Voedingsbodems	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.	Ch.	Tr.	P.			
1 cm ³ onbebroed	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 cm ³ uit 10 cm ³ bebroed	0	0	0	0	0	nietged.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
1 cm ³ „ 20 „ „	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	niet gedaan			0	0	0	0	0	
1 cm ³ „ 50 „ „	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 cm ³ „ 100 „ „	0	+	+	0	0	nietged.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 cm ³ „ 750 „ „	0	+	+	0	+	„	0	0	0	0	0	0	niet gedaan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	niet gedaan

In de rubriek Voedingsbodems is: Ch. = Chalmers lactose-bouillon.
 Tr. = Trypaflavine lactose-bouillon.
 P. = Peptonwater volgens Lerner.
 0 = reactie is nog negatief na 2 dagen.
 + = in Ch. en Tr. zijn geelkleuring en gasvorming, resp. gasvorming te zien, in Peptonwater is indol aan te toonen.
 (+) = de reacties zijn positief maar zwak.

GROEP B Bedrijfsvoering zeer goed.

Bedrijf no. 16 Is een eigen venter van bedrijf no. 15. — Bemonsterd op dezelfde data als dit bedrijf zelf. — De genomen monsters zijn alle straatmonsters. — Op 13 October

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	zelfde melk als no. 15, nadat de venter er eenige uren mee op straat				
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III IV (I, II en III negat.)	II III	I I	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	4.375	6.300 spread.	15.400	7.000	1.400
Reductase- gistingproef	na 20 uur				
{ ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
{ coagulatie	tot. pept!	coag!	tot. gel. m.	coag!	tot. gel. m.
{ wei- en gasvorm.	g. b.!	pept!	coag.	pept! dr. pr!	coag.
{ peptonificatie	dr. pr.	(g. b.)	(g. b.)	g. b!	(g. b.)
Reactie van Storch	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	L. (str. (lact.?)	geen afw.	(L.)	(L.)	(L.)
<i>Bijzonderheden</i>	In dit tijdvak zijn bussen enz. niet ge-steriliseerd in stoom.				

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	16 Dec.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog minus 5° C.
Soort der melk			
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	60	< 10	20
Reductase- gistingproef	na 20 uur		
{ ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
{ coagulatie	coag!!	coag!	coag!
{ wei- en gasvorm.	pept!!	pept!	pept!
{ peptonificatie			
Reactie van Storch	0	0	0
Sedimentonderzoek	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k. str.))	L.(((C.D.)))

is een monster van een anderen venter van dezelfde fabriek getrokken. Vanaf 2 Sept. zijn van alle venters de bussen en de maten enz. na de gewone, zéér serieuze reiniging, telkens grondig in stoom gesteriliseerd.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	had gelopen, en van zijn voorraad verkocht.						
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	875	700	10	60	340	< 10	80
Reductase- gistingproef	na 20 uur						
{ ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
{ coagulatie	tot. gel. m.	coag!	tot. gel. m.	tot. gel. m.	coag!	tot. gel. m.	coag!!
{ wei- en gasvorm.	coag.	pept!	coag.	coag.	pept!	coag.	pept!!
{ peptonificatie				((weiv.g.b.))		((g. b.))	
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	(L.)	L. (str.)	(L.)	geen afw.	L. (str.)	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))

De uitkomsten van het onderzoek geven dus aan het kiemgehalte enz. van de melk, zooals ook de klant ze ontvangt.

GROEP B Bedrijfsvoering goed.

Bedrijf no. 17 Slijter die de melk koopt bij inrichting no. 15 — uitsluitend op straat uitvent en thuis alleen zijn melkgerie bewaart, nadat hij het zeer grondig met sodawater heeft geboend en met heet water nagespoeld en soms even gestoomd op de fabriek

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.
Soort der melk	zelfde melk als no. 15, nadat er enkele uren op straat mee gevent is				
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 I	IV IV	I IV (III negat.)	I 0	III II
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	3.325	273.600 spread.	5.250	3.850	3.150
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur > 5 ¹ / ₄ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	coag!	tot. gel. m. coag.	coag! dr. pr!	coag! dr. pr!
	wei- en gasvorm. peptonificatie	pept!! g. b!!		pept! g. b.!!	pept! g. b.!
na 20 uur					
Reactie van Storch	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	L. (str. lact.?)	L! B.	(L.)	(L.)	(L.)

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog minus 5° C.	
Soort der melk				
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II II	II II	II II	
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	3.675	20	2.800	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 6 ¹ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	coag!	coag! dr. pr!	coag! dr. pr!
	wei- en gasvorm. peptonificatie	pept!! (g. b.)	pept! g. b.!	pept! g. b.
na 20 uur				
Reactie van Storch	0	0	0	
Sedimentonderzoek	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))	L.(((C.D.)))	

Het betreft hier dus uitsluitend straatmonsters. — Op 19 Augustus is door een abuis een monster genomen van een slijter die precies dezelfde melk had ontvangen en overigens ook in dezelfde omstandigheden verkeert — alleen nogal slordig is op zijn bussen enz.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk							
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I III (II negat.)	I 0	I 0	II I	0 0	II II	II (III en II (IV niet (gedaan) 2.625
Kiemgetal/cm ³ v.kleine plaat	3.500	3.850	220	820	< 10	450	2.625
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie	coag! dr. pr!	coag! dr. pr!	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	coag!! (weiv.)	coag!! dr. pr!
	wei- en gasvorm. peptonificatie	pept! g. b.!	pept! g. b.!	((weiv.))	((weiv. g.b.))	g. b.	pept! g. b.!
na 20 uur							
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	(L.)	L. (((D.)))	L. (((B.)))	L.	L. (str.)	L. (((D. k.s.)))	L. ((D. k.s.))

GROEP B Bedrijfsvoering matig tot vrij goed.

Bedrijf no. 18 Slijtersorganisatie die in een grooten tankwagen de melk bij bedrijf no. 15 haalt des v.m. tusschen 6.30 en 9.—. Deze melk gaat naar de lokaliteit dezer organisatie, waar ze hetzij wordt opgeslagen in open tanks, hetzij onmiddellijk wordt afgegeven aan de individueele leden, die de melk in den loop van den voormiddag uitventen. — De leden zelf zorgen voor het reinigen van hun bussen, de directie der

Datum van onderzoek . . .	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	16 Sept.	23 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	zonnig 18° C.	zonnig 14½° C.	
Soort der melk	zelfde melk als no. 15, nadat er enkele uren op straat mee gevent is.					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV	IV IV	III III	II III	III III	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	900.600	150.500	10.500	96.250	31.500	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 2½ uur	> 5 uur	> 5½ uur	begint na 5½ uur	> 5½ uur
	coagulatie	tot. gel. m.	coag! dr. pr!	tot. gel. m.	coag! dr. pr!	tot. gel. m.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	coag. (weiv.) g. b.!	pept! g. b.!	coag. (weiv.) (g. b.)	pept! g. b.!	m. coag. ((g. b.))
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	
Sedimentonderzoek	(L.) B.!	(L.) B.	(L.)	(L.)	L. C.	

Datum van onderzoek . . .	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk			
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II (zwak) III	0 0	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	33.950	6.650	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 5¼ uur	> 5½ uur
	coagulatie	coag!! dr. pr!	coag!!
	wei- en gasvorm. peptonificatie	pept! g. b.	pept! (g. b.)
Reactie van Storch	0	0	
Sedimentonderzoek	L. B.	L! ((D.))	

organisatie voor die van den tankwagen enz. Tevens houdt zij toezicht op een aantal eigen venters der organisatie, die ook deze zelfde melk in consumptie brengen en hun melkgerei aan deze inrichting reinigen en bewaren. — De reiniging van vaatwerk enz. laat nog al eens te wenschen over. — De monsters zijn alle straatmonsters, bijna steeds genomen van één en denzelfden venter (vanaf 26 Aug.).

Datum van onderzoek . . .	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.	3 Nov.	11 Nov.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.	droog 6° C.	droog 8° C.
Soort der melk	zelfde melk als no. 15, nadat er enkele uren op straat mee gevent is.						
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II II	0 I en III (II negat.)	III III	II II	II (IV niet III (gedaan	0 I (zwak)	0 II (I zwak)
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	22.400	13.125	57.925	5.950	15.050	12.775	16.450
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 uur	> 5¼ uur	> 5½ uur	> 5½ uur	> 5 uur	> 6¼ uur
	coagulatie	coag! dr. pr!	tot. gel. m.	coag!!	coag!! dr. pr!!	coag!!	coag!! dr. pr!!
	wei- en gasvorm. peptonificatie	pept! g. b.!	coag. (weiv.) (g. b.)	dr. pr!! pept! g. b.!!	pept! g. b.!!	pept! (g. b.)	pept! g. b.!
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	L. ((B.))	L. (D.)	L. D. k.s.	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))	L. ((D. k.s.))

GROEP B Bedrijfsvoering matig tot vrij goed.

Bedrijf no. 19 Dit bedrijf verhandelt hoog gepasteuriseerde melk van de Zuivelfabriek te Z. Deze melk wordt te Z. des avonds aangevoerd van bepaalde bedrijven, die blijkens de kwaliteitscontrole meest vrij goed zijn, en waar weinig reactievee is. Ze wordt via een Deenschen pasteur (85 à 90° C.), na voorafgaande centrifugale reiniging en voorwarming, over een open koeler en door een lang buizenet geleid naar een open

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	gepasteuriseerde melk v. d. fabriek te Z., bereid 's avonds te voren					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III IV	III III	IV IV	III II	IV IV	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	25.425	7.000 spread.	2.907.000	9.450	24.500	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	begint na 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 uur	> 2 uur < 2 ¹ / ₂ uur	> 5 uur	begint na 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	dr. pr! pept!!	coag! pept	tot. gel. m. coag. (weiv. g. b.)	coag! dr. pr! pept! g. b.!	coag! (weiv.) g. b.
	wei- en gasvorm. peptonificatie	g. b.!!	(g. b.)	(g. b.)	(g. b.)	(g. b.)
na 20 uur						
Reactie van Storch	0	0	(+)	0	0	
Sedimentonderzoek	C!	L.	L. B.	geen afw.	(L.) ((B.))	

Bizonderheden Alle monsters zijn straatmonsters, doorgaans van denzelfden venter genomen.

Datum van onderzoek . .	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk			
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I (zwak) II	I (zwak) 0	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	26.425	8.925	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie	coag! pept!	coag! pept!
	wei- en gasvorm. peptonificatie		
na 20 uur			
Reactie van Storch	0	0	
Sedimentonderzoek	L! (D. C.)	L.(((C.D.)))	

tank, waar ze een half uur in blijft, en dan in bussen per auto naar Arnhem wordt getransporteerd (afstand ± 30 K.M.). Leidingen e.d. worden betrekkelijk weinig losgekoppeld, de plaats van de tank is zóó, dat herinfectie niet steeds te voorkomen is. De transportbussen zijn niet van prima kwaliteit. In Arnhem komt de melk in een keurige koelcel bij ± 3° C. te staan tot 's anderen daags, en wordt dan uitgevent. De ventersbussen enz. worden gereinigd met heete sodaoplossing en koudwater-naspoeling (leidingwater). Deze reiniging is niet altijd even precies.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	7 Oct.	18 Oct.	21 Oct.	28 Oct.	11 Nov.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 15° C.	droog 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.	droog 8° C.	
Soort der melk	gepasteuriseerde melk v. d. fabriek te Z., bereid 's avonds te voren							
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II I, II en IV (III negat.)	IV IV	II III	III IV	IV IV	III IV	I II	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	63.175	280.000	54.950	92.750	27.300	18.550	13.300	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	begint na 5 ¹ / ₂ uur	> 3 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 2 uur (niet langer opgenomen)	> 5 ¹ / ₂ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	
	coagulatie	coag! (g. b.) (weiv.)	coag! pept! dr. pr! g. b.!	tot. gel. m. coag. (weiv.) g. b.	tot. gel. m. coag. (weiv.) g. b.	tot. gel. m. coag. (weiv.) g. b.	coag! dr. pr! pept! g. b.!	coag! dr. pr! pept! g. b.!
	wei- en gasvorm. peptonificatie							
na 20 uur								
Reactie van Storch	0	0	0	(+)	0	0	(+)	
Sedimentonderzoek	L. ((B.))	L. B.	L. (B. D.)	L. B. D.	L. (D.)	L! (C.)	L! ((C.))	

GROEP B Bedrijfsvoering matig.

Bedrijf no. 20 Door dit bedrijf wordt verhandeld melk van de zuivelfabriek te L. die laag gepasteuriseerd wordt volgens het Dauersysteem en daarna bewaard bij 5 à 6° C. tot den anderen morgen om ongeveer 6 uur. Ze wordt dan door den eigenaar van dit bedrijf afgehaald in bussen van dubieuze kwaliteit en, te Arnhem aangekomen,

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	gepasteuriseerde melk van de fabriek te L.					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV III	IV IV	III IV	II III	IV III	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	95.450	72.800	430.350	105.700 spread.	49.000	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₄ uur	> 3 uur < 5 uur	> 2 ³ / ₄ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	coag! weiv!	coag! pept!	coag! pept!	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)
Reactie van Storch	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
Sedimentonderzoek	C!!	L. B.	L. B.	geen afw.	(L.) ((B.))	

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	II IV (zwak)	II (zwak) I	II I	0 0	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	245.100	27.825	13.125	5.075	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 4 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	coag! weiv. pept.	coag! dr. pr! pept! g. b.!	coag!! pept!! (g .b.)	tot. gel. m. coag. pept.
Reactie van Storch	0	0	(+)	(+)	
Sedimentonderzoek	L. (B.)	L. ((D.B.))	L.	L. ((C.))	

vangt direct de distributie aan. De melk die in den winkel voorradig blijft, staat niet in koelwater maar gewoon in een of meer onbedekte bussen in den, overigens zindelijken, winkel. — De reiniging der bussen geschiedt met heete soda-oplossing. Nagespoeld wordt met koud leidingwater. De monsters zijn vrijwel alle winkelmonsters. Meermalen is bij monsternamen door den keurmeester een waarschuwing voor vuile bussen gegeven.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ ° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk	gepasteuriseerde melk van de fabriek te L.						
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	III III	III IV	IV IV	IV IV	III IV	II III	II III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	25.550	52.675	182.400	1.875.300	213.750	39.025	93.775
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 3 ¹ / ₂ uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 3 uur < 5 uur	> 2 uur < 2 ¹ / ₂ uur	> 1 uur < 2 uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)	tot. gel. m. coag. (g.b. en weiv.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)	tot. gel. m. coag. (weiv. g.b.)
Reactie van Storch	(+)	(+)	0	(+)	0	0	+
Sedimentonderzoek	L. ((D. k.s.))	geen afw.	L. B.	D. k.s. B.	L. D.	L. (D.)	L! C.

GROEP B Bedrijfsvoering matig tot onvoldoende.

Bedrijf no. 21 Verhandelt hooggepasteuriseerde melk die óf in het eigen bedrijfje te D. of in een soortgelijk te Z. wordt vervaardigd. Beide bedrijfjes zijn nogal primitief ingericht. — De aangevoerde melk is in doorsnee van zeer middelmatige kwaliteit. — De koeling geschiedt in den regel behoorlijk met Norton- of leidingwater. — Toestand

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	
Soort der melk	gepasteuriseerde melk.					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV	IV IV	II IV	IV IV	IV III	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	255.500	4.500.000	3.351.600 spread.	20.121.000	24.500	
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 5 ¹ / ₄ uur	< 1,35 uur	> 1 uur < 2 uur	> 1 ¹ / ₂ uur < 2 uur	> 3 uur < 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur coag! dr. pr! pept! g. b.!	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (weiv.) g. b.	tot. gel. m. coag. (weiv.) g. b.!
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	
Sedimentonderzoek	L! C!!!	B!! C!!!	L. B!	B!! C!	L! B.	

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk					
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I II	I I	I II	II III (zwak II niet)	
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	106.225	65.100	133.000	54.425	
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	> 5 ¹ / ₂ uur < 6 ³ / ₄ uur	> 6 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 5 ¹ / ₂ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur dr. pr! pept! g. b.!	tot. gel. m. coag! g.b. (pept.)	coag! dr. pr! pept! g. b.!	tot. gel. m. coag. ((weiv.g.b.))
Reactie van Storch	0	0	0	(+)	
Sedimentonderzoek	L. (D. B.)	L. (D. k.s.)	(L.)	L. (C. D.)	

en reiniging van bussen en fabrieksoutilleering laat nogal eens te wenschen over. — De melk wordt 's morgens al vroeg naar Arnhem gebracht en vanuit een depot aldaar gedistribueerd. — De monsters zijn bijna steeds gehaald aan dit depot en genomen van de voor den verkoop gereedgehouden melk, die zich bijna steeds in den koelbak bevond.

Datum van onderzoek . .	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	18 Oct.	21 Oct.	28 Oct.
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	zonnig 18° C.	zonnig 14 ¹ / ₂ C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	droog 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.
Soort der melk							
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	I, II en IV (III negat.) IV	IV	IV	I II	II IV	IV IV	III III
Kiemgetal/cm ³ v. kleine plaat	11.770.500	6.270.000	9.291.000	45.500	2.422.500	139.650	116.725
Reductase-gistingproef	ontkleurd na	< 1 uur	> 1,40 uur < 2,30 uur	> 5 ¹ / ₄ uur	> 2 uur (niet later opge- nomen)	> 5 uur < 5 ¹ / ₂ uur	> 5 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	na 20 uur tot. gel. m. coag. ((weiv. g.b.))	tot. gel. m. coag. ((weiv. g.b.))	tot. gel. m. coag. ((weiv. g.b.))	tot. gel. m. coag. weiv. g. b.	tot. gel. m. coag. (weiv. g. b.)	coag! dr. pr! pept! g. b.!
Reactie van Storch	0	0	0	0	0	0	0
Sedimentonderzoek	L! D!! B!!	B!! C!!	L. B!!	L.	L. D!!	L. D. B.	L! C.

GROEP B Bedrijfsvoering zeer matig.

Bedrijf no. 22 Slijtersbedrijf van behoorlijken omvang, dat als regel verhandelt rauwe melk van in den omtrek van Arnhem wonende boeren. De winning enz. op deze boerderijen is ten deele matig, ten deele onvoldoende. De melk wordt 's morgens en 's avonds per vrachtauto gebracht, behalve 's winters. Zij wordt direct na ontvangst uitgevent. Een gedeelte blijft thuis, soms in den koelbak, maar meestal in een open

Datum van onderzoek . .	12 Aug.	19 Aug.	26 Aug.	2 Sept.	9 Sept.	16 Sept.	23 Sept.	30 Sept.	7 Oct.	13 Oct.	21 Oct.	28 Oct.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 17° C.	zonnig 22° C.	zonnig 24° C.	droog 18° C.	zonnig 20° C.	zonnig 18° C.	zonnig 14½° C.	zonnig 19° C.	zonnig 15° C.	zonnig 12° C.	zonnig 14° C.	zonnig 10° C.	
Soort der melk	rauw	rauw avond 18/s	rauw morgen 26/s	?	rauw morgen 9/9	rauw morgen 16/9	rauw avond 22/9	rauw avond 30/9	gepast. d.d. 6/10	gepast. I, II en IV (III negat.) III	morgen 21/10	gepast. d.d. 27/10	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	IV IV	IV IV	III III	IV IV	I 0	III II	IV III	IV IV	IV IV	IV IV	II IV (zwak)	IV IV	
Kiemgetal/cm³ v. kleine plaat	1.672.950	12.312.000	202.350	553.000	343.000	54.250	113.750	759.300	8.436.000	82.775	34.825	749.550	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 1 uur < 2 uur	< 45 min.	begint na 5 uur	> 2¾ uur < 5 uur	> 3 uur < 5½ uur	> 3½ uur < 5½ uur	> 3 uur < 5½ uur	> 3 uur < 5 uur	20 minuten	> 3 uur < 5½ uur	> 5½ uur	3 uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	coag! weiv! (g. b.)	coag! pept! (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g. b.)	tot. gel. m. coag.	coag! weiv! g. b.!	coag! weiv! g. b.!	tot. gel. m. coag.	tot. gel. m. coag. (g. b.)
Reactie van Storch	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	0	+	0	
Sedimentonderzoek	C!!!	C!!!	L. B!	L! B!	(L.) B!	L!! sldr. B.D.	L. C!	B!!	C!!!	L. C! B.	L. ((C.))	L! C! B!	

bus in den winkel. Toestand en onderhoud van bussen enz. laat vrij veel te wenschen over. Het melklokaal is groot, met goede ventilatie en behoorlijken koelbak, maar nog al rommelig. — De melk die 's avonds wordt ontvangen, wordt niet allemaal uitgevent, maar een gedeelte blijft overstaan tot den volgenden dag. Indien er te weinig rauwe melk disponibel is, wordt gepasteuriseerde melk van vrij dubieuze herkomst bijgekocht. Alle monsters zijn z.g.n. winkelmonsters.

Datum van onderzoek . .	3 Nov.	11 Nov.	18 Nov.	16 Dec.	
Weersomstandigheden en temperatuur overdag . .	droog 6° C.	droog 8° C.	droog ? koud	droog minus 5° C.	
Soort der melk	gepast. d.d. 2/11	rauw morgen 11/11	rauw morgen 17/11	rauw morgen 16/12	
Colititer na 2 (Chalmers dagen volgens (Klimmer	0 IV	IV (zwak) I en III negat. II	I, II en IV (III negat.) II	I I en III (II negat.)	
Kiemgetal/cm³ v. kleine plaat	604.200	33.950	1.006.050	142.450	
Reductase- gistingproef	ontkleurd na	> 2 uur < 4½ uur	> 6¼ uur	> 2 uur < 5¼ uur	> 5½ uur
	coagulatie wei- en gasvorm. peptonificatie	coag! dr. pr! pept! g. b.!!	coag! dr. pr! pept! g. b.!	coag! dr. pr! pept! g. b.!	coag! pept! (g. b.)
Reactie van Storch	(+)	+	+	+	
Sedimentonderzoek	B!! D!!	L!! ((C. B.))	L! C!! k.s.!!	L! sldr. (D.) C!	

Bespreking van de resultaten van het onderzoek, bij de verschillende bedrijven verkregen

A. De groep veehoudersbedrijven

Ondergroep I

Hierbij werd van meet af aan in de onderzochte melk slechts sporadisch een colititer III en een totaalkiemcijfer grooter dan 50.000/cc gevonden; meestal waren de cijfers belangrijk lager dan deze getallen. Een colititer IV en/of een kiemcijfer > 100.000 werd alleen aangetroffen in zéér speciale gevallen. Naspoeling van het vaatwerk met koude of heete chloorbleekloogoplossing gaf geen merkbaar beter resultaat met betrekking tot den colititer of het totaalkiemcijfer.

Men vergelijke daartoe de op deze bedrijven verkregen resultaten vóór en nà 16 September.

No. 1. Bedrijf B. — één der fabrieksleveranciers — wat de bedrijfsvoering aangaat een matig tot tamelijk goed consumptiemelk-bedrijf, waar vaatwerkreiniging en koeling vrij zorgvuldig, melkwinning en verpleging van het vee daarentegen vrij slordig geschieden. In de warme melk werd, behoudens op 21 Oct. en 3 Nov., nooit een colititer III gevonden; beide keeren was het kiemcijfer zeer gering (< 10.000). Colititer IV kwam niet voor.

In de avondmelk — zolang zij aan de fabriek koel bewaard werd — (dus tot 16 Sept.) — werd naast een laag totaalkiemcijfer steeds een colititer I of 0, slechts één keer II gevonden.

Na 16 September was de colititer der avondmelk (ondanks chloorbleekloognaspoeling) meermalen III (tot begin Nov.) naast een gering totaalkiemcijfer (slechts één keer, nl. op 7 Oct., was dit > 50.000 , nl. 77.000).

Na 3 Nov. daalde de colititer der avondmelk weer tot op I of II; daarentegen steeg het totaalkiemcijfer iets. In de weken vóór 3 Nov. liet de reiniging van het vaatwerk door verhuisdrukte wel eens iets te wenschen over. Een colititer IV kwam slechts tweemaal, en alleen in de avondmelk voor, beide keeren met een laag kiemcijfer. Den eersten keer betrof dit melk, die in een oude, meestal

niet meer gebruikte bus werd afgeleverd, de tweede keer viel midden in de verhuisdrukte.

Het totaalkiemcijfer der warme melk was slechts één keer > 30.000 (nl. 36.400), dat der avondmelk maar één keer > 50.000 (nl. 77.000).

No. 2. Bedrijf W. — eveneens een fabrieksleverancier; een in alle opzichten goed, doch zonder overdrijving, beheerd bedrijf.

Een colititer III kwam in de warme (ochtend) melk slechts één maal (28 Oct.), in de koude (avond) melk slechts tweemaal (30 Sept. en 13 Oct.) voor, beide keeren zonder naspeurbare oorzaak, en gepaard met een laag totaalkiemcijfer. Een colititer IV is slechts één keer gevonden, bij een zeer laag totaalkiemcijfer, n.l. op 23 Sept., toen per abuis een mengmonster der geleverde koude en warme melk is genomen.

Een kiemcijfer > 50.000 kwam alleen voor in de avondmelk van 18 Nov., toen minder goed gekoeld was. Een cijfer, dat dit getal dicht nadert — ook bij een minder goede koeling der melk, kwam voor op 28 Oct. Beide keeren was de colititer laag. Op dit bedrijf was het kiemcijfer, zelfs van de avondmelk, van den vorigen dag, doorgaans beneden 20.000.

No. 3. Bedrijf v. B. — is een veehouders-slijtersbedrijf — dat de melk steeds koewarm verhandelt. Het is een zorgvuldig beheerd, eenvoudig koemelkersbedrijf. Op de qualiteit (niet op de reiniging) der melkemers was wel eens eenige aanmerking te maken. De stal is zeer eenvoudig, en gedeeltelijk geen groepstal. Het onderhoud van het vee en het melken geschieden met de noodige zorg, evenals de reiniging van het vaatwerk. Als regel wordt op dit bedrijf niet gekoeld. Het monster van 21 Oct., dat wèl gekoeld was, vertoonde bij een colititer 0 een kiemcijfer van > 50.000 (nl. 64.225). Dit cijfer werd verder nog maar één keer overschreden, nl. op 3 Nov. (77.000 bij een colititer III). Overigens kwam een colititer III nog maar twee keer voor, telkens bij een laag totaalkiemcijfer (16 Sept. en 28 Oct.). Nòch voor dit iets verhoogde kiemcijfer, nòch voor den verhoogden colititer, was in deze gevallen een verklaring te vinden.

No. 4. Bedrijf de S.; een goed ingericht en goed beheerd bedrijf, dat de avondmelk, nadat deze zoo snel mogelijk (in den zomer ongeveer $\frac{3}{4}$ uur na afloop van het melken) over een open koeler met Nortonwaterdoorstrooming op een temperatuur van 10 à 11° C. is gebracht, in zorgvuldig gereinigde flesschen verpakt. Deze worden onmiddellijk getransporteerd naar het op $\frac{1}{2}$ uur afstand gelegen distributiestation te Arnhem, en daar bewaard, tot zij den volgenden morgen worden verkocht. De bewaring geschiedde aanvankelijk meermalen te warm en ondoelmatig. Later werden de flesschen als regel in de ijskast geplaatst.

Het kiemcijfer was slechts twee keer > 50.000 (nl. op 12 Aug. en 19 Aug.), beide keeren met een colititer 0. Dit betrof in beide gevallen onvoldoende koel bewaarde flesschen. Ook op 13 Oct. was dit het geval; ook toen was de colititer 0, terwijl het kiemcijfer bijna 50.000 was.

Slechts één keer kwam een colititer III (bij een kiemcijfer 10.850) voor, en wel in een monster, dat direct na het melken, koelen en verpakken, op ijs werd bewaard. In een monster van dezelfde partij, den volgenden morgen in het filiaal genomen, was de colititer 0 en het kiemcijfer 66.150.

Bijna steeds was de colititer $< II$, en het kiemtotaal < 25.000 .

Op grond van de bevindingen bij deze vier bedrijven mag geconcludeerd worden, dat van normale consumptiemelkbedrijven, waar de melkwinning en -behandeling zonder overdreven voorzorgen geschieden, men kan eischen, dat er geregeld, hetzij warme (ochtend) melk, hetzij op het eigen bedrijf goed gekoelde avondmelk van den vorigen dag wordt afgeleverd (voorop gesteld, dat de bemonstering bij of kort na de levering vanaf de boerderij plaats vindt), met een totaalkiemcijfer, dat óók in het warme jaargetijde beneden 50.000/cc blijft, en een colititer van niet meer, dan hoogstens een enkelen keer III. Worden deze getallen overschreden, dan is dat meestal een gevolg van hetzij niet geheel voldoende koeling (deze schijnt vooral van invloed te zijn op het totaalkiemcijfer), hetzij van een minder zorgvuldige vaatwerkreiniging (schijnlijk vooral van invloed op den colititer — zie vooral bedrijf no. 1). Bij bedrijven, waar voortdurend grondige zorg wordt besteed, zijn de cijfers meest aanzienlijk lager dan de genoemde.

Het melken en de verpleging (zie bedrijf no. 1) schijnen niet van zooveel invloed te zijn op de bacteriologische hoedanigheid der melk, indien zij nog maar eenigszins redelijk geschieden.

De ondergroep II

omvat de bedrijven, waarvan de melk aanvankelijk een hooger colititer, een hooger kiemcijfer (of beide) vertoonde, maar waarbij deze kwamen op het peil van ondergroep I, nadat het vaatwerk en/of zijn reiniging, of de wijze van winning of van koeling der melk waren verbeterd door het nemen van eenvoudige, weinig of niets kostende maatregelen.

No. 5. Bedrijf t. B. — een leverancier der fabriek — die een in alle opzichten goed ingericht en goed beheerd bedrijf heeft.

Oogenschijnlijk wordt hier aan alle onderdeelen der melkerij grondige zorg besteed. Zoo wordt, ook in den tijd dat dit bedrijf tweemaal per dag levert, en er amper tijd voor is, de melk toch nog oogenblikkelijk na het melken in overvloedig stroomend Nortonwater gekoeld, en worden in het land de staarten en achterstellen even geregeld gewasschen, als op stal.

Nochtans bleek gedurende de eerste weken van het onderzoek, (tot en met 2 Sept.) dat er ondanks dit alles melk werd afgeleverd, die naast een laag totaalkiemcijfer (zéér goede koeling op dit bedrijf) een hooger colititer (twee keer zelfs IV) vertoonde, dan op dit bedrijf verwacht mocht worden. Nadat vanaf 2 Sept. de naspoeling van het vaatwerk met kokend, i. p. v. met koud water geschiedde, daalde de colititer op I of 0. De naderhand toegepaste naspoeling met koude en heete chloorbleekloogoplossing heeft géén merkbaaren invloed op de bacterieele samenstelling der melk gehad.

Na 2 Sept. is slechts twee keer een colititer III voorgekomen, nl. in de ochtendmelk van 28 Oct. en van 16 Nov., beide keeren bij zéér lage totaalkiemcijfers. Overigens was hij I of 0, hoogstens een enkelen keer II. *Op dit bedrijf, waar steeds buitengewoon zorgvuldig gekoeld werd, is nooit een kiemcijfer boven 50.000 gevonden, en slechts één keer boven 20.000 (de avondmelk van 3 Nov. — de koeien liepen toen nog in het land, en de melk is in den stroomenden regen gewonnen).*

Op deze boerderij was blijkbaar het vaatwerk, waaraan overigens géén bizonders te zien was, en dat van voortreffelijke hoedanigheid was, met coli-achtigen besmet, en gaf ook alleen de colititer aan, dat er iets abnormaals was. Eenvoudige naspoeling met kokend water bleek voldoende te zijn, om dit euvel te verhelpen, en de melk in bacteriologisch opzicht te brengen op het peil der eerste ondergroep.

No. 6. Bedrijf H. — een eenvoudig, maar zindelijk veehoudersbedrijf, dat de versche melk twee keer daags, na koeling op 13 à 14° C. (in een teil met water) verhandelt. Op dit bedrijf wordt aan alle onderdeelen der melkerij redelijke zorg besteed. Alleen de melk-emmers waren niet van prima qualiteit. Het bedrijf heeft de beschikking over een vrij primitieven, z.g.n. Gelderschen stal, die alleen door kunstlicht voldoende verlicht kan worden. Het vee staat echter keurig onderhouden op stal.

In de periode tot en met 16 Sept. is het vaatwerk na de naspoeling, die met heet water geschiedde, met een schoonen doek nagedroogd. In dit geheele tijdvak kwam naast een voortdurend lagen colititer, doorlopend een kiemcijfer > 50.000 voor. *Na de naspoeling met chloorbleekloogoplossing verdween dit hooge kiemcijfer, en is het niet meer boven 50.000 uitgekomen.* De colititer bleef voortdurend laag. Verschil in werkzaamheid tusschen koude en heete chloorbleekloogoplossing was niet te bespeuren.

Op dit bedrijf was dus een eenvoudige naspoeling van het vaatwerk enz. met chloorbleekloogoplossing in staat, de melk bacteriologisch gelijkwaardig te maken aan die der bedrijven uit de eerste ondergroep. Merkwaardig was hier, dat wèl het totaalkiemcijfer, niet de colititer, aangaf, dat er (met het vaatwerk) iets niet in orde was, en dat het, ondanks de koeling, aanvankelijk aan den hoogen kant was.

No. 7. Bedrijf V. — een bedrijf als het voorgaande. De melk wordt tweemaal daags koewarm uitgevent. Alleen de melk die thuis blijft wordt (meestal) gekoeld in een flinken koelbak. Melken en melkbehandeling geschieden met behoorlijke zorg. De stal is ook weer een z.g.n. Geldersche stal, als de vorige, en ook primitief en donker; het vee staat er keurig verpleegd op.

Tot en met 26 Aug. werd een oude melkemma, en een oude,

tamelijk verroeste bus gebruikt. In dit tijdvak werd één keer een colititer III, en twee keer een kiemcijfer belangrijk > 50.000 gevonden. Nadat dit oude melkmateriaal door nieuw van goede kwaliteit was vervangen, kon ook dit bedrijf ruimschoots voldoen aan de voor ondergroep I gestelde normen. Slechts één keer (30 Sept.) kwam nog een colititer III voor (bij een zeer laag totaalkiemcijfer); dit laatste bleef steeds < 50.000 .

De naspoeling van het vaatwerk met koud water is na 16 Sept. vervangen door een met chloorbleekloogoplossing. Deze laatste heeft op dit bedrijf geen merkbaren invloed gehad.

No. 8. Bedrijf R. — een fabrieksleverancier. Dit bedrijf had de beschikking over — in het algemeen gesproken — goed melkmateriaal; alleen was een der melkimmers roestig. De bewaring van het melkgerie was echter minder gelukkig, nl. op een rek buitenshuis op een ruimen cementen vloer, waarop ook het hondenhok stond; de waakhond gebruikte dezen cementvloer geregeld als W.C.

De winning en behandeling der melk geschieden matig zorgvuldig, en hadden zonder moeite beter kunnen zijn. De koeling der avondmelk geschiedde tot ± 21 Oct. onvoldoende.

Het bedrijf heeft de beschikking over een zeer goeden groepstal. In het land wordt het vee niet erg best, op stal daarentegen goed verpleegd. Tot en met 16 Sept. vond de vaatwerk-reiniging op de gewone wijze plaats, en werd met koud water nagespoeld. In dit tijdvak kwam nooit een kiemcijfer > 100.000 , en slechts tweemaal > 50.000 voor. Daarentegen was de colititer dikwijls III. Na 16 Sept. werd, evenals door alle fabrieksboeren, maar één keer daags geleverd. Tevens werd na dezen datum met chloorbleekloogoplossing nagespoeld. Tot en met 13 Oct. blijkt de warme melk steeds een kiemcijfer te hebben van hoogstens ± 50.000 , daarentegen dikwijls een colititer III; de avondmelk evenwel (meestal slecht gekoeld) had nooit een lageren titer dan III, twee keer zelfs IV; het kiemcijfer lag doorgaans ver boven 100.000. In deze periode is dus van een naspoeling met chloorbleekloogoplossing (die koud geschiedde — tot ± 13 Oct.) géén duidelijk sprekend succes gezien. Na 13 Oct. geschiedde deze naspoeling heet. Tevens was vanaf 21 Oct. het systeem van koelen beter. Het totaalkiemcijfer bleef sindsdien steeds belangrijk < 50.000 , ook bij de avondmelk.

De colititer was nog vier keer III (twee keer in de ochtend, en twee keer in de avondmelk, telkens bij een laag kiemcijfer).

Dit bedrijf is er dus, door toepassing van heete chloorbleekloog-naspoeling (die hier van meer invloed scheen te zijn op het totaal-kiemcijfer dan op den colititer), samen met een betere koeling, in geslaagd, melk af te leveren, die gelijk staat met die van de bedrijven uit ondergroep I.

Twee keeren, dat de melk in den stroomenden regen was gewonnen, bleek de colititer IV te zijn (avondmelk van 1 Sept. en 12 Oct.), beide keeren met een naar verhouding hoog kiemcijfer (dit in tegenstelling met bedrijf 5 op deze data, waar de melk onder precies dezelfde omstandigheden — de weiden grenzen aan elkaar, en men melkt op denzelfden tijd — was gewonnen).

No. 9. Bedrijf L. — ook een fabrieksleverancier.

Het melken geschiedt op dit bedrijf vrij zorgvuldig. Er is een goede groepstal; de verpleging van het vee is, speciaal in de stalperiode, ruim voldoende. Het melkgerei is goed onderhouden, en verkeert in goeden toestand. Veelal wordt het na het boenen met sodawater inwendig met zilverzand geschuurd. De koeling is op dit bedrijf absoluut onvoldoende. In de stalperiode wordt dikwijls de fout begaan, de melk op den stand achter de koeien uit te zeven.

In de periode tot en met 16 Sept. — toen de naspoeling van het vaatwerk met koud water geschiedde, en de koeling der warme melk, kort na het melken, aan de fabriek plaats vond, was het kiemcijfer steeds (behalve op 2 Sept., toen de melk in den stroomenden regen gewonnen was) < 50.000 , de colititer afwisselend, hoogstens III. Na 16 Sept. is de colititer der warme melk hoogstens II geweest, het kiemcijfer — behalve op 18 Dec. (uitzeven in den stal) steeds < 50.000 . In deze periode is nagespoeld met chloorbleekloogoplossing, die hier eenigen invloed heeft gehad, speciaal op den colititer. Een sprekend verschil in werkzaamheid tusschen heete en koude chloorbleekloogoplossing is hier niet te bespeuren. In de avondmelk na 16 Sept. zijn steeds hogere, bijna steeds aanzienlijk hogere kiemcijfers dan 50.000 gevonden. Een colititer III kwam vrij dikwijls, een titer IV enkele malen voor (een keer bij een laag totaal-kiemcijfer, nl. op 21 Oct.).

De beheerder van dit bedrijf werkte, speciaal t. a. v. de koeling niet mee (hij vroeg direct „Wat verdien ik er mee?“).

Dat vooral een onvoldoende koeling oorzaak der minder bevredigende uitkomsten was, bleek bij de avondmelk van 26 Oct., die direct na het melken, dat in den stroomenden regen had plaats gevonden, goed gekoeld werd (op de fabriek in stroomend Norton-water), en waarbij 's anderen daags een colititer III en een totaalkiemcijfer < 50.000 werden gevonden.

Op 23 Sept. is per abuis een mengmonster van warme en koude melk genomen. Beide titers waren hierin hoog.

No. 10. Bedrijf W. V. — een veehoudersbedrijf, dat tweemaal daags de koewarme melk verkoopt. Het bedrijf heeft de beschikking over een voldoende koelgelegenheid; de ten verkoop voorradige melk wordt echter niet steeds gekoeld bewaard. Er is een goede groepstal. De verpleging van het vee is, ook in het land, voldoende. Het melken geschiedde aanvankelijk slordig (in den emmer, waarin het water, waarmee de uiers werden afgewasschen, werd later gemolken — de spenen werden met vaseline gesmeerd voor het gemakkelijke melken). Verder moest tot en met 30 Sept. herhaaldelijk ernstig aanmerking gemaakt worden op toestand, reinheid en bewaring van het melkgerei.

Tot en met 16 Sept. is nagespoeld met koud leidingwater. Het kiemcijfer was in dit tijdvak steeds > 50.000 , de colititer bijna steeds III of IV.

Van 16—30 Sept. is nagespoeld met koude chloorbleekloogoplossing; de mechanische vaatwerkreiniging (er zaten duidelijk zichtbare oude melkresten in de bussen) was toen echter onvoldoende, en de bussenborstels waren niet schoon en roken zuur. Deze koude chloorbleekloognaspoeling had onder deze omstandigheden hoegenaamd geen succes. Na 30 Sept. waren nieuwe naadlooze emmers aangeschaft. De reiniging van het vaatwerk was véél beter, en er werd met heete chloorbleekloogoplossing nagespoeld. Het resultaat was frappant. Het totaalkiemcijfer was sindsdien (behoudens op 28 Oct. — 63.875), beneden 50.000, en de colititer nog slechts twee keer III (13 en 28 Oct.), anders meestal 0 of I. Hier heeft dus de chloorbleekloogoplossing, heet toegepast na grondige mechanische reiniging van het vaatwerk zeer duidelijk succes gehad,

en is ook dit bedrijf er in geslaagd, blijvend goede melk af te leveren.

No. 11. Bedrijf H. V. — in den weidetijd het tweelingbedrijf van no. 10; dan geschieden alle werkzaamheden en het melken gezamenlijk. In de stalperiode staat ieder bedrijf op zich zelf. Stal en verpleging van het vee zijn ook op dit bedrijf redelijk goed, de melkwinning als bij no. 10. De melk wordt door beide bedrijven apart verhandeld. Bij no. 11 is ze altijd in den winkel voorradig in een schoonen ondergedekten emmer, die in een teil met koelwater staat. Tot en met 30 Sept. waren de resultaten als bij het vorige bedrijf. De opmerkingen dáár gemaakt, gelden óók hier. Nà 30 Sept. is ook op dit bedrijf een belangrijke vooruitgang te zien, als gevolg van betere vaatwerkbehandeling, en heete chloorbleekloognaspoeling.

De colititer was nog twee keer III (13 Oct. en 16 Dec.), anders steeds II, I of 0. Het kiemcijfer was in de stalperiode meestal hooger als 50.000, doorgaans om en bij 100.000. Een speciale oorzaak hiervoor was niet te vinden. Echter is in de stalperiode de vaatwerkreiniging aan een ander overgelaten als daarvóór, en, hoewel op de mechanische reiniging en den toestand, in tegenstelling met des zomers, géén aanmerking was te maken, is de naspoeling met heete chloorbleekloogoplossing, blijkens eigen verklaringen wel eens achterwege gebleven, en is meermalen volstaan met koudwater-naspoeling.

Het verloop van het onderzoek op deze zeven bedrijven toont aan, dat aan de eischen voor de bacteriologische samenstelling der melk, aan het eind van het vorige hoofdstuk genoemd voor goede consumptiemelkbedrijven, door toepassing van eenvoudige maatregelen redelijkerwijs kan worden voldaan op elk behoorlijk ingericht en beheerd boerenbedrijf.

De ondergroep III

Deze omvat de contrôlebedrijven, waar géén chloorbleekloogoplossing of andere bizondere maatregelen zijn toegepast, en die niet geregeld op de hoogte werden gehouden van de hoedanigheid

der bemonsterde melk, enz. Op elk dezer bedrijven heeft slechts tweemaal een grondige inspectie plaats gevonden.

No. 12. Bedrijf v. V. — een veehouders-slijtersbedrijf, dat tweemaal daags de versch van eigen vee gewonnen melk verkoopt, nadat deze grondig is gekoeld. Tot en met 26 Aug. geschiedde het melken vrij ruw, en lieten toestand en reinheid der melkimmers te wenschen over. Na 2 Sept. was dit alles verbeterd, en waren o.a. naadlooze vertinde melkimmers aangeschaft. De reiniging van het melkgerei geschiedde nooit anders dan door boenen met heete soda-oplossing, en naspoelen met heet of koud leidingwater. De koeling en bewaring waren op dit bedrijf ruim voldoende. De bewaring van het melkgerei liet een enkelen keer te wenschen over. Er is een zeer primitieve, donkere en slecht geventileerde „Geldersche” stal met een slechten zolder. Het vee wordt op stal vrij goed onderhouden, strooïing en uitmesten laten daarentegen te wenschen over. In de stalperiode wordt vóór het melken gestrooid, gemest en hooi gevoerd. Direct na het aanschaffen van nieuw melkmateriaal, gepaard gaande met zorgvuldiger melken, ziet men bij dit bedrijf, dat het kiemcijfer blijvend daalt beneden 50.000 (alleen op 18 Nov. 62.700), en dat de colititer III (telkens bij een zeer laag totaal-kiekcijfer) nog maar twee keer voorkomt (9 en 30 Sept).

Hieruit blijkt dus, dat ook zonder chloorbleekloognaspoeling van het vaatwerk e.d., mits dit laatste in goeden toestand verkeert, zeer goede resultaten kunnen worden verkregen (zie trouwens ook bedrijf no. 5), op bedrijven, die overigens aan bescheiden eischen voldoen.

No. 13. Bedrijf R. — brengt tweemaal daags de versch van eigen vee gewonnen melk in consumptie. Vaatwerk en emmers zijn niet best, de koeling evenmin, en de bewaring geschiedt op een te warme plaats. De stal is zéér primitief, erg donker, slecht geventileerd en gestrooid. Het melken geschiedt met redelijke zorg. Men doet zijn uiterste best om de koeien op stal schoon te houden.

Op dit bedrijf, dat dus geregeld iets „onder de maat” is t. a. v. de aan een consumptiemelkbedrijf te stellen eischen, zien wij, dat de versche warme melk, ook in het koude jaargetijde bijna steeds hogere kiem- en/of colicijfers vertoonde, dan de voor de bedrijven uit

ondergroep I gestelde normen. Een colititer IV en een kiemcijfer > 500.000 kwamen echter slechts zelden voor. Nu eens verried de colititer wèl, het totaalkiemcijfer niet, dat wij met een niet voldoende ingericht bedrijf te doen hadden (bijv. 16 Sept.), een anderen keer was het omgekeerde het geval (11 en 18 Nov.). In de stalperiode hadden de cijfers een dalende tendens (kouder weer — zie vooral 16 Dec. met minus 5° C.). Een enkelen keer kwamen cijfers voor, die den indruk konden wekken, dat een goed bedrijf onderzocht was (12 Aug. — 28 Oct. — 16 Dec.). Toch is bij een geregelde contrôle goed te zien, dat ondanks loffelijke pogingen, met deze onvoldoende outilleering de normen voor een bacteriologisch gesproken voldoende melk niet te bereiken zijn, en omgekeerd, dat een geregelde contrôle der melk op kiemcijfer en colititer een getrouw beeld geeft van de outilleering en/of de werkwijze van het betreffende bedrijf.

No. 14. Bedrijf de B. — verhandelt tweemaal daags de versch van eigen vee gewonnen melk. De winning, en vooral de behandeling der melk zijn zeer onvoldoende. De melkimmers zijn gedurende een belangrijk deel van den zomer in het land blijven liggen.

Voor reiniging en toestand der melkbussen moest herhaaldelijk bij de bemonstering een ernstige waarschuwing worden gegeven. Er is een tamelijk goede koelgelegenheid, die echter dikwijls niet gebruikt wordt. De melkbewaarplaats is primitief en onvoldoende. De stal is een stoffige oude schuur, waarin het vee echter redelijk schoon is opgesteld. Ook in de stalperiode deugt de reiniging en de bewaring van het vaatwerk niet.

Er blijkt, dat op dit bedrijf, dat in het geheel niet voldoet aan de aan een consumptiemelkbedrijf te stellen eischen, behoudens bijzondere omstandigheden (9 Sept. vlak na een grondige inspectie en dreigement met een procesverbaal, en 18 Dec. bij vriezend weer), het totaalkiemcijfer der versche melk steeds belangrijk > 50.000 , in meer dan de helft der gevallen > 100.000 is geweest. De colititer was slechts twee keer III, (beide genoemde data), anders steeds IV, óók in het koude winterseizoen. Op dit bedrijf vertoont vooral de colititer een sprekend verschil met dien van de melk der vorige bedrijven, véél meer dan het kiemcijfer.

Het blijkt ook hier weer, dat de colititer onmiddellijk reageert speciaal op onvoldoenden toestand en reinheid van het vaatwerk.

Groep B. *De distributiebedrijven*

No. 15 — een groote, prima ingerichte en beheerde melkinrichting, waarvan de melk, nadat zij hooggepasteuriseerd en diep gekoeld is, door tusschenkomst van de bedrijven 16 — 17 en 18 in consumptie wordt gebracht. De melk werd bemonsterd op het moment, dat deze drie bedrijven ze ter distributie ontvingen, door uit de afvoerleiding van de tanks tijdens het voltappen van den tankwagen van bedrijf no. 18, in een sterielen kolf ruim 1 liter op te vangen. Deze melk werd verder bij 6° C. bewaard, en zoo spoedig mogelijk getransporteerd naar den Keuringsdienst ($\frac{1}{2}$ à $1\frac{1}{2}$ uur na de bemonstering), waar verdere bewaring en verwerking plaats vond (het onderzoek op *B. coli* in grootere quanta werd direct ingezet, de overige proeven tegelijk met die van de andere, op denzelfden dag genomen monsters).

Het blijkt dat het (met de kleineplaat-methode) gevonden hoogste kiemcijfer 160 is geweest; alle andere keeren was het < 100, dikwijls < 10. *B. coli* werd in 1 cc nooit aangetroffen, behalve op 13 Oct., hetgeen waarschijnlijk een toevalligheid is geweest (zie het bijschrift in de tabel).

Van de 14 keeren dat het onderzoek op *B. coli* in grootere hoeveelheden plaats vond, was de kleinste hoeveelheid, waarin deze nog met één of meerdere der gebruikte bodems kon worden aangetoond:

1 cc	1 keer	(13 Oct. — zie boven)
10 cc	2 „	(16 en 30 Sept.)
20 cc	1 „	(26 Aug.)
50 cc	4 „	(9 en 23 Sept., 7 en 21 Oct.)
100 cc	0 „	
750 cc	1 „	(28 Oct.)
5 keer	(2 Sept., 3, 11 en 18 Nov.,	niet aangetoond in een der
16 Dec.)		bovengenoemde hoeveelheden

Bedrijf no. 16 — een eigen venter van no. 15 — verkoopt in den loop van den voormiddag de melk, die des morgens van no. 15 wordt ontvangen. Na 1 Sept. is de melk in met stoom gesteriliseerde bussen verkocht, daarvóór in gewoon met heet sodawater gereinigde. De genomen monsters zijn alle op straat getrokken. Na

1 Sept. is het kiemcijfer steeds < 1500 , en bijna steeds aanzienlijk minder dan 1000 geweest, behalve op 2 Sept. (7000). De colititer was na dezen datum steeds 0. Vóór het uitstoomen was het kiemcijfer van 4.375 met colititer IV, tot 15.400 met colititer I.

Bedrijf no. 17 — verkoopt als no. 16, is echter een zelfstandig slijter. De bussen worden als regel alleen maar behoorlijk met heete sodaoplossing gereinigd, en heet nagespoeld.

Alle monsters zijn op straat getrokken.

Behalve een afwijkend monster (19 Aug. — dezelfde melk, echter per abuis van een anderen slijter genomen), met een kiemcijfer 273.600 en een colititer IV, is het kiemcijfer steeds < 5500 , de colititer slechts 2 keer III (9 en 16 Sept.), en 1 keer IV (26 Aug. — zeer onregelmatig verloop der colireacties), overigens steeds II of lager geweest.

Vergelijkt men de uitkomsten verkregen bij deze beide laatste bedrijven met die van bedrijf no. 15, dan blijkt wel, dat het kiemcijfer, en vooral de colititer, in zeer sterke mate afhankelijk zijn van de manier van reiniging van het vaatwerk. Slechts met een rigoureuus ingrijpen, als grondige sterilisatie in stoom, gelukt het om het kiemcijfer en speciaal den colititer, sterk omlaag te drukken.

Bedrijf no. 18 — een zelfstandige slijtersorganisatie — brengt de gepasteuriseerde melk van bedrijf no. 15, die des morgens vroeg ontvangen is, in consumptie. De reiniging van tankwagen, melkbussen enz. geschiedt niet steeds even zorgvuldig, evenmin als de behandeling der melk.

Alle monsters zijn weer z.g.n. straatmonsters.

Het kiemcijfer was 4 keer > 50.000 (26 Aug. 900.600, 2 Sept. 150.500, 16 Sept. 96.500, en 13 Oct. 57.925), 2 keer < 10.000 (21 Oct. en 16 Dec.), en verder ± 10.000 à 50.000.

Een colititer III kwam in verreweg de meeste monsters voor.

Vergelijkt men deze cijfers met die van dezelfde melk, verhandeld door de bedrijven no. 16 en 17, dan blijkt weer eens de zeer belangrijke infectie der melk door het vaatwerk, vooral ook met *B. coli*, en dan springt direct in het oog de groote inconsequentie van het z.g.n. „los” laten verkoopen van goed gepasteuriseerde

melk, die, zooals blijkt heel vaak weer bacterieel onbetrouwbaar wordt door een minder goede behandeling en dus nóg eens gekookt moet worden en die daardoor minderwaardig wordt als voedingsmiddel.

Bedrijf no. 19 brengt goed gekoelde hooggepasteuriseerde melk in den handel van de fabriek te Z. Het bedrijf is goed ingericht, speciaal t. a. v. de koeling; bij de éénmaal op dit bedrijf gehouden inspectie moest aanmerking worden gemaakt op de aanwezigheid van oude melkresten in de bussen. De reiniging van het vaatwerk geschiedt overigens op de gewone wijze met sodawater, en leiding-waternaspoeling. Het uitluchten der bussen laat te wenschen over. Vóór 1 Nov. varieerde het kiemcijfer sterk (van 7.000 tot 2.907.000); twee keer was het > 100.000 , nl. 280.000 (op 23 Sept.) en $\pm 2.900.000$ (op 26 Aug.). De colititer was steeds III of IV (meermalen bij vrij lage kiemcijfers).

Na 1 Nov. was de colititer hoogstens II, het hoogste kiemcijfer 26.425. Blijkens de soms voorkomende (+) reactie van Storch (op 26 Aug., 18 Oct. en 11 Nov.) geschiedde de pasteurisatie niet steeds volkomen gelijkmatig.

Ook bij dit bedrijf ziet men weer den grooten invloed, dien de vaatwerkreiniging heeft, speciaal ook op den colititer der melk.

Alle bij dit bedrijf genomen monsters waren straatmonsters.

Bedrijf no. 20 verhandelt laaggepasteuriseerde en diepgekoelde melk van de fabriek te L.

Zij staat meestal in den winkel, in open bussen, op welker toestand herhaaldelijk een aanmerking gemaakt moest worden.

De pasteurisatie geschiedt blijkens de Storchsche reactie dikwijls bij een hoogere temperatuur dan 65 tot 70° C.

De genomen monsters waren als regel winkelmonsters.

Tot 1 Nov. was het kiemcijfer slechts 3 keer < 50.000 (op 9 Sept. 49.000, 16 Sept. 25.500 en 21 Oct. 39.025), 4 keer 50.000/100.000 (12 Aug. 95.450, 18 Aug. 72.800, 23 Sept. 52.675 en 28 Oct. 93.775), en 5 keer van ruim 100.000 tot $\pm 1.875.000$.

De colititer was 4 keer III en 8 keer IV.

Na 1 Nov. was als regel het kiemcijfer < 30.000 , de colititer II, I of 0.

Overigens gelden hier dezelfde opmerkingen als bij bedrijf no. 19.

Bedrijf no. 21 verhandelt gepasteuriseerde melk van zeer dubieuze herkomst. Meermalen is een waarschuwing gegeven voor vuile bussen e.d.

De genomen monsters zijn bijna alle winkelmonsters.

Tot 1 Nov. was het kiemcijfer twee keer < 50.000 (9 Sept. en 7 Oct.), de colititer één keer II (7 Oct.); op alle andere data was het kiemgetal slechts drie keer van ± 125.000 tot 250.000 , en verder steeds ettelijke millioenen, de colititer bijna steeds IV.

Nà 1 Nov. was het kiemcijfer van ruim 50.000 tot ± 150.000 , de colititer hoogstens III, meestal II of I.

De pasteurisatie was voldoende hoog (negatieve Storchsche reactie in op één na alle gevallen).

En wat betreft kiemcijfer, en wat betreft colititer was er gedurende het geheele onderzoek een achterstand t. a. v. soortgelijke bedrijven derzelfde groep, hoewel de verschillen nà 1 Nov. minder sprekend waren dan daarvóór.

Op dit bedrijf heeft de koeling, die vrij goed was, niet kunnen verhinderen, dat de melk door de kiemen van het onvoldoend gereinigde vaatwerk doorwoekerd werd.

Bedrijf no. 22 — een gemiddeld slijtersbedrijf, dat nu eens rauwe, dan weer gepasteuriseerde melk van middelmatige tot onvoldoende herkomst verhandelt.

Meermalen is gewaarschuwd voor onvoldoende reinheid en kwaliteit der bussen e.d. Koeling en bewaring laten te wenschen over.

Het kiemcijfer is slechts 4 keer < 100.000 geweest, 4 keer < 500.000 , en verder steeds van 500.000 tot ettelijke millioenen. De colititer was vóór 1 Nov. slechts 1 maal I en 3 maal III, anders steeds IV. Nà 1 Nov. was deze maar 1 keer III.

Ook hier ziet men dus weer een onmiddellijk reageeren van colien kiemcijfers op de bedrijfsvoering.

De cijfers blijven ook nà 1 Nov. slechter dan bij de andere bedrijven.

Geconstateerd mag worden, aan de hand van de gegevens bij een aantal distributiebedrijven verzameld, dat helaas maar al te

vaak de goede zorgen, hetzij bij den veehouder, hetzij op de melkinrichting aan de melk besteed, te niet worden gedaan door de fouten eener onvoldoend voor haar taak berekende distributie, en dat, wil men het publiek een werkelijk iets beteekenende garantie geven, het tegenwoordige distributieapparaat een grondige herziening behoeft.

Onregelmatigheden bij de bepaling van den colititer

In verband met de spelingen van het toeval, en verder met de mogelijkheid, dat bepaalde stammen in een bepaald milieu meer of minder goed groeien, dan wel geremd kunnen worden, was het niet te verwachten, dat de aanwijzing voor elk monster in de beide gebruikte bodems in alle gevallen precies gelijk zou zijn, en dat nooit een hoogere verdunning wèl, een lagere géén positieve aanwijzing zou geven.

Een volkomen gelijk en gelijkmatig verloop der colireacties in beide bodems werd 207 van de 377 keeren waargenomen (van 13 monsters werden niet beide bodems ingezet). In de overige 170 keeren was er dus verschil in uitkomst. Het meest voorkomende verschil was, dat de eene bodem één verdunning hoger of lager aangaf dan de andere. Dit was het geval in 134 van deze 170 keeren.

In de overige gevallen was er een onregelmatig verloop der reacties, hetzij dat in één of beide bodems een hoogere verdunning wèl, een lagere géén positieve uitkomst gaf (totaal voor Chalmersbouillon 19 keer, voor Trypaflavinebouillon 13 keer), hetzij dat het verschil in aanwijzing tusschen beide bodems méér dan één verdunning bedroeg (36 keeren, waarvan Chalmers' bouillon 17, en Trypaflavinebouillon 19 keeren B. coli in de hoogste verdunning aangaf), hetzij een combinatie van onregelmatig verlopende reactie met ongelijke aanwijzing.

Zeer typisch was, dat in de monsters no. 14 30 Sept., en no. 22 3 Nov., in Chalmers' bouillon totaal géén, in Trypaflavinebouillon in alle series tot en met 0.001 cc vlotweg B. coli was aan te toonen. Dit wijst toch wel heel erg sterk in de richting van een verschillende gevoeligheid voor bepaalde milieus van de verschillende colistammen.

Op de beteekenis van het onregelmatige verloop van dergelijke proeven bij colionderzoek heeft vooral *Mc. Grady* gewezen. Deze schrijver zet van elke verdunning 2 of meer parallelproeven in op één en denzelfden bodem, en elke uitkomst, die hij zóó krijgt, beantwoordt aan een z.g.n. „most probable number” van colibacteriën per cc van de onderzochte vloeistof. Hij heeft ook tabellen samengesteld, waaruit dit meest waarschijnlijke aantal gemakkelijk is op te sporen.

Mc. Gr. betoogt, op grond van aan de leer der waarschijnlijkheidsrekening ontleende gegevens, dat zulke onregelmatige uitkomsten wiskundig geregeld moeten voorkomen.

Toepassing der methode Mc. Gr. stuit echter op bezwaren: *ten eerste* moet men elke proef in duplo of triplo inzetten, wat voor het routineonderzoek véél te veel werk met zich brengt, *ten tweede* zijn meermalen bij een negatieve uitkomst, speciaal in Na-taurocholaathoudende bouillonsoorten wél coli-achtigen aanwezig, en

ten derde is de keus van den gebruikten voedingsbodem van zeer veel invloed op de daarmee verkregen uitkomsten, omdat wel gebleken is, dat lang niet op alle soorten voedingsbodems een gelijke ontwikkeling van alle coli-achtigen te verwachten is.

Een mathematische juistheid bij het indeelen van melk in bepaalde klassen naar het gehalte aan coli-achtigen (op zichzelf tot op zekere hoogte al een betrekkelijk willekeurige handeling), zal m.i. wel nooit te verkrijgen zijn, en daarom lijkt het mij voor de practijk véél beter, om niet voor elk onderzocht geval te trachten een wiskundige (of pseudowiskundige) zekerheid te krijgen omtrent het aantal eventueel aanwezige colibacteriën enz., maar te eischen, dat bepaalde uitkomsten voor bepaalde groepen van bedrijven niet dan bij hooge uitzondering mogen voorkomen.

Wat dus direct impliceert, dat deze wijze van qualiteitsbeoordeling van melk van een bepaald bedrijf alleen dan waarde heeft, als zij geregeld wordt toegepast.

Hooge colititers

Een colititer IV kwam, hetzij in één, hetzij in beide gebruikte bodems, voor bij 84 monsters. Hiervan behoorden er tot de groep

met de navolgende kiemcijfers (van 5 monsters werd het kiemcijfer niet bepaald):

1—50.000	(totaal 262)	: 15, d.i. \pm	6%	} der tot deze groep behorende monsters.
50—200.000	(„ 61)	: 24, d.i. \pm	40%	
200—500.000	(„ 26)	: 16, d.i. \pm	61%	
500.000—1.000.000	(„ 16)	: 9, d.i. \pm	56%	
1—5.000.000	(„ 13)	: 13, d.i.	100%	
> 5.000.000	(„ 6)	: 6, d.i.	100%	
ontelbaar	(„ 1)	: 1, d.i.	100%	

Hieruit blijkt, dat de bewering van o.a. *Barkworth*, dat bij hoogen colititer nooit een werkelijk laag kiemcijfer wordt aange troffen, niet *geheel* juist is.

Verder blijkt, dat de colititer, resp. het kiemgetal in sterke mate afhankelijk zijn van: de reinheid der bussen enz., resp. de afkoe ling der melk — in veel mindere mate van de wijze van melken (zie bedrijf no. 1). O.a. spreekt dit in hooge mate bij de sterke herinfectie van de gepasteuriseerde, practisch coli- en kiemvrije melk van bedrijf no. 15, bij enkele der bedrijven, die deze melk in den handel brengen (no. 17 en vooral no. 18).

En coli- en kiemcijfer blijken zich bij de minder goed ingerichte en/of gedreven bedrijven (zoowel boerderijen als distributiebedrij ven) in het koude jaargetijde te bewegen in de richting van den „standaard” voor het goede bedrijf.

Bij slechte, althans zeer onvoldoende beheerde of ingerichte bedrijven (o.a. bij het veehoudersbedrijf no. 14, en de distributie- bedrijven no. 21 en 22) bleef het hooge kiemcijfer, en vooral de hooge colititer in sterkere mate bestaan, óók in het koude seizoen.

Vergelijking van de resultaten der reductaseproef met het kiem- cijfer en den colititer

a. Gevonden kiemgetallen per cc, vergeleken met den ont kleurings- tijd (van de 390 monsters is bij 20 de proef òf wel niet ingezet, òf is de ont kleurigtijd enz. niet voldoende nauwkeurig opgenomen).

ontkl. tijd	aantal kiemen per cc		
	1—50.000	50—200.000	200—500.000
< 1 uur	—	—	—
± 1 — ± 3 „	1	1	1
± 3 — ± 5 „	12	16	11
> 5 „	246	39	12

ontkl. tijd	aantal kiemen per cc		
	500.000—1.000.000	1—5.000.000	> 5.000.000
< 1 uur	—	—	4
± 1 — ± 3 „	9	11	2
± 3 — ± 5 „	4	—	—
> 5 „	1	—	—

Wij nemen waar, dat bij een reductasetijd van > 5 uur, nog 52 van 298 monsters (d.i. ongeveer 17½ %) voorkomen, met een hooger kiemcijfer dan 50.000. Wij herinneren er aan, dat wij voor goed beheerde bedrijven den eisch mochten stellen, dat melk wordt afgeleverd met een kiemcijfer van kleiner dan, of hoogstens gelijk aan 50.000 per cc.

Uit het bovenstaande blijkt, dat voor ons doel de reductaseproef niet minder dan 17½ % miswijzingen zou geven. Ter contrôle op de door ons gestelde eischen voor consumptiemelk is deze methode dus onbruikbaar.

Wij zien dan nog af van het feit, dat er ook enkele monsters met een laag kiemcijfer een korten reductasetijd bleken te vertoonen, en bij toepassing van deze proef misschien ten onrechte als melk van minder goede kwaliteit zouden worden beschouwd.

b. De colititer, vergeleken met den ontkeuringstijd bij de reductaseproef gaf het volgende beeld te zien (bij 375 monsters; van 15 monsters werd de tijd niet volledig of juist opgenomen).

ontkl. tijd	colititer				
	0	I	II	III	IV
< 1 uur	—	—	—	—	4
± 1 — ± 3 „	—	—	2	4	19
± 3 — ± 5 „	1	2	5	12	24
> 5 „	85	69	62	57	29

Ter zake van de contrôle op het coligehalte laat de reductaseproef ons al evenzeer in den steek.

Onder de ruim 300 monsters met een reductasetijd > 5 uur bevinden er zich niet minder dan 86, of ca. 29%, die een colititer III of IV aanwezen.

Wij betoogden, dat men bij aflevering door den veehouder, den eisch mag stellen, dat de titer II als regel niet overschreden wordt.

De bepaling van den reductasetijd zal ons dus in ruim een vierde der gevallen niet den onvoldoenden staat der melk onthullen. Als hulpmiddel in ons systeem is zij dus onbruikbaar.

Het kwam slechts spaarzaam voor (3 van 157 keeren), dat de melk naast een korteren reductasetijd dan 5 uur een lagen colititer vertoonde. De miswijzingen der reductaseproef naar deze zijde zouden geen groot practisch bezwaar vormen.

De resultaten der gistingproef

Deze proef wordt o.a. aanbevolen voor het opsporen in melk van ongewenschte, gasvormende micro-organismen, waarbij speciaal de coli-achtigen genoemd worden.

Een leelijke gisting (sterke gasvorming — drijvende caseïneprop — met peptonificatie enz.) werd bij rauwe melk niet dikwijls aangetroffen, n.l. bij de navolgende monsters, en bij zeer verschillende, soms erg lage coli- en kiemcijfers.

Bedrijf no.	datum	kiemcijfer	colititer
7	28 Oct.	3.850	II
7	18 Nov.	5.425	II
12	18 „	62.000	0
14	3 „	99.500	IV
22	3 „	604.200	IV
22	11 „	33.950	IV
22	18 „	1.006.050	IV

Wij zien dus bij rauwe melk slechts 4 van 7 keeren, dat een leelijke gisting correspondeerde met een hoogen colititer.

Ons onderzoek op *B. coli* (colititerbepaling) leverde ons een veel grooter aantal gevallen op, waarin de colititer III of IV werd aangetroffen, zonder dat dit bij de gistingproef tot uiting kwam.

Ter bepaling van het toelaatbare gehalte aan coli-achtigen in consumptiemelk volgens ons stelsel is de gistingproef dus ontoereikend.

Bij de beoordeeling onzer proeven werd (na 20 uur) meest gevonden, dat de melk totaal gelijkmatig gecoaguleerd was, terwijl in het coagulium géén of slechts enkele gasbellen werden aangetroffen, al of niet gepaard gaande met — meest zeer geringe — weivorming en peptonificatie. Al deze verschijnselen kwamen zonder eenige regelmaat voor zoowel bij coli- en kiemarme, als -rijke melk.

Bij gepasteuriseerde, vooral hooggepasteuriseerde melk trad veel meer uitgesproken propvorming, gasontwikkeling en peptonificatie op, door eenzijdige begunstiging der sporevormende en anaërobe kiemen, vaak bij uiterst lage initiale kiem- en colicijfers.

De conclusie is dan ook alleszins gewettigd, gezien het verloop bij de boven omschreven proeven, dat het gedrag bij de zgn. gistingproef, beoordeeld na 20 uren, niets zeggen kan omtrent de bacteriologische hoedanigheid der melk.

Omtrent de *reactie van Storch*, en het *sedimentonderzoek* valt geen bijzonders te vermelden. Een enkelen keer werden in het sediment bij enkele bedrijven positief of dubieus mastitisstreptococci gevonden, en het betreffende dier opgespoord (bij bedrijf no. 10 en 14).

HOOFDSTUK V

CONCLUSIES

A. Algemeene

- I. Bacteriologische contrôle, d.i. bepaling van het kiemgetal en van den colititer der melk, geeft bij geregelde toepassing een nauwkeurig beeld van de doelmatigheid, waarmede de winning enz. hebben plaats gevonden.
- II. Het gehalte aan, tot de groep der coli-achtigen te rekenen kiemen, wordt waarschijnlijk het meest beheerscht door toestand en reiniging van het vaatwerk, de grootte van het kiemcijfer door de wijze van koelen.
- III. Een hooge colititer komt bij kiemcijfers $< 50.000/cc$ slechts zelden voor.
- IV. De reductaseproef en de gistingproef hebben geen waarde voor een nauwkeurige bepaling van de bacteriologische kwaliteit der melk, wanneer deze bepaling moet dienen om contrôle uit te oefenen over de doelmatigheid van de winning en de behandeling der melk.
- V. Door toepassing van de enttechniek met de geijkte platinalisch volgens *Burri*, kunnen de bij de bepaling van den colititer noodzakelijke verdunningen der melk gemakkelijk in het groot worden aangelegd.

B. Eischen te stellen aan de melk bij de levering vanaf de boerderij

- I. Elke veehouder, wiens bedrijf aan de vroeger (op blz. 5 en 6) geformuleerde eischen voldoet, is door toepassing van eenvoudige voorzorgen ter zake van de reinheid in zijn bedrijf in staat geregeld melk af te leveren, die niet meer dan 50.000 kiemen per cc bevat, en waarin de colititer doorgaans lager is dan III, hoogstens gelijk aan III.

- II. Bij bedrijven, waar geregeld hogere cijfers dan de genoemde worden aangetroffen, mag men met zekerheid besluiten tot fouten in de winning en de behandeling der melk (meer speciaal tot het gebruik van ondeugdelijk of onvoldoende gereinigd vaatwerk, of tot onvoldoende koeling der melk).
- III. In de hierboven sub II bedoelde bedrijven kán, indien niet reeds door andere maatregelen betere uitkomsten verkregen worden, door naspoeling van het vaatwerk enz. met heete chloorbleekloogoplossing belangrijke verbetering in de qualiteit der afgeleverde melk op zeer eenvoudige wijze worden aangebracht.

C. Conclusies omtrent de distributiebedrijven

- I. Een melkinrichting, die aan de op blz. 6 geformuleerde eischen voldoet, is voortdurend in staat melk af te leveren, welke na pasteurisatie ten hoogste 10.000 kiemen per cc bevat, terwijl coli-achtigen niet dan bij hooge uitzondering in 1 cc kunnen worden aangetoond.
- II. **Het gebruik deze melk „los” te verkoopen heeft tengevolge, dat in sommige melkinrichtingen, zoowel als in sommige slijterijen, de gepasteuriseerde melk opnieuw zeer belangrijk in bacteriologischen zin wordt verontreinigd, waardoor alle maatregelen tot verbetering van de melkwinning volmaakt illusoir worden.**
- III. Het schijnt schrijver dezes dan ook in het belang van de volksgezondheid, en in het belang van den reëelen handel, noodzakelijk en uitvoerbaar, de volgende, sub IV en V genoemde grondslagen voor de distributie van melk op te stellen.
- IV. Rauwe melk mag slechts worden verhandeld door of namens veehouders, wier bedrijven voldoen aan de op blz. 5 en 6 genoemde eenvoudige eischen van inrichting enz.; het kiemcijfer dezer melk mag niet hooger zijn dan 50.000/cc, en de colititer niet hooger dan III.
- V. Gepasteuriseerde melk mag uitsluitend worden verhandeld in (gesteriliseerde) flesschen, en worden vervaardigd in de hierboven sub I genoemde bedrijven.

HOOFDSTUK VI

OMSCHRIJVING VAN DE BACTERIOLOGISCHE CONTROLE DER MELK TER HANDHAVING VAN DE SUB IV EN V DER CONCLUSIES ONDER C GESTELDE GRONDSLAGEN

A. Rauwe melk

Bepaling van het kiemcijfer: Toepassing der kleineplaatmethode volgens *Frost — Van Oyen — Clarenburg*.

Toelaatbaar maximum 50.000 kiemen per cc.

Bepaling van den colititer: Enting van twee buisjes Chalmers' en twee Trypaflavine-lactosebouillon (event. alleen de beide laatste — zie de conclusies n. a. v. deel II), met een oese volgens *Burri*, inhoudende resp. 0.005 cc ($1/200^e$), en 0.001 cc ($1/1000^e$ cc).

Bebroeden 2×24 uur bij 37° C..

Bij gasvorming wordt de uitslag als bewijzend voor de aanwezigheid van coli-achtigen beschouwd.

Heeft zulks plaats in één of beide buizen, dan wordt belanghebbende gewaarschuwd; van zijn melk zal dan een paar maal extra een monster dienen te worden onderzocht, waarbij ook de verdunning 1 op 100 wordt aangelegd (d.i. twee oeses van 0.005 cc).

Bij te hoog kiemgetal, of colititer volgt eerst waarschuwing. Persisteert dit gebrek, dan volgt inspectie van het bedrijf, en worden maatregelen ter verbetering voorgeslagen. Blijft de toestand onbevredigend, dan volgt intrekking van de vergunning, de melk ongepasteuriseerd in consumptie te brengen.

B. Gepasteuriseerde melk

Bepaling van het kiemcijfer: Kochsche plaat, of kleineplaat-

methode. Toelaatbaar maximum volgens deze laatste 10.000 kiemen per cc (bij bebroeden gedurende 18 uren bij 30° C.).

Bepaling van den colititer: Enting van 1 cc en 0.1 cc op Chalmers' of Trypaflavine-lactosebouillon (ev. alleen de laatste). Bebroeden 2 × 24 uur bij 37° C. Gasvorming wordt beschouwd als te zijn bewijzend voor de aanwezigheid van coli-achtigen.

Toelaatbaar maximum: positief in 1 cc.

Worden deze beide cijfers overschreden, dan zal eerst waarschuwing dienen te volgen, en bij herhaling bedrijfsinspectie moeten plaats vinden, waarbij speciaal aandacht zal moeten worden geschonken aan:

de wijze, waarop de aangevoerde melk wordt gecontroleerd, de wijze van temperatuurcontrôle en reiniging van het materieel, de doelmatigheid waarmede het bedrijf is ingericht.

Bij voortdurend slechte uitkomsten moet ook hier de mogelijkheid van intrekking der vergunning bestaan.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

A. ORIGINEELE PUBLICATIES

- Adams, M., Kessler en Swenarton, J. C.* „Gentianavioletpetton-bile for the detection of *b. coli* in milk." *The Journal of Hygiene*, vol. XIV, 1927, blz. 47.
- Ayers, S. H. and Johnson, W. F.* „The majority and absolute thermal death-point of bacteria in relation to pasteurization." *The Journal of Agricultural Research*, 1915, blz. 401—410.
- Barkworth, Mattick, Taylor and Stenhouse Williams.* „The relationship between the bacteriological content and the keeping quality of milk." *Journal Min. Agric*, 1927, vol. XXXIII, no. 11.
- Barkworth, Meanwell and Taylor.* „Bacterial count and keeping quality." *Journ. Min. Agric*, 1929, vol. XXXVI, no. 2.
- Barkworth, H.* „The keeping quality of afternoon milk." *Journ. South Eastern Agric. College* no. 28, 1931.
- Barkworth, H.* „Coli-form organisms and keeping quality." *Journ. South Eastern Agric. College* 12/7, 1933.
- Barthell, Ch.* „Verwendbarkeit der Reduktaseprobe zur Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit der Milch." *Zeitschrift für Nahrungs- und Genussmittel*, 1908, 15, blz. 385.
- Barthell, Ch.* „Weitere Untersuchungen über die Reduktaseprobe, sowie vergleiche mit einigen anderen neueren milchhygienischen Untersuchungsmethoden." *Zeitschrift für Nahrungs- und Genussmittel*, 1917, 34, blz. 137.
- Barthell, Ch.* „Une nouvelle methode de differenciation biochimique des groupes coli et aërogenes." *le Lait*, 1932, blz. 610.
- Bender, W.* „Zentralblatt f. Bakteriologie", 87, blz. 289.
- Bergey, D. H.* „Manual of determinative bacteriology", 1934.
- Bosma, J.* „Over het verloop en de genezingskansen van streptococcenmastitiden bij het rund." *Diss. Utrecht* 1933.
- Breed, R. S.* „Organisms of the colon-group found in milk. The newer knowledge of Bacteriology and Immunology." *University of Chicago Press*, pag 389.
- Browne, W. W.* „Predominance among the members of the bacillus coli-group in artificially stored waters." *The Journal of Infectious Diseases*, 1915, blz. 17.
- Camus, L.* „Des tests micro-biologiques de contamination dans le contrôle rapide du lait." *Thèse, Lyon* 1921.

- Catell* u. *Pallaske*. „Experimentelle Erzeugung einer Enteritis durch Coli-bakterien." *Jahrb. f. Kinderheilkunde* 1933.
- Chalmers, C. H.* „The Journal of Hygiene", XXVII, 3, 26 April '28.
- Chen Chong Chen* and *Leo F. Rettger*. „A correllation study of the colon-aërogenes group of bacteria with special reference to the organisms occurring in soil." *The Journal of Bacteriology*, V, 1920.
- Clarenburg, A.* „Een systematisch onderzoek naar de waarde der kleine plaat-culturen volgens Frost voor de bepaling van het aantal levende bacteriën in melk." *Dissertatie Utrecht* 1925.
- Clark* and *Lubs*. „The differentiation of the members of the colon-aërogenes family by the use of indicators." *The Journal of Infectious Diseases*, 17, 1915, blz. 160.
- Demeter, K. J., Sauer, F.* und *Miller, M.* „Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Methoden zur coli-aërogenestiter-bestimmung in Milch." *Milch-wirtschaftliche Forschungen*, Bnd. 15, Heft 2 und 3, 1933.
- Demeter, K. J.* u. *Sauer, F.* „Beitrage zur Kenntnis der Coli-Aërogenesbakterien in der Milch." *Milchwirtsch. Forsch.*, blz. 236, 1934.
- Dorner, W.* et *Demont, P.* „Recherches sur le procédé Burri de numération bacterienne par stries." *le Lait*, 1931, blz. 909.
- Den Dooren de Jong.* „Het aantoonen van bact. coli in gepasteuriseerde melk." *Algemeene Zuivel- en Melkhygiënisch Weekblad*, 6-2-1925.
- Dorner, W.* „La durée de la décoloration à l'épreuve de la reductase est-elle fonction de la teneur bacterienne du lait?" *le Lait*, Mei 1933.
- Van Eck, J. J.* „Over het gedrag van peroxydase in koemelk bij verhitting." *Chemisch Weekblad* no. 37, 1911.
- Evans, Alice.* „Bacteria of fresh milk from normal udders." *The Journal of infectious diseases*, 18, 1916.
- Fellers* and *Deanetyne*. „Relation of water to milk-born typhoid." *The Journal of Dairy Science*, 1925, blz. 146.
- Folmpers, F.* „Vergelijking der resultaten van eenige ophoopingsmethoden voor bact. coli." *Nederl. Tijdschrift voor Mikrobiologie en Serologie*, 1923, blz. 117.
- Frank, J.* „Mikrobiologische Untersuchungen über Milchkannenreinigung in Mol-kerei-Grossbetrieben." *Inaug. Dissert. Techn. Hochsch. München*, 1930.
- Gärtner, Aug.* „Die Hygiene des Wassers", 1915.
- Van Gelder, R. H.* en *Lerner, M.* „Ergibt sich eine Regelmässigkeit zwischen der Reductasezeit und dem Bakteriengehalt nach der allgemeinen Platten-zählmethode?" *Zeitschr. f. Fleisch ü. Milchhygiene*, 1926, blz. 374 en 400.
- Genung, E. F.* and *Thompson, L. E.* „Color-diffusion in Endo-agar." *The Journal of Bacteriology*, XIV, 1927, blz. 139.
- Gorter, E.* „Over de beteekenis der infectie met tubercel-bacillen van bovine herkomst." *Handelingen v. h. Genootschap voor Melkkunde*, 1932, I.
- Gorter* en *De Graaff.* „Klinische Diagnostiek", blz. 31—38 en 230—'33.
- De Graaff, W. C.* „Het colivraagstuk bij het drinkwateronderzoek." *Pharma-ceutisch Tijdschrift* 3 en 4, 1932.

- Hansma, J. J.* „Rundergal in voedingsbodems.” *Pharmaceutisch Weekblad* 15 Oct. 1932.
- Harden, A.* „The Chemical action on glucose of the lactose-fermenting organisms of faeces.” *The Journal of Hygiene*, V, 1905.
- Heim, L.* „Lehrbuch der Bakteriologie”, 1918.
- Hicks, E. P.* „The value of methods for the differentiation of bacilli of the colon-aërogenesgroup, when applied in Shanghai.” *The Journal of Hygiene*, 1927, blz. 357.
- Hoy and Rennie, J. R. L.* „The use of Hypochlorites as a sterilizing agent for dairy utensils.” *The Journal of Hygiene*, XXVI, 1927, blz. 127.
- Hunziker, Cordes and Nissen.* „Metals in dairy equipment.” *The Journ. of Dairy Science*, Mei 1929, blz. 252.
- Jones, H. N. and Wise, L. E.* „Cellobiose as an aid in the differentiation of members of the colon-aërogenesgroup of bacteria.” *The Journal of Infectious Diseases*, XI, 1926, blz. 359.
- Kirchner, W.* „Handbuch der Milchwirtschaft”, blz. 191 en 382.
- Kligler, H. J.* „Observations on the production of indol bij bacteria of the colon-typhoidgroup.” *The Journal of Infectious Diseases*, 14, 1914.
- Klimmer, M.* „Tierärztliche Milchkontrolle”, 1929.
- Klimmer, Haupt und Borchers.* „Über das Vorkommen und bestimmen der Coli- und Aërogenes-bakterien in der Milch.” *Milchwirtschaftl. Forsch.*, 1929, blz. 236.
- Koning, J. C.* „Biologische en biochemische studies over melk.” *Pharmaceutisch Weekblad* 1905 — 1906 — 1908.
- Kon. Phyllis, M.* „The Journal of Dairy Research”, Mei 1933, blz. 206.
- Koser, S. A.* „Utilization of the salts of organic acids by the colon-aërogenesgroup.” *The Journal of Bacteriology*, VIII, 1923, blz. 493.
- Koser, S. A.* „Correllation of the citrate utilization by members of the colon-aërogenesgroup with other differential characteristics and with habitat.” *The Journal of Bacteriology*, IX, 1924, blz. 59.
- Koser, S. A.* „Further observations on utilization of the salts of organic acids by the colon-aërogenesgroup.” *The Journal of Bacteriology*, XI, 1926, blz. 409.
- Kraus-Uhlenhuth.* „Handbuch der Mikroskopischen Technik”, Bnd. II, blz. 808.
- Lerner, M.* „Een colititer voor melk.” *Nederlandsch Tijdschrift voor Mikrobiologie en Serologie*, VI, no. 2, 1931.
- Levine, M.* „On the significance of the Voges-Proskauer reaction.” *The Journal of Bacteriology*, I, 1916, blz. 153.
- Levine, M.* „Correlation of reactions in the colon-aërogenesgroup.” *The Journal of infectious Diseases*, XIIX, 1916, blz. 358.
- Levine, M.* „The Journal of Infectious.” *Diseases* XXIII, 1918, blz. 43.
- Lipska, I.* „le Lait”, 1934, afl. Juli-Aug.
- Löhnis, F.* „Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie”, Berlijn 1913.
- Luxwolda, W. B.* Inaug. Dissert. Jena 1911.

- Mc. Conkey, A.* „Lactose fermenting bacteria in faeces." *The Journal of Hygiene*, V, 1905.
- Mc. Conkey, A.* „Further observations on the differentiation of lactose-fermenting bacilli with special reference to those of intestinal origin." *The Journal of Hygiene*, IX, 1909, blz. 86.
- Mc. Grady, M. H.* „The numerical interpretation of fermentation-tube results." *The Journal of Infectious Diseases* XV, 1915, blz. 183.
- Malcolm, F. J.* „The occurrence of coli-form bacteria in milk." *The Journal of Dairy Research*. Dec. 1933, blz. 15.
- Melkbesluit, Staatsblad* 1929, no. 43.
- Meurer.* „Beitrag über Kontaktinfektionen der Milch durch die Flaschen." *Zeitschr. f. Fleisch und Milchhygiene*, 1927, blz. 151 en 169.
- Monvoisin, A.* „le Lait." Paris 1920.
- Nederlandsch tijdschrift voor mikrobiologie en serologie.* „Coli een indicator voor onzindelijke melkwinning?" *Uit het Laboratorium der Rotterdamsche Melk-inrichting*. Deel VII, no. 4, 1932.
- Neisser, M.* „Milchversorgung grosser Städte." Rede gehouden op de Tagung der Deutschen Hygienischen Gesellschaft te Düsseldorf. 26—IX—1926.
- Nevot.* „L'approvisionnement de Paris en lait." *le Lait* Febr.-Mrt. 1933, blz. 111.
- Obst Maud Mason.* „Bile compared with lactose bouillon for determining the presence of bact. coli in water." *The Journal of Bacteriologie*, I, 1916, blz. 73.
- Okkinga, P. en Tymstra, S.* „Het onderzoek van melk en melkproducten aan de zuivelfabriek." *Uitg. F.N.Z.* 1919, blz. 98.
- Orla-Jensen, C.* „Milchkunde und Milchhygiene", 1903.
- Orla-Jensen, C.* „Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft", 1912.
- Van Oyen, C. F.* „Quantitatief bacteriologisch onderzoek van melk — kleine-plaat-cultures."
- Paine, F. S.* „The Destruction of acetylmethylcarbinol by members of the colon-aërogenesgroup." *The Journal of Bacteriology*, XIII, 1927, blz. 269.
- Peters, H.* „Über den Einfluss der Pasteurisation und Tiefkühlung auf den Coligehalt der Milch." *Inaug. Dissert. Techn. Hochsch. München* 1930.
- Pien, J. et Bachimont, J.* „Sur la recherche du bacterium coli dans le lait." *le Lait*, Nov. en Dec. 1932.
- Plantenga, B. P. B.* „Bescherming van den zuigeling tegen tuberculose." *Tijdschrift voor Sociale Hygiëne*, 1925, blz. 238.
- Plantenga, B. P. B.* „De noodzakelijkheid eener zindelijke melkwinning." *Tijdschrift voor Sociale Hygiëne*, 1926, blz. 161.
- Plimmer.* „Practical organic and bio-chemistry", 1915, blz. 340.
- Van Raalte, A. en Lerner, M.* „De reductasetijd van melk en haar bacteriecijfer." *Chemisch Weekblad* 1929, blz. 613.
- Rapport v. d. commissie van onderzoek* inzake het instellen van een gemeentelijk Melkbedrijf te Amsterdam. 1923.
- Rievel.* „Handbuch der Milchkunde", 1926, blz. 75.

- Ritter, Neva.* „The value of presumptive tests for bac. coli based on the routine use of lactose-bile and lactose-broth.” *The Journal of Bacteriology* IV, 1919, blz. 609.
- Ritter, W.* „Die quantitative Bestimmung der Coli-Aërogenes-Bakterien in Milch und Lab.” *Milchwirtschaftliche Forschungen* XV, Heft 2 u. 3, 1933.
- Rogers, L. A., Clark, W. M. and Davis, B. J.* „The colon-group of bacteria.” *The Journal of Infectious Diseases*, 14, 1914.
- Rogers, L. A., Clark, W. M. and Evans, A. C.* „Characteristics of colon bacteria in bovine faeces.” *The Journal of Infectious Diseases*, 14, 1914.
- Rogers, L. A., Clark, W. M. and Evans, A. C.* „Characteristics of colon bacteria on grains.” *The Journal of Infectious Diseases*, 17, 1915.
- Salle, A. J.* „A new agar-dye differential medium for the colontyphoidgroup.” *The Journal of Infectious Diseases* no. 41, 1927, blz. 1.
- Schmidt, W.* „Untersuchungen über den Coli-gehalt roher und dauer-erhitzter Milch.” *Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene*, 15 Jan. 1932, blz. 158.
- Sommerfeldt, P.* „Handbuch der Milchkunde.” Wiesbaden 1909.
- Stewart, M. J.* „A study of the coliform organisms infecting the wounds of war.” *The Journal of Hygiene*, XVI (1917-1918), blz. 291.
- Storch.* „Eine chemische Methode um festzustellen ob Milch oder Rahm bis auf mindestens 80° C. erwärmt worden ist, oder nicht.” *Zeitschrift für Nahrungs- und Genussmittel*, 1898, blz. 239.
- Struve, H. und Baumgärtel, Tr.* „Über den Einfluss mechanischer Erschütterungen auf den Keimgehalt der Milch.” *Milchwirtschaftl. Forschungen*, 1927, blz. 492.
- Swenarton, J. C.* „Can B. coli be used as an index of the proper pasteurization of milk.” *The Journal of Bacteriology*, XIII, 1927, blz. 419.
- Tanner.* „Bacteriology and Mycology of Foods”, 1919.
- Tanner and Dubois.* „Further investigations about the resistance of the colontyphoidgroup against temperature.” *The Journal of Dairy Science*, VIII, 1925, blz. 47.
- Tanner and Winslow.* „The Journal of Dairy Science.” Mei 1929, blz. 202.
- Tiemann, H.* „Die Milch.” Leipzig 1913, blz. 49.
- Treffers, W.* „Onderzoekingen naar de wijzigingen in het kiemgetal der in steriel vaatwerk gewonnen melk.” *Dissertatie Utrecht* 1925.
- Troy, H. C.* „A comparison of the methylenblue-reductase test and the direct microscopic count in grading milk at milk-plants.” *Journal of Dairy Science* 1925, blz. 282.
- Vassileff, Th.* „Recherche et numération du coli-bacille dans le lait par la méthode du rouge neutre.” *le Lait*, Maart 1932, blz. 181.
- Veenbaas, A. H.* „Melkbacteriologie en Melkhygiëne”, 1930.
- Velthorst.* „Bijdrage tot de kennis der bacteriologische gesteldheid van melk en melkproducten.” *Dissertatie Utrecht* 1930.
- Winslow, Kligler and Rothberg.* „Studies on the colon-typhoidgroup of bacteria.” *The Journ. of Bacteriology* IV, 1919, blz. 429.

- v. Wolzogen-Kühr, C. A. H. en v. d. Vlugt, L. S.* „De Lacmoidplaat voor de differentiaal-diagnose van *bact. coli*.” Water, 1932.
- Yale, M. W.* „The Escherichia-Aërobactergroup of bacteria in dairy products.” The Journ. of Dairy Science, Sept. 1933, blz. 481.
- Zavagli, V.* „Zum Vorkommen und zur Bedeutung der Coli-Aërogeneskeime in der Milch.” Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere. 28 Dec. 1933, blz. 110.

B. REFERATEN

- Clemeska, W.* „The bacteriology of surface waters in the tropics.” London 1912.
- Ferreira, A., Horta, A., Paredes, C.* „Recherche sur le *B. coli communis* de l'intestin de l'homme.” Arch. der Real. Institut. Bact. Camara. Pestana 1908.
- Keyes, F. G.* „The gas-production of *B. coli*.” The Journal of medical research, 1909.
- Michaelis und Marcora, F.* „Die Säureproduktivität des *B. coli*.” Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, 1912.
- Savage, W. G.* „The bacteriological examination of water and foods.” Cambridge 1914.
- Sarles, W. B. and Hammer, B. W.* „Species of Escherichia-Aërobacterorganisms, responsible for some defects in dairy products.” Journal of Bacteriol. 25, 461, 1934.
- Shippen, L. P.* „The significance of *B. coli* in pasteurized milk.” Journal of the American Association, 1915.
- Smith, Th.* „The fermentation-tubes with special reference to anaërobiosis and gasproduction among bacteria.” Wilder Quarter Centurybook 1893.
-

STELLINGEN

I.

De tegen de streptococcen-mastitis bij het rund aanbevolen auto-vaccinatie-, autovaccin/bacteriophraag-, en entozontherapie dienen op uitgebreide schaal te worden gecontroleerd, alvorens daarover een eendoordeel kan worden uitgesproken.

II.

Bij de bestrijding van de steriliteit van het rund dient aan de locale therapie van uterus en ovarium meer aandacht te worden geschonken, dan aan een behandeling der schede of een injectie met hypophysis- of follikelhormonhoudende substanties.

III.

Zoowel om het rantsoen onzer melkrunderen te verbeteren, als met het doel, de kwaliteit der consumptiemelk te verhoogen, verdient het aanbeveling in het voederrantsoen een ruime hoeveelheid kuilvoeder, volgens moderne methoden bereid, op te nemen.

IV.

Bij de bestrijding der coli-bacillosis van het jonge vee is een doelmatige prophylaxe van veel meer beteekenis, dan bacteriophraag-, serum- en andere therapiën.

V.

Het is noodzakelijk, dat bij benoemingen van veeteeltconsulenten, de dierenartsen even als vroeger in aanmerking komen.

VI.

In het belang eener uniforme bestrijding van diverse, de gezondheid van onzen veestapel bedreigende ziekten, moet de daarbij te geven leiding aan speciaal aan te stellen veterinaire hygiëne-consulenten worden opgedragen.

VII.

Het is noodzakelijk, dat ten spoedigste een nadere regeling omtrent de keuring van voor consumptie bestemd pluimvee wordt getroffen.

VIII.

Voor elkeen die melk verhandelt dient voorgeschreven te zijn aansluiting bij een instituut ter contrôle van, en voorlichting over de handhaving van de in het Melkbesluit gestelde eischen, hetwelk werkt op nader door de overheid te bepalen wijze.

IX.

Het is noodzakelijk, om de in het Melkbesluit en het Consumptieijbsbesluit voorgeschreven wijze van onderzoek op de aanwezigheid van *B. coli* te herzien.

X.

Het is wenschelijk, dat aan elken Keuringsdienst van Waren een dierenarts wordt benoemd.

