



# **Bijdrage tot de kennis der bacteriologische gesteldheid van melk en melkproducten**

<https://hdl.handle.net/1874/299016>



*Van 1925 1930*

BIJDRAGE TOT DE KENNIS  
DER BACTERIOLOGISCHE  
GESTELDHEID VAN MELK  
EN MELKPRODUCTEN

Diss.  
Utrecht

1930













BIJDRAGE TOT DE KENNIS DER  
BACTERIOLOGISCHE GESTELDHEID  
VAN MELK EN MELKPRODUCTEN





BIJDRAGE TOT DE KENNIS DER BACTERIOLOGISCHE  
GESTELDHEID VAN MELK EN MELKPRODUCTEN

---

# PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD  
VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUUR-  
KUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT  
TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN  
RECTOR MAGNIFICUS DR. A. A. PULLE,  
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER  
WIS- EN NATUURKUNDE, VOLGENS  
BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNI-  
VERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN  
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN  
NATUURKUNDE TE VERDEDIGEN OP  
MAANDAG 19 MEI 1930 DES  
NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

HENDRIKUS VELTHORST

GEBOREN TE ARNHEM

DRUK UTR. TYPOGRAFEN-ASSOCIATIE, KEIZERSTRAAT 5, UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.





*Aan mijn Ouders.*  
*Aan mijn Vrouw.*





*Bij het voleindigen van mijn academische studiën, is het mij een aangename taak U Hooggeleerden in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde, dank te zeggen voor het onderwijs van U genoten.*

*In het bijzonder U, Hooggeleerde De Graaff, Hooggeachte Promotor dank ik voor den steun en de belangstelling, mij bij de bewerking van dit proefschrift betoond. Het voorrecht Uw assistent te zijn, waardoor mij de gelegenheid werd geboden inzicht te verkrijgen in problemen, voordien buiten mijn studie vallende, ben ik mij steeds meer bewust geworden.*

*Hooggeleerde Van Romburgh, Uw heldere en boeiende colleges, zullen mij steeds in aangename herinnering blijven.*

*Hooggeleerde Cohen, U dank ik voor hetgeen ik op colleges en practica van U heb mogen leeren.*

*Hooggeleerde Kruyt, zeer erkentelijk ben ik U voor Uw onderricht in Kolloïdchemie en Phasenleer.*

*U, Hooggeleerde Schoorl, dank ik voor Uw onderricht in het onderzoek van voedingsmiddelen.*

*Hooggeleerde Van Oyen, ik ben U zeer erkentelijk voor Uwe belangstelling, mij bij de bewerking van dit proefschrift betoond.*

*Ten slotte dank ik de Directie van het Melkbedrijf „De Sierkan” te 's Gravenhage en den Heer Hoekema, leider van den modelstal „Berkendael” te Loosduinen, voor hunne welwillende medewerking.*





# INHOUD

|                                                                                                                          | Blz.  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| INLEIDING . . . . .                                                                                                      | 11—13 |
| HOOFDSTUK I.                                                                                                             |       |
| § 1. Eenige beschouwingen over modelmelk                                                                                 | 14—15 |
| § 2. Voorschriften, welke bij de winning van<br>modelmelk in acht moeten worden ge-<br>nomen . . . . .                   | 15—17 |
| § 3. Toelichting van enkele voorschriften in<br>§ 2 genoemd . . . . .                                                    | 17—20 |
| § 4. Infectiebronnen . . . . .                                                                                           | 20—28 |
| HOOFDSTUK II.                                                                                                            |       |
| § 1. De eischen aan modelmelk gesteld . .                                                                                | 29    |
| § 2. De wijze, waarop in ons land wordt ge-<br>tracht modelmelk te winnen en het kiem-<br>cijfer van deze melk . . . . . | 29—36 |
| § 3. Het colititer van modelmelk . . . . .                                                                               | 36—44 |
| § 4. Het streptococcentiter van modelmelk .                                                                              | 45—65 |
| § 5. Het aantoonen van verhitte melk in<br>modelmelk . . . . .                                                           | 66—69 |
| § 6. Zijn wettelijke waarborgen ten opzichte<br>van modelmelk mogelijk en wenschelijk .                                  | 69—74 |
| HOOFDSTUK III.                                                                                                           |       |
| A. Gepasteuriseerde melk.                                                                                                |       |
| § 1. De eischen, aan gepasteuriseerde melk<br>gesteld . . . . .                                                          | 75—76 |
| § 2. De coliproef . . . . .                                                                                              | 76—78 |
| § 3. Het kiemcijfer . . . . .                                                                                            | 78—79 |
| B. Koffieroom.                                                                                                           |       |
| § 1. Eenige beschouwingen over koffieroom .                                                                              | 79—80 |
| § 2. De bacteriologische gesteldheid van<br>koffieroom . . . . .                                                         | 80—82 |
| SAMENVATTING. . . . .                                                                                                    | 82    |
| TEEKENINGEN.                                                                                                             |       |





## INLEIDING.

Het verbruik van melk en melkproducten in ons land is zeer groot, het dagelijksch verbruik van consumptiemelk kan op 3.000.000 l, dat van modelmelk op 3—4000 l worden geschat.

Zonder meer zal het duidelijk zijn, dat aan een zoo belangrijk voedingsmiddel, dat ten deele rauw, ten deele in den bijzonderen toestand, waarin het wordt aangeboden en genuttigd, strenge hygiënische eischen moeten worden gesteld.

In dit proefschrift hebben wij ons tot taak gesteld eenige melk-hygiënische vraagstukken nader te beschouwen. Door omstandigheden geleid, werd eerst het modelmelkvraagstuk ter hand genomen, terwijl tevens het onderzoek werd uitgebreid tot gepasteuriseerde melk en tot het melkproduct koffieroom.

Allereerst werd nagegaan, welke eischen men uit bacteriologisch oogpunt redelijkerwijs aan de genoemde producten mag stellen, wanneer zij afkomstig zijn van een hygiënisch goed ingericht en goed werkend bedrijf, daarna of de bereidingswijzen voor verbetering vatbaar waren en ten slotte, of de wijzen van contrôle, op winning of bereiding, welke bij Koninklijk Besluit en Codex Alimentarius, melk, zijn vastgelegd, wel juist en volledig zijn.

Van de verschillende producten werd het volgende bepaald:

het kiemcijfer, zijnde het aantal kweekbare microorganismen per  $\text{cm}^3$ .

het colititer, waaronder wordt verstaan die hoeveelheid melk of melkproduct, waarin juist geen colibacteriën meer kunnen worden aangetoond.



het streptococcentiter, waaronder wordt verstaan die hoeveelheid melk of melkproduct, waarin juist geen streptococci (afgezien van de soort) meer kunnen worden aangetoond.

Om na te gaan of het onderzochte product verhit was of in rauwen toestand verkeerde, werd gebruik gemaakt van de reactie van Storch.

De bepaling van het kiemcijfer geschiedde door middel van de gelatineplaatmethode. Hiertoe werd van het oorspronkelijke product of van een bekende verdunning, welke in steriel water werd gemaakt, één  $\text{cm}^3$  in de steriele petrichaal gebracht en vervolgens de voedingsbodem, alkalische bouillon met 20  $\%$  gelatine, gesmolten en bij een temperatuur van  $\pm 45^\circ \text{C}$  in de schaal gegoten en met de vloeistof gelijkmatig gemengd. Na afkoeling werden de schalen bebroed bij  $22^\circ \text{C}$  gedurende 4 maal 24 uur, daarna het aantal koloniën geteld en werd het hoogste aantal omgerekend op één  $\text{cm}^3$  oorspronkelijke stof, als het kiemcijfer aangemerkt.

In den regel werden van één monster gelijktijdig twee verdunningen ingezet om zodoende te bereiken, dat de bepaling in elk geval een betrouwbaar resultaat opleverde, bovendien werd in het begin van elke verdunning de bepaling in triplo verricht, toen voldoende routine was verkregen in duplo.

Van modelmelk werden meestal verdunningen gemaakt van 1/100 en 1/1000; van gepasteuriseerde melk 1/10 en 1/100 (soms 1  $\text{cm}^3$  direct); van koffieroom 1/10000, 1/100000 en 1/1000000.

Het colititer werd bepaald op de volgende wijze. Een gepipetteerde hoeveelheid melk of melkverdunning werd geënt in een steriele gistbuis, de buis werd daarna aangevuld met zuren bouillon, waaraan per liter was toegevoegd 5 gram lactose en 100 milligram neutraalrood. De gistbuis werd in de broedstoof geplaatst bij  $37^\circ \text{C}$  en na 24 uur, in



twijfelachtige gevallen na  $2 \times 24$  uur, beoordeeld.

Het optreden van gas en fluorescentie wijst op de aanwezigheid van *Bact.coli*. Hierbij wordt dus gebruik gemaakt in de eerste plaats van zuren bouillon als ophoopingsmiddel en in de tweede plaats van de eigenschap van *B.coli*, dat bij  $37^{\circ}$  lactose wordt vergist onder zuur- en gasvorming ( $\text{CO}_2$  en  $\text{H}_2$ ). Fluorescentie alleen treedt ook vaak op, een nader onderzoek wees uit, dat dan steeds *B.coli* afwezig was, zoodat gevoeglijk het neutraalrood uit den bovenvermelden voedingsbodem kan worden weggelaten.

Om de deugdelijkheid van de vergistingsproef na te gaan werd van elke coliproef, ongeacht de aan- of afwezigheid van gas en fluorescentie, een plaat aangelegd op Conradi-Drigalski-agar. Uit de gistbuis werd, na deze eenige malen te hebben omgeschud een oogje (= 5—7 milligram vloeistof) geënt in  $\pm 2 \text{ cm}^3$  steriel water. Hiervan een oogje geënt op een Conradi-Drigalski-plaat, met een glazen driehoekspatel dit oogje uitgestreken op de eene plaathelft, de geïnfecteerde spatel opgetild en weder uitgestreken op de 2e plaathelft. Na 24 uur bebroeden bij  $37^{\circ}$  werden de groote, roode, geïsoleerd-liggende koloniën morphologisch, zoowel als culturiëel onderzocht.

Het streptococcëntiter werd bepaald door van het te onderzoeken product verdunningen te maken en wel van 1/100 tot en met 1/10000000, daarna van elk dezer verdunningen  $1 \text{ cm}^3$  te enten op een buisje met ongeveer  $10 \text{ cm}^3$  alkalischen bouillon en 2 % glucose; en ten slotte na bebroeding bij  $37^{\circ} \text{ C}$  gedurende 24 of 48 uur van het gevormde sediment een gekleurd uitstrijk-preparaat te maken en dit op de aanwezigheid van streptococcen microscopisch te onderzoeken. Hierbij werd dus gebruik gemaakt van het feit, dat alkalische glucosebouillon een bij uitstek geschikt milieu is voor het ophoopen van streptococcen.

---



## HOOFDSTUK I.

### § 1. Eenige beschouwingen over modelmelk.

Onder modelmelk is te verstaan koemelk, welke zoodanig gewonnen en behandeld wordt, dat daarvan op redelijke gronden mag worden aangenomen, dat zij zonder gevaar voor de gezondheid rauw kan worden gedronken. Dit sluit dus in, dat men aan deze melk oneindig strengere eischen dient te stellen dan men gewoon is aan handelsmelk te stellen.

Daar het dus — zooals gezegd — de bedoeling is, dat modelmelk, als onveranderd natuurproduct rauw wordt genuttigd, is het van zelf sprekend, dat aan dit voedingsmiddel de eisch gesteld wordt, dat het „ziektekiemvrij” is; hetgeen natuurlijk niet zeggen wil, dat deze melk als „kiemvrij” is te beschouwen.

In de eerste plaats heeft men bij de winning van modelmelk ervoor te zorgen, dat zij afkomstig is van zindelijk gehouden, normaal en volkomen gezond vee; in de tweede plaats, dat het verkregen product tegen infectie zooveel als eenigszins mogelijk is, wordt behoed.

Vele onderzoekers, Klimmer<sup>1)</sup>, Lux<sup>2)</sup>, O’Heil Düren<sup>3)</sup>, Barthel<sup>4)</sup>, Burri<sup>5)</sup> e.a. hebben zich be-

---

<sup>1)</sup> Klimmer, Zeitschr. f. Tiermedizin. 6. 1902.

<sup>2)</sup> Lux, Diss. Bern 1903.

<sup>3)</sup> O’Heil Düren. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 94. 1906.

<sup>4)</sup> Barthel. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 94. 1903.

<sup>5)</sup> Burri. Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. 19e Jahrg. 1921.

zig gehouden met de vraag, of melk bij het verlaten van den uier steriel is.

In het algemeen is men tot de gevolgtrekking gekomen, dat melk, hoewel kiemvrij door de melkklier gevormd en afgescheiden reeds in uier en melkleiders wordt geïnfec-teerd. De eisch „kiemvrij” is dus bij een waar als melk on-mogelijk; te meer, omdat natuurlijk tijdens de verdere be-handeling een algeheel voorkomen van infectie door levende kiemen onmogelijk is. De aard der infectie in uier en melk-leiders kan velerlei zijn: zoo geeft bijvoorbeeld S o m m e r-f e l d op, dat in melk in den uier hoofdzakelijk aanwezig zijn staphylococcen, daarnevens bijna regelmatig, hoewel weinig, streptococcen o.a. *Streptococcus lacticus*, verder *Bact. fluorescens liquefaciens*, *Bac. subtilis*, *Bact. prodigi-osum* en *Bac. mycoides*.

## § 2. Voorschriften, welke bij de winning van model-melk in acht moeten worden genomen.

Om nu melk te winnen, welke aan hooge eischen voldoet, zal men genoodzaakt zijn de volgende voorzorgen streng in acht te nemen:

- 1e. Men moet de beschikking hebben over volkomen ge-zond en normaal vee, dat bovendien onder geregelde en strenge contrôle staat van den veearts.
- 2e. Bij aanschaffing van nieuw vee zal het noodzakelijk zijn, dat de dieren, alvorens tot de melkwinning te worden toegelaten, gedurende een bepaalden tijd, af-gezonderd van het overige vee, onder veterinaire toe-zicht worden gesteld. Eerst het na dien quarantaine-tijd door den veearts goedgekeurde vee mag worden opgesteld en bij het bedrijf worden ingelijfd.
- 3e. De dieren moeten zoodanig worden verpleegd, dat de huid steeds behoorlijk rein is, terwijl zij daarenboven,



- alvorens te worden gemolken, deugdelijk moeten worden gereinigd; met name wat het achterste gedeelte van het lichaam betreft, in het bijzonder uier, tepels, uierstreek, vooruierstreek, schaamstreek en staart. De staart behoort te worden opgebonden.
- 4e. Het voedsel moet deugdelijk van samenstelling zijn en in deugdelijken toestand verkeerem.
  - 5e. De stalling moet zoo zindelijk mogelijk zijn, de verlichting, de ventilatie, de gelegenheid tot reiniging, zoowel van stal als waschlocaal en melklocaal (indien aanwezig) en standplaatsen, moeten voldoen aan hooge hygiënische eischen.
  - 6e. De melkbocht, waar de melk gedurende den weidetijd wordt gewonnen, moet voorzien zijn van een harden bodem, welke gemakkelijk rein kan worden gehouden.
  - 7e. Het vaatwerk, waarin de melk wordt opgevangen, bewaard en vervoerd, moet niet alleen grondig gereinigd, maar bovendien gesteriliseerd worden, zoodat geen levende kiemen daarin practisch meer aanwezig zijn.
  - 8e. Het personeel in het bedrijf werkzaam, dient vrij te zijn van ziekten en aandoeningen, welke de melk kunnen besmetten en door de melk kunnen worden overgedragen; het dient dan ook onder geregeld medisch toezicht te zijn geplaatst.
  - 9e. Het melken dient te geschieden door personen, die, van zindelijke bovenkleeren zijn voorzien en met kap of pet gedekt zijn, die zich de handen deugdelijk hebben gereinigd onmiddellijk voor het melken van iedere koe.
  - 10e. Bij het melken dienen de eerste vijf stralen te worden weggemolken in een daarvoor bestemd vat.
  - 11e. De melk moet na het melken zoo spoedig mogelijk worden gefiltreerd en deugdelijk gekoeld.



- 12e. De flesschen, waarin de melk zal worden gedistribueerd, moeten van te voren worden gesteriliseerd en na vulling worden gesloten met een sluiting, welke zoo kiemvrij mogelijk is en het binnentreden van kiemen volkomen belet.
- 13e. Het water in het bedrijf gebruikt moet van onverdachten oorsprong en samenstelling zijn, omdat steeds de mogelijkheid bestaat dat, zij het dan ook sporen van dit water met de melk in aanraking komen.

### § 3. Toelichting van enkele voorschriften in § 2 genoemd.

Eenige van deze voorschriften willen wij wat nader be-  
zien. Wat betreft het onder de punten 1 en 2 genoemde  
willen wij nog opmerken, dat het noodzakelijk is dat bij de  
geringste afwijking in den gezondheidstoestand, het be-  
trokken rund uit den stal dient te worden verwijderd en de  
door het dier geleverde melk niet als modelmelk wordt ver-  
handeld.

Wat betreft het onder 3 genoemde punt bestaat er ver-  
schil in opvatting op welke wijze het reinigen van de koe  
dient te geschieden, namelijk of dit dient plaats te vinden  
met water, waarbij het dier met warm water, het beste tevens  
met zeep, wordt gewasschen om daarna met een doek te  
worden afgewreven, of wel, dat dit reinigenen droog dient te  
geschieden met een schoonen drogen doek. Dit alles heeft dus  
uitsluitend betrekking op de reiniging direct vóór het mel-  
ken. In een modelmelkbedrijf echter zal het tevens nood-  
zakelijk zijn het vee regelmatig te reinigen en te verzorgen  
door rossen en borstelen en door het kort houden der haren  
op den uier, aan den buik, in de liezen en op de flanken.

K r o o n <sup>6)</sup> heeft een methode beschreven, waarbij voor  
de dagelijksche reiniging gebruik kan worden gemaakt van

<sup>6)</sup> Kroon. Tijdschr. v. Diergeneesk. Dl. 55. 40. 1928.



een soort stofzuiger voorzien van een afneembaren roskam en rosborstel. Het voordeel is, dat de reiniging beter en sneller geschiedt en de losse haren, stof en vuil in den stofzak van het apparaat worden verzameld, zich dus niet in de lucht van het lokaal, waarin de reiniging geschiedt, verspreiden.

De reiniging met warm water lijkt uit hygiënisch oogpunt effectiever, hierbij zullen waarschijnlijk meer stof en vuil en losse haren worden verwijderd, dan bij de droge behandeling. Het zal wel zeer moeilijk, zoo niet onmogelijk zijn het voordeel van de eerste methode boven de tweede te bewijzen aan de hand van cijfers, verkregen uit bacterietellingen in melk, gewonnen van dieren, welke volgens de twee methodes behandeld zijn, tenzij het effect van de beide methodes veel verschilt. Immers de tellingen zullen moeten geschieden in een vloeistof, waarvan het bacteriegehalte zich kan wijzigen, zonder dat de onderzoeker invloed daarop kan uitoefenen.

Harold E. Ross<sup>7)</sup> refereert cijfers, ontleend aan de publicatie van W. A. Stocking, *Germicidal Action in Cow's Milk*, Connecticut Bulletin 1904. De cijfers van Stocking hebben betrekking op de vermindering van het bacteriegehalte van melk van dieren, die met een vochtigen doek afgewreven zijn aan flanken en uier, vergeleken bij het bacteriegehalte van de melk van dezelfde dieren, niet afgewreven. De vermindering van het bacterieaantal per  $\text{cm}^3$  uitgerekend als gemiddelde van 13 waarnemingen was 6342 d.w.z. van 7058 kiemen per  $\text{cm}^3$  gemiddeld, tot 716 kiemen per  $\text{cm}^3$ . Ross beveelt dan ook deze methode aan voor gewone melkbedrijven, echter het wasschen van uier en flanken voor modelmelkbedrijven.

Wat betreft het onder punt 5 genoemde is er wel geen verschil in opvatting mogelijk omtrent de stalinrichting. De

---

<sup>7)</sup> Harold E. Ross. *The care and handling of Milk*. 193. 1927.



stal zal moeten zijn een groepstal met stofdichte zoldering, waterdichten vloer, gedeeltelijk ventileerbare wanden, welke van onderen afwaschbaar zijn, goede verlichting met daglicht en kunstlicht, behoorlijke luchtverversching. De watervoorziening zal moeten geschieden met volkomen onverdacht water.

Aan punt 6 willen we nog toevoegen, dat daar, waar de mogelijkheid bestaat in den zomer het vee in het melklokaal, althans binnen, te melken, het aanbeveling verdient dit te doen. In een zoodanig werkend bedrijf blijven de eischen aan de melkbocht gesteld achterwege.

Wat de onder 7 en 12 genoemde sterilisatie van het vaatwerk en van de flesschen, waarin de melk wordt gedistribueerd, betreft, zal deze het beste geschieden in een stoomsterilisator onder verhoogden druk, echter steeds zoodanig, dat men volkomen steriliteit bereikt.

Een moeilijkheid, welke in de praktijk voorkomt, is de vraag, op welke wijze de ledige flesschen moeten worden gesloten, alvorens in den sterilisator te worden geplaatst.

Watten leenen zich voor dit doel minder goed, hoewel een watteprop uit bacteriologisch oogpunt ideaal zou zijn, bestaat de kans, dat haartjes daarvan aan den fleschhals achterblijven en den indruk verwekken, dat de hygiënische behandeling te wenschen overlaat. Men moet zich dus op andere wijze tevreden stellen; bijvoorbeeld met een losse sluiting met een metalen dekseltje, dat na sterilisatie de flesch blijft afsluiten tot op het oogenblik, waarop de flesch met melk wordt gevuld en gesloten. Het zekerste werkt men, door de flesschen rustig in den sterilisator te laten tot deze volkomen is afgekoeld. De sterilisatie der flesschen kan ook geschieden droog, gedurende  $\frac{1}{2}$  uur op  $170^{\circ}$  C; hierbij zou, mits wordt uitgegaan van droog glaswerk, een watteprop wel bruikbaar zijn, hoewel bij deze verhitte meer flesschen door breuk verloren zouden gaan.

Op het groote belang van de onder 11 genoemde koeling



is reeds voldoende door verschillende onderzoekers gewezen, zie o.a. Treffers<sup>8)</sup>); hij bepaalde de veranderingen van het kiemcijfer van in steriel vaatwerk gewonnen melk, waarbij de melk al of niet voorgekoeld, bij verschillende temperaturen werd bewaard. Een van zijn conclusies luidt, dat in melk, gedurende  $1\frac{1}{2}$  uur gekoeld op  $3-5^{\circ}$  C en daarna bij  $12^{\circ}$  C bewaard, de bactericide stoffen 24 uur langer werkzaam zijn, waardoor dus na 24 uur het kiemcijfer practisch niet hooger is dan in den aanvang.

Ten slotte dient bij punt 13 nog te worden opgemerkt, dat aan het koelwater dezen eisch niet behoeft te worden gesteld, waartegenover echter staat, dat voor koelwater, wil het koelen behoorlijk geschieden, men dieptewater zal moeten gebruiken, waarvan men toch eischen mag, dat het aan redelijke eischen voldoet.

#### § 4. Infectiebronnen.

De mogelijke bronnen van infectie vanaf het oogenblik dat de melk den uier verlaat, zijn te verdeelen in twee groepen. In de eerste plaats bestaan er infectiemogelijkheden, wanneer wordt gezondigd tegen de voorschriften. Het behoeft geen betoog, dat dit ontoelaatbaar is en dat een ieder, die medewerkt bij de verkrijging van een product, dat als rauw voedingsmiddel wordt genuttigd, zelfs als geneesmiddel waarde heeft, doordrongen zal moeten zijn van de op hem rustende verantwoordelijkheid.

In de tweede plaats bestaan er andere infectiemogelijkheden. Beginnen we met de infectiekansen van de zijde van de lucht.

In de litteratuur vindt men publicaties omtrent het bacteriegehalte en vuilgehalte van stallucht en den invloed hiervan op het bacteriegehalte van de melk. Een bepaalde hoeveelheid lucht werd door middel van een aspirator door

<sup>8)</sup> Treffers. Acad. proefschr. Utrecht. 1925.



een filter gezogen. Voor het filtermateriaal werd gebruik gemaakt van gesteriliseerd zand van een bepaalde korrelgrootte, poedervormig watervrij natriumsulfaat of gepoederde suiker. De filterinhoud werd met steriel water bedeed en hiervan het kiemgehalte bepaald.

Barthel<sup>9)</sup> deed uitgebreide onderzoeken hieromtrent, hij bepaalde het bacteriegehalte per m<sup>3</sup> lucht en tevens per cm<sup>3</sup> melk in den stal tijdens voeding met hooi en gelijktijdig melken, tijdens melken zonder voeren en tijdens melken in de buitenlucht.

Volgens hem bestond er *geen* regelmatig verband tusschen het aantal bacteriën in de lucht en in de versch gewonnen melk. Hij schreef dit toe aan de ongelijkmatige verdeling der luchtstromingen.

Een vergelijkende proef leerde hem echter, dat de luchtinfectie van invloed was op het aantal bacteriën in de melk, hij ving melk op in een steriele kolf met een nauwe opening en in een sterielen emmer en vond in de melk uit den emmer 2—129 maal zooveel bacteriën als in de melk, die in de kolf was gemolken. Barthel vond tevens, dat de bacteriën in de stallucht aangetroffen dezelfde waren als die in de melk. Freudenreich<sup>10)</sup> en Conn<sup>11)</sup> verkregen gelijklopende uitkomsten, terwijl ook Boekhout en de Vries<sup>12)</sup> een overeenkomst vonden tusschen de bacterieflora van de melk en die van de stallucht.

Koning<sup>13)</sup> verrichtte uitgebreide waarnemingen over het kiemgehalte van stallucht en komt o.a. tot de volgende conclusies:

de stalluchtinfectie is van grooten invloed op het bacteriegehalte der melk;

<sup>9)</sup> Barthel. Milchzeitung 1903.

<sup>10)</sup> Freudenreich. Revue générale du Lait I. 293.

<sup>11)</sup> Conn. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 665.

<sup>12)</sup> Boekhout en de Vries. Centralbl. f. Bakt. Abt. II Bd. VII. 817.

<sup>13)</sup> Koning. Pharm. Wkbl. 3. 1905.



door het melken wordt het bacteriegehalte der lucht nabij de koe zeer verhoogd;

het verdient aanbeveling om gedurende het melken de bacteriën op het haarkleed der koe te fixeeren of hun verspreiding tegen te gaan (Bevochtiging — Spandoeken);

een quantitatieve bepaling van het aantal microorganismen in een bepaald volumen stallucht, heeft voor de melkhygiëne minder waarde, dan de bepaling van het aantal microörganismen, die in de tijdseenheid op de eenheid van oppervlakte vallen.

Ruhle en Kulp<sup>14)</sup> onderzochten den invloed der stallucht op de melk en kwamen tot de slotsom, dat de stallucht een der bacteriebronnen is, die het kiemgehalte van de melk het minst beïnvloedt.

Harding en Prucha<sup>15)</sup> hechten waarde aan de reiniging van de huid, maar achten de infectie door stallucht gering.

Resumeerende blijkt dus, dat er wat betreft de beteekenis, welke men aan stalluchtinfectie moet hechten, verschil van meening bestaat; dat zij echter werkelijk bestaat, wordt door niemand betwijfeld; daarom is het logisch, dat de melkwinning in het algemeen en de modelmelkwinning in het bijzonder zal dienen te geschieden in een localiteit, waarbij de kans op luchtinfectie, moge zij dan niet de hoofd-infectie der melk uitmaken, zoo gering mogelijk is. De overweging, dat luchtkiemen in 't algemeen tot de onschadelijke bacteriën behooren, neemt niet weg, dat ook onschadelijke microörganismen het hare er toe zullen bijdragen om het bactericide stadium van rauwe melk te bekorten, waardoor dus sneller het stadium van groeivermeerdering der melkflora zal worden bereikt.

Teneinde zelf een indruk te verkrijgen van de verminde-

<sup>14)</sup> Ruhle and Kulp. New-York State Bul.. 1915. Vol. 409.

<sup>15)</sup> Harding and Prucha. Univ. of Illinois Agricultural Exp. St. Bull. 236. 1921.



ring der infectiekans door de lucht bij melken in daarvoor speciaal ingerichte ruimten, deden wij hierover de volgende waarnemingen.

Wij bepaalden niet de hoeveelheid kiemen per  $m^3$  lucht, het interesseerde ons alleen te weten hoeveel kweekbare kiemen in een bepaalden tijd op een bepaald oppervlak vielen.

Zooals uit de figuren (zie na blz. 82) blijkt, heeft men het noodzakelijk gevonden de reiniging van het vee, direct vóór het melken, in een apart daarvoor ingericht lokaal te doen geschieden.

De proeven werden als volgt ingericht: 2 uur vóór het voederen van het vee met hooi, dus op een tijdstip, dat de stal volkomen in rust verkeerde, werden in den stal en in de andere lokalen petrischalen met alk. bouillon agar en Conradi-Drigalski agar open neergezet gedurende 15 minuten. Op denzelfden dag werden tijdens het melken, dat gepaard ging met het voederen met hooi op dezelfde plaatsen eveneens dezelfde soort platen neergezet gedurende denzelfden tijd.

De platen werden in den stal zoo dicht mogelijk geplaatst bij het vee en in het melklokaal zoo dicht mogelijk bij de plaats, waar, wanneer het vee werd gemolken, de melk-emmer stond. Gelatineplaten waren door het groote aantal erop gevallen vervloeiërs en de daaruit volgende onnauwkeurige telling niet zoo geschikt voor het doel en werden daarom reeds na de eerste waarneming niet meer gebruikt, maar door agarplaten vervangen.

In den aanvang werden de platen bij  $37^{\circ}$  C bebroed en geteld na 2 dagen, al spoedig echter bij  $22^{\circ}$  C en geteld na 4 dagen. Deze lagere broedtemperatuur leek ons gewenscht in verband met het lagere optimum van deze luchtkiemen.

Het oppervlak der agarlaag in de petrischalen bedroeg ongeveer  $75\text{ cm}^2$ .

Hieronder volgt een overzicht van het gemiddelde (uit



5 waarnemingen) aantal kweekbare, op de platen gevallen kiemen, bebroed bij 22° C en geteld na 4 dagen.

|             |           | 2 uur voor melken | tijdens melken<br>en voeren m. hooi |
|-------------|-----------|-------------------|-------------------------------------|
| Agar        | Stal      | 785               | 906                                 |
| „           | Waschloc. | 27                | 967                                 |
| „           | Melkloc.  | 7                 | 933                                 |
| Conr. Drig. | Stal      | 135               | 127                                 |
| „           | Waschloc. | 4                 | 117                                 |
| „           | Melkloc.  | 4                 | 107                                 |

Uit deze getallen blijkt, dat de invloed van het voeren met hooi tijdens het melken, zoodanig is, dat het gebruik van waschlocaal en melklocaal in 't geheel geen voordeel geeft. Merkwaardig is wel het geringe verschil van de cijfers in den stal, terwijl deze in rust verkeerde en terwijl er werd gevoerd; hierbij dient nog te worden opgemerkt, dat tijdens de waarnemingen in den rusttoestand de deuren tusschen de verschillende lokalen even vaak werden geopend als tijdens het melken, om den toestand tijdens het melken zooveel mogelijk nabij te komen.

Het is mogelijk, dat de geïnfecteerde stallucht, die warmer is dan de lucht in melk- en waschlocaal, waardoor dus tijdens het openen der tusschendeuren convectiestroomingen ontstaan, wordt vervangen door de in bacteriologischen zin zuiverder lucht van wasch- en melklocaal.

Het verschil in koloniënaantal tusschen de agar en de Conr. Drig. agar platen vindt haar oorzaak in de selecteerende werking dezer laatste voedingsbodem, het meeren-deel der hierop gegroeide organismen waren sporendragers.

Door het staken van het voeren met hooi tijdens het melken en het vervangen daarvan door voeren met vochtig lijnmeel, werd een verandering ten gunste verkregen.

|      |           | 2 uur voor melken | tijdens melken |
|------|-----------|-------------------|----------------|
| Agar | Stal      | 739               | 898            |
| „    | Waschloc. | 3                 | 258            |
| „    | Melkloc.  | 5                 | 53             |

|                  |    |    |
|------------------|----|----|
| Conr. Drig. Stal | 52 | 30 |
| „ Waschloc.      | 0  | 26 |
| „ Melkloc.       | 0  | 5  |

Het voordeel van het gebruik van beide lokalen komt nu goed tot uiting, wederom zien we een geringe stijging in den stal, nu wel te verklaren door het transporteeren van het vee, waardoor ook de stijging van het kiemcijfer in de andere lokalen moet worden verklaard (luchtstroomingen).

Beide bovenstaande tabellen hebben betrekking op den stal, gebouwd volgens fig. 1.

In den weidetijd kan desgewenscht het vee worden gewasschen en gemolken in de melkbocht, welke dan aan bepaalde eischen, zie onder ten 6e, hoofdstuk I § 2 moet voldoen. Ook hier zal onverdacht water aanwezig moeten zijn en in elk geval een gebouwtje, waarin melkgereedschap e.d. kunnen worden bewaard. Ook dit gebouwtje moet aan hygiënische eischen voldoen. Het verdient echter ten zeerste aanbeveling, zoo dit tenminste eenigszins doenlijk is, ook in den zomer het vee binnenshuis te wasschen en te melken. Onnoodig transport van melkgereedschap wordt dan zoo veel mogelijk vermeden, terwijl de kans op luchtinfectie geringer is.

Ook hierover werden waarnemingen gedaan op geheel analoge wijze als boven beschreven met dit verschil, dat in plaats van in den stal, nu platen buiten werden neergezet. De inrichting was zooals fig. 2 die aangeeft.

Hier volgt een overzicht van het gemiddelde (5 waarnemingen) van de gevonden waarden.

|             |           | 2 uur voor melken | tijdens melken |
|-------------|-----------|-------------------|----------------|
| Agar        | Buiten    | 87                | 287            |
| „           | Waschloc. | 9                 | 66             |
| Conr. Drig. | Buiten    | 49                | 92             |
| „           | Melkloc.  | 4                 | 16             |
| „           | Waschloc. | 9                 | 28             |
| „           | Melkloc.  | 1                 | 6              |



Uit de cijfers blijkt, dat de aanwezigheid van het vee in de melkbocht in een sterk verhoogd cijfer tot uiting komt en dat, hoewel tijdens het melken ook in wasch- en melk-locaal hogere cijfers werden gevonden, bij het melken binnenshuis de kans op directe en indirecte luchtinfectie van de melk aanmerkelijk kleiner wordt. Bovendien heeft men bij melken binnenshuis een beter overzicht en contrôle op den algeheelen gang van zaken.

Ten slotte dient nog te worden opgemerkt, dat bij regenweer geen waarnemingen werden gedaan.

In den winter was in dezen zelfden stal de toestand niet zoo gunstig als in die, gebouwd volgens fig. 1, zooals het volgende overzicht laat zien.

|             |           | 2 uur voor melken | tijdens melken |
|-------------|-----------|-------------------|----------------|
| Agar        | Stal      | 840               | 874            |
| „           | Waschloc. | 41                | 516            |
| „           | Melkloc.  | 25                | 350            |
| Conr. Drig. | Stal      | 175               | 210            |
| „           | Waschloc. | 10                | 168            |
| „           | Melkloc.  | 2                 | 90             |

Nu is deze stal uit hygiënisch oogpunt beschouwd wel iets minder goed ingericht, maar hetgeen van meer betekenis is, er bestaat telkens als een koe is gemolken en naar haar plaats teruggaat de mogelijkheid van infectie van de lucht in het melklocaal met lucht uit den stal.

Wij geven aan een inrichting volgens fig. 1 dan ook de voorkeur, omdat wij meenen, dat hierbij deze infectie steeds veel geringer is.

Hoewel in het algemeen niet werd gelet op de soort organismen, welke op de luchtkiemplaten werden aangetroffen, gelukte het ons eenige malen, om op een plaat uit den stal *B. coli* aan te toonen. Hiertoe werden de platen met eenige cm<sup>3</sup> steriel water bedeed en werden na eenig heen



en weer zwenken van de afgeschudde emulsie eenige oogjes geënt op een gistbuis met zuren neutraalrood lactose bouillon. Na 24 uur bebroeden werden uit de positief uitgevallen buizen, Conradi-Drigalski platen aangelegd en de hierop groeiende coli-achtige koloniën nader als *B. coli* geïdentificeerd.

Gedeeltelijk kan men ook de luchtinfectie teniet doen door te melken in een speciaal voor dit doel geconstrueerden melkemmer, waardoor men de kans van invallen van microorganismen aanmerkelijk kan verminderen. Deze melk-emmers beletten echter nog niet, dat er een luchtstrooming ontstaat, zoodat toch stallucht, dus bacteriën in den emmer kunnen binnentreden; als gevolg van het feit, dat de melk in den emmer warmer is dan de omgeving; hoewel dit euvel gedeeltelijk nog is op te heffen door een gesteriliseerde zeef met wateschijf in de monding van den emmer te plaatsen.

Bij melken in den stal is niet uitgesloten een tweede infectiekans, welke bij melken in een speciaal daarvoor ingerichte ruimte veel geringer is, n.l. een infectie van de zijde van den bodem, van het melkgereedschap en den melker.

Immers het zal zonder meer duidelijk zijn, dat men in een stal nimmer die reinheid zal kunnen bereiken, welke men in een melklocaal zonder veel moeite bereiken kan.

Als derde infectiemogelijkheid komt in aanmerking de sluiting der flesschen. Deze sluiting is een probleem, dat uit hygiënisch oogpunt bezien moeilijkheden kan opleveren. Bijna algemeen vindt men in ons land toegepast een kartonnen schijfje, hetwelk in den fleschhals gedrukt is, terwijl om kartonnetje en fleschhals een capsule is bevestigd. Meestal zijn deze kartonnen schijfjes geparaffineerd, oorspronkelijk waarschijnlijk om te verhoeden, dat ze vochtig werden en niet meer goed zouden afsluiten, er wordt echter bovendien mee bereikt, dat de infectie van de melk veel geringer wordt, vooral doordat de paraffine nog heet op



het papier is gebracht en de schijfjes zindelijk worden verpakt.

In een melkbedrijf werden gebruikt in rollen verpakte en onverpakte kartonnetjes, beide soorten geparaffineerd door den leverancier. De onverpakte werden in een kistje met deksel bewaard. Eenige malen werd door ons onderzocht hoeveel bacteriën aan deze beide soorten kleven. Hiertoe werden eenige kartonnetjes met een steriele pincet in een steriele petrischaal gelegd, een bekende hoeveelheid steriel water hierin gegoten. Met een gesteriliseerd penceel werden de kartonnetjes afgewreven onder water, van dit water gelatineplaten aangelegd en bebroed bij  $22^{\circ}$  gedurende 4 dagen.

Het aantal kiemen van de verpakte schijfjes was gemiddeld 8 kiemen per  $\text{cm}^2$ , van de onverpakte gemiddeld 150 per  $\text{cm}^2$ . Het veel hogere kiemcijfer van de onverpakte moet wel haar oorzaak vinden in luchtinfectie. De cijfers geven een indruk van het voordeel, dat het gebruik van verpakte, geparaffineerde kartonnetjes oplevert.

---

## HOOFDSTUK II.

### § 1. De eischen aan modelmelk gesteld.

De *Codex Alimentarius*<sup>16)</sup> stelt den eisch, dat in modelmelk per  $\text{cm}^3$  niet meer dan 50.000 kweekbare kiemen mogen voorkomen en bedoelt dit getal als contrôle op deugdelijkheid van bereiding en bewaring, mede van den toestand en van den ouderdom.

In de eerste plaats stelden wij een onderzoek in naar de vraag, in hoeverre aan den eisch van den *Codex* al dan niet gemakkelijk is te voldoen. Het algemeen gevoelen, althans van de zijde der keuringsdiensten was wel is waar, dat aan dezen eisch gemakkelijk is te voldoen, echter een gedurende langen tijd achtereen volgehouden onderzoek zou nog duidelijker hier uitspraak kunnen doen. Wij werden in de gelegenheid gesteld, geregeld eenige modelbedrijven, waarvan het product werd onderzocht, te bezoeken en op deze wijze was het ons mogelijk afwijkingen, welke zich demonstreerden in een plotselinge stijging van het kiemcijfer, op het spoor te komen.

Onze waarnemingen strekken zich uit over drie jaar en werden regelmatig al die jaren voortgezet.

### § 2. De wijze, waarop in ons land wordt getracht modelmelk te winnen en het kiemcijfer van deze melk.

De *Codex Alimentarius* No. 1 voor melk heeft geen eischen opgenomen omtrent winningswijze en stalinrichting, evenmin als het *Melkbesluit*<sup>17)</sup>.

<sup>16)</sup> *Codex Alimentarius*. No. 1. Melk. 3e druk. 1920.

<sup>17)</sup> *Melkbesluit*. Staatsblad 43. 1929.



Men is er klaarblijkelijk voor teruggeschrikt het aanvankelijk project der cie ex. art. 17 der Warenwet te aanvaarden, dat wel degelijk minimum eischen stelde aan de stallen. Het is zeker te betreuren, dat men hiertoe niet direct is overgegaan, omdat niet alleen voor modelmelk, maar ook voor melk in 't algemeen de contrôle dient aan te vangen op de plaatsen van winning, terwijl bovendien geen redelijke bezwaren zijn te opperen indien die eischen aan nieuwbouw worden gesteld.

Er bestaat nog steeds verschil van inzicht wat betreft de vraag of het vee al dan niet in den stal kan en mag worden gemolken. In den laatsten tijd n.l. ziet men wel gepropageerd de mogelijkheid ook in minder zindelijke en minder nauwlettend gereinigde omgeving melk te winnen, waaraan men den naam modelmelk geeft. De voorstanders van deze werkwijze beschouwen het wasschen en melken van het vee in daarvoor speciaal bestemde localiteiten als geheel overbodig en zien hierin factoren, welke de inrichting en instandhouding van een modelbedrijf onnoodig kostbaar maken, waardoor de prijs van het product onnoodig wordt verhoogd.

Hoewel het feit, dat eerst de grootst mogelijke voorzorgen worden in acht genomen, als sterilisatie van vaatwerk, reinigen van het melkvee, wasschen der handen voor elke melking van den melker enz., gevolgd door de winning van het product in den stal, in een omgeving welke men onmogelijk als volkomen rein kan beschouwen ondanks de daartoe genomen hygiënische maatregelen, vreemd aandoet, is het gebleken uit cijfers, welke ons door Prof. v. Oyen welwillend werden verstrekt en welke hierna zullen worden vermeld, dat men op deze wijze in staat is, melk te winnen welke aan hooge hygiënische eischen voldoet, hoewel zij in sommig opzicht achterstaat bij melk gewonnen op een wijze, welke men in de zoogenaamde kostbare modelbedrijven toepast.



We willen de gevolgde werkwijzen van de bedrijven waarover cijfers in deze en in de volgende par. vermeld, hier nader uiteenzetten.

#### WERKWIJZE BEDRIJF A., gebouwd volgens fig. 1.

Van de punten, vermeld in hoofdstuk I § 2 wordt *niet* in acht genomen punt 6, omdat in de melkbocht niet wordt gemolken, maar deze in den zomer slechts als verzamelplaats voor het vee dient.

De dieren goed gereinigd, in een zindelijken stal, met opgebonden staarten, worden in het waschlocaal gereinigd met warm water volgens punt 3, daarna gevoerd naar het melklocaal, na het melken direct naar hun standplaats teruggevoerd. Het handmelken geschiedt bij één of twee dieren tegelijk. Toen wij ons onderzoek aanvingen, werd gemolken in een sterielen trechter, voorzien van een gesteriliseerde zeef. De trechter paste in een metalen buis, welke de melk afvoerde naar een in den kelder staanden, gesteriliseerden koeler. De melk werd tenslotte opgevangen in een gesteriliseerd vat en hieruit in gesteriliseerde flesschen, welke meteen werden gesloten, afgetapt.

Na eenigen tijd werd deze werkwijze gewijzigd en gemolken in een emmer met vernauwde opening, voorzien van een filter. Uit den emmer werd de melk overgestort in den koeler, waarna de vulling der flesschen op dezelfde wijze plaats vond. Des zomers wordt het vee gemolken in bedrijf B.

#### WERKWIJZE BEDRIJF B., gebouwd volgens fig. 2.

Hier wordt gewerkt als boven beschreven, het benoodigde steriele vaatwerk wordt aangevoerd over pl.m. 2 km. in een gesloten wagen. De koeling der melk en het vullen der flesschen geschiedt in het melklocaal.

#### WERKWIJZE BEDRIJF C., gebouwd volgens fig. 3.

Aan de punten, genoemd in hoofdstuk I § 2 werd niet streng de hand gehouden. De reiniging van het vee vóór



het melken geschiedde in den stal evenals het melken. De stal was uit hygiënisch oogpunt niet „model” ingericht. De kleeding van het personeel liet nu en dan aan reinheid te wenschen over. In dit bedrijf werd met een melkmachine gemolken.

Wat ons direct in den aanvang opviel, was het feit, dat in dit bedrijf, waar met een melkmachine werd gemolken, steeds zeer uiteenlopende kiemcijfers optraden, heel vaak veel hooger uitvallend dan het geoorloofde maximum.

Daar dit bedrijf op een geheel andere leest was geschoeid, meer met het bedrijf ingericht volgens D overeenstemde, werd de oorzaak eerst in die richting gezocht, ten slotte echter bleek de melkmachine ten deele althans, oorzaak te zijn van de sterk schommelende cijfers.

De metalen machinedeelen werden steeds gesteriliseerd, de rubber onderdeelen werden, omdat ze de sterilisatie slechts korten tijd doorstonden, na het melken grondig uitgespoeld en nu en dan, meestal eens per week, met een sodaoplossing uitgekookt. Na deze laatste behandeling was het kiemcijfer van de melk wel  $< 50.000$ , vaak zelfs  $< 10.000$  d.w.z. den eersten dag na de behandeling met sodaoplossing; daarna ging het kiemcijfer omhoog om na eenige dagen te stijgen tot boven 50.000, de stijging vond dus gedeeltelijk haar oorzaak in de infectie, veroorzaakt door de onvoldoend gereinigde rubberonderdeelen der machine.

Hiermede is duidelijk gebleken, dat men in een modelbedrijf met een melkmachine werkend de grootst mogelijke voorzorgen in acht zal moeten nemen, daar men bij de melkproductie een toestel betreft, dat door zijn gecompliceerden bouw moeilijk is te reinigen en daardoor groote infectiekansen biedt.

#### WERKWIJZE BEDRIJF D.

Deze werkwijze werd blijkbaar gesuggereerd door het succes van de methode van R. Stenhouse Williams,



welke te Reading in Engeland wordt gevolgd. Daar de resultaten van de te Reading gevolgde methode in sommige opzichten merkwaardig zijn, volgt hier een beschrijving, verkort overgenomen uit een publicatie van v. O y e n <sup>18)</sup>.

De stalinrichting is eenvoudig. De dieren staan op een verharde plaats, waarachter een ondiepe groep; het inwendige houtwerk, de wanden en het rieten dak zijn met kalk bespoten. Er werd naar gestreefd om met zoo weinig mogelijk onkosten den stal te verbeteren. v. O y e n geeft echter toe, dat hoe beter de stal is ingericht, des te gemakkelijker hij zindelijk kan worden gehouden en des te gemakkelijker men zuivere melk kan winnen.

Het vee werd in den aanvang getuberculineerd en de reagerende dieren verwijderd.

De haren van de achterhand der koeien worden kort gehouden. De staart wordt niet opgebonden, noch bij het melken vastgemaakt, de staartpluim wordt dagelijks gewasschen en gekamd. Telkens vóór het melken wordt de achterhand met schoon water geheel gewasschen en met een vochtigen doek worden uier en omgeving afgeveegd, zoodat geen druppels water meer aan het haar hangen. Het haarkleed laat men echter vochtig, waardoor geen stof of huidschilfers in den emmer vallen. De melkers dragen schoone kleeven, meest wit en witte mutsen. Groote betekenis wordt gehecht aan het reinigen der handen, vóór elke melking.

Een belangrijk onderdeel van het proces is, dat melkstoel, melkemmer met kleine opening en alle verdere voorwerpen, waarmede de melk in aanraking komt of kan komen, op de boerderij telkens voor het gebruik en na deugdelijke reiniging in stoom worden gesteriliseerd.

De melk wordt door een steriele wattenschijf gefiltreerd en gekoeld, zoo snel mogelijk, tot 10—15° C.

---

<sup>18)</sup> v. Oyen. Hand. v. h. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde 1923. III.



De omstandigheden zijn te Reading in enkele opzichten anders dan in ons land. Het vee komt alleen in de maanden Januari tot Mei, meestal 's nachts, op stal, waardoor de stal gemakkelijker is te reinigen, de dieren komen in den regel voor het melken naar den stal, waardoor men tijdens het melken beschut is o.a. tegen opgewaaid stof, terwijl alle benodigde gereedschappen bij de hand zijn.

Aan het water in het bedrijf gebruikt, wordt niet die eischen gesteld, die men aan drinkwater stelt.

De contrôle, waaraan het product wordt onderworpen, bestaat uit: de bepaling van het kiemcijfer, waarbij gebruik wordt gemaakt van vleeschextract agar met een  $\text{pH} \pm 6.8$ : men broedt  $5 \times 24$  uur bij  $22^\circ$  (of  $2 \times 24$  uur bij  $37^\circ$ );

als coli proef ent men 1,  $1/10$  en  $1/100$   $\text{cm}^3$  melk in bouillon, waaraan toegevoegd melksuiker en lakmoes, en zet van elke concentratie één proef in.

De wettelijke eischen, welke men aan deze melk, welke als „Grade A” melk wordt verhandeld, stelt, zijn, dat bij aflevering aan den consument niet meer dan 200.000 kiemen per  $\text{cm}^3$  aanwezig mogen zijn en dat in  $1/100$   $\text{cm}^3$  geen *B. coli* meer aantoonbaar mag zijn, terwijl het in de bedoeling lag deze eischen te herzien, zoodra voldoende ervaring zou zijn verkregen.

V a n O y e n bespreekt de wenschelijkheid om deze wijze van winning als grondslag te laten dienen voor een hier te lande op te bouwen systeem, oefent tevens critiek uit n.l. wat betreft de volgende punten.

Hoewel is voorgeschreven, dat de eerste stralen moeten worden weggemolken, gebeurt dit blijkbaar toch niet.

Het diergeneeskundig toezicht op het vee moet strenger zijn. De bacteriologische contrôle, waarbij het resultaat eerst na 2 of na 5 dagen waarneembaar is, kan een meer preventieve kracht bezitten als de kiemcijferbepaling wordt uitgevoerd door middel van de methode van F r o s t (de kleine plaat-methode).



Katalaseproef en sedimentproef dienen te worden ingezet.

Sinds eenige jaren nu bestaan in ons land bedrijven, waar de werkwijze in principe met de bedrijven te Reading overeenkomt. De stal is zindelijk, voorzien van groep en verharde standplaatsen. De zoldering is stofdicht en wordt evenals de wanden, behoorlijk rein gehouden. De maatregelen, welke bevorderlijk zijn aan het zindelijk melken, worden stipt uitgevoerd. Het vee is zindelijk gehouden en gezond. Op den algemeenen gezondheidstoestand van het vee wordt nauwkeurig acht gegeven en de melk regelmatig door kataseproef en sedimentonderzoek gecontroleerd. De melkers zijn zindelijk gekleed en vakkundig. Het personeel staat onder medische contrôle. Het melkgerei wordt gesteriliseerd, de flesschen goed gereinigd en daarna gesteriliseerd. De melk wordt voor het aftappen in de flesschen gekoeld tot 12 à 13° C. De bacteriologische contrôle wordt verricht in het laboratorium van Prof. v a n O y e n. Het kiemcijfer wordt bepaald door middel van de kleine plaatmethode, het coligehalte wordt bepaald door middel van druivensuiker-gal-bouillon.

Hier volgt een overzicht der kiemcijfers, de waarden onder A en B en onder C hebben betrekking op den geheelen duur van ons onderzoek; die onder A<sup>1</sup> en B<sup>1</sup> zijn betrokken over het laatste onderzoekingsjaar; die onder D zijn betrokken op waarnemingen in het laboratorium van Prof. v. O y e n verricht gedurende 3 jaar, gemiddeld 3 keer per week; onze eigen waarnemingen gebeurden van A en B gemiddeld 1 keer per week, zoo ook van C.

| Kiemcijfer | A en B | A <sup>1</sup> en B <sup>1</sup> | C      | D      |
|------------|--------|----------------------------------|--------|--------|
| > 50000    | 17 0/0 | 0 0/0                            | 38 0/0 | 4 0/0  |
| < 50000    | 83 0/0 | 100 0/0                          | 62 0/0 | 96 0/0 |

Het aantal monsters, dat wat het kiemcijfer betreft voldeed aan den eisch van den Codex, was nog als volgt te verdeelen:



| Kiemcijfer | A en B | A <sup>1</sup> en B <sup>1</sup> | C      | D      |
|------------|--------|----------------------------------|--------|--------|
| < 25000    | 93 0/0 | 93 0/0                           | 47 0/0 | 93 0/0 |
| < 10000    | 89 0/0 | 93 0/0                           | 40 0/0 | 79 0/0 |

De cijfers onder D zijn niet volkomen vergelijkbaar met de andere, omdat de bepaling van het kiemcijfer op andere wijze geschiedde. Wij meenen, dat men aan modelmelk op den duur den eisch moet stellen, dat het kiemcijfer < 25000 per cm<sup>3</sup> bedraagt.

Voor bedrijfscontrôle zal men dan moeten eischen een kiemcijfer < 10000 per cm<sup>3</sup>.

### § 3. Het colititer van modelmelk.

De Codex let bij bacteriologisch melkonderzoek niet op een organisme, dat in melk altijd voorkomt en dat vooral in den laatsten tijd meer onder de aandacht is gevallen, n.l. het *Bacterium coli*, dat soms verantwoordelijk wordt gesteld voor ziekten bij zuigelingen. Plantenga<sup>19)</sup> zegt o.a. dat men langen tijd niet aan de gevaarlijkheid van den colibacil voor den mensch heeft willen gelooven, omdat de colibacil ten allen tijde als gast in grooten getale in het maagdarmkanaal van mensch en dier wordt aangetroffen. Zij komt echter in hoofdzaak voor in den dikken darm, gaat zij echter in den dunnen darm woekeren, dan wordt zij door de door haar afgescheiden giftige stoffen een gevaar voor de gezondheid. Het colitoxine wordt door koken niet onschadelijk gemaakt.

Het *Bacterium coli* is in handelsmelk een normale bacterie, d.w.z. komt er in vrij groote hoeveelheden in voor, men kan het nagenoeg steeds aantoonen in 0.01 cm<sup>3</sup> melk. Ook in modelmelk is dit organisme aanwezig, hoewel in veel geringer mate. Hier is dus een duidelijk verschil gelegen tusschen gewone- en modelmelk en zal men een quan-

<sup>19)</sup> Plantenga. Tijdschr. v. Sociale Hygiëne. 28e Jaarg. No. 5.



titatieve grens kunnen stellen; die grens is te bepalen door een bepaalde hoeveelheid melk te onderzoeken op de aanwezigheid van dit organisme. Hoe grooter de hoeveelheid onderzochte melk is, welke geen coli bevat, des te reiner is de melk.

Daar de aanwezigheid van coli in melk practisch gesproken altijd haar oorzaak vindt in verontreiniging met runderfaecaliën zou men bovendien nog een maatstaf kunnen invoeren voor andere organismen van faecalen oorsprong, b.v. *Streptococcus lacticus* en *Bacillus butyricus*, maar deze beide laatsten leenen zich niet zoo goed voor het doel. *Streptococcus lacticus* in melk voorkomend is n.l. ook van anderen dan faecalen oorsprong, zoodat het aantal streptococcen per  $\text{cm}^3$  b.v. niet een juist beeld kan geven van de faecale infectie. Daar *Bac. butyricus* in veel geringer hoeveelheid in faecale stoffen voorkomt dan *Bact. coli*, zou men een grootere hoeveelheid melk moeten onderzoeken op de aanwezigheid van *Bac. butyricus* en is de grens niet zoo scherp te stellen als bij *Bact. coli*; immers bij het aantoonen van een bepaald organisme in een bepaalde hoeveelheid vloeistof zal men, omdat het organisme niet homogeen in de vloeistof is verdeeld, grootere fouten kunnen verwachten, naarmate het organisme in minder mate voorkomt. De aanwezigheid van *B. coli* in een bepaalde hoeveelheid melk zal dus, evenals het aantal kweekbare microörganismen per  $\text{cm}^3$  een maatstaf zijn bij de beoordeeling van de meer of mindere deugdelijkheid der melkwinning; gedurende het onderzoek bleek ons dan ook, dat men in het voorkomen van coli een minstens even belangrijk criterium heeft als in het kiemcijfer.

Hoewel men zou mogen verwachten een paralellisme tusschen het kiemcijfer en het colicijfer, wordt dit nochtans niet steeds gevonden. Wij meenen deze schijnbare tegenstrijdigheid zoo te moeten opvatten, dat het *Bact. coli* een indicatororganisme is op al of niet reine behandeling van



het melkvee, het aantal kweekbare kiemen per  $\text{cm}^3$  een aanwijzing geeft op de al of niet reine behandeling en op den aard der sterilisatie van het vaatwerk. Immers in melk is op het oogenblik van het verlaten van den uier, bij gezond vee, geen coli aanwezig, de infectie, teweeggebracht door het niet behoorlijk gereinigde dier, zal o.a. een coli-infectie zijn, de infectie teweeggebracht door het niet behoorlijk gereinigde en onvoldoende gesteriliseerde vaatwerk, zal geen coli-infectie behoeven te zijn, als men slechts bedenkt, dat coli in den regel zelfs pasteurisatie niet doorstaat van  $\frac{1}{2}$  uur op  $75^\circ$ , tegen temperatuursverhooging dus weinig resistent is.

Hoewel de Codex Alimentarius geen eisch heeft opgenomen wat betreft het voorkomen van *Bact. coli* in modelmelk leek het ons van belang om na te gaan welke eischen men redelijkerwijs mag stellen of liever gezegd, welke de hoeveelheid modelmelk is, waarin men, bij een goede melkwinning juist geen coli meer vindt.

We wenschen echter op het verschil te wijzen, dat bestaat tusschen de coliproef in melk en die in drinkwater. Bij drinkwater is de coliproef bedoeld om een faecale verontreiniging op te sporen en aan te toonen, wordt feitelijk bedoeld als een indicator voor de mogelijke aanwezigheid van voor den mensch pathogene bacteriën, in het bijzonder *B. typhus*, *paratyphus* en dergelijke. Bovendien wordt bij drinkwateronderzoek de vergisting van lactose bij  $37^\circ$  alsmede die van glucose bij  $45^\circ$  betrokken, de laatste in het bijzonder bedoeld als indicator op de aanwezigheid van coli-organismen afkomstig uit het darmkanaal van warmbloedige dieren.

Het is ons gebleken, dat bij melk de lactosevergisting bij  $37^\circ$  samengaat met de glucosevergisting bij  $45^\circ$ , m.a.w. dat het *Bact. coli* in melk voorkomend steeds van faecalen oorsprong is. Men dient echter in het oog te houden, dat de faecale verontreiniging bij melk doorgaans van dierlijke



afkomst is, en alleen bij gebruik van ondeugdelijk spoelwater en onvoldoende reinheid ook van menschen afkomstig kan zijn.

Dat de vergisting van lactose in zuur milieu bij 37° onder zuur- en gasvorming niet alleen door *B. coli* kan worden veroorzaakt, bleek ons reeds in den aanvang van het onderzoek; dit is een bekend feit, de merkwaardigheid lag dan ook hierin dat andere lactosevergistende organismen in melk aanwezig bleken te zijn.

Het bleek ook, dat wanneer de vergistingsproef bij 37° geen gas vertoonde, *B. coli* steeds afwezig was, althans tot de coli-groep behorende organismen. Was in de gistbuis gas ontstaan, dan werd in de meeste gevallen *B. coli commune* of *communior* aangetoond; ook kwam het voor, dat de gasvorming soms zijn ontstaan dankte aan de aanwezigheid van *B. lactis aerogenes*, ten slotte kwamen overgangsvormen voor, organismen welke volgens hun culturiëele en morphologische eigenschappen tot de coligroep behooren, echter geen coli, noch aerogenes waren.

Hier volgt een overzicht van de gevonden organismen, bij de indeeling is gedeeltelijk gebruik gemaakt van de indeeling van Mac Conkey zie o.a. Prescott and Winslow<sup>20)</sup>.

|                            | Indol | Sacch.<br>lakm. pept. | Dulc.<br>lakm. pept. | Meth.<br>rccd | Vosges<br>Prosk. |
|----------------------------|-------|-----------------------|----------------------|---------------|------------------|
| <i>B. coli communior</i> . | +     | z+g                   | z+g                  | +             | —                |
| „ „ (-D.L.P.)              | +     | z+g                   | —                    | +             | —                |
| „ commune (-Indol)         | +     | z                     | z+g                  | +             | —                |
| „ „                        | +     | z                     | z+g                  | +             | —                |
| <i>B. lact. aerog.</i>     | —     | z+g                   | —                    | —             | +                |
| „ „ (+ Indol)              | +     | z+g                   | —                    | —             | +                |
| <i>B. acidilactici</i>     | +     | —                     | —                    | +             | —                |

Volgens Weigmann<sup>21)</sup> komt *B. lactis aerogenes*

<sup>20)</sup> Prescott and Winslow. Elements of Water Bacteriology with special reference to sanitary Water Analyses 1913.

<sup>21)</sup> Weigmann. Pilzkunde der Milch. 1924.



slechts zelden voor in menschen- of runderfaecaliën, maar algemeen in den bodem of aan voorwerpen, waaraan aarde vastkleeft.

Volgens de onderzoeken van Mac Conkey en Clemensha<sup>22)</sup> is de bewering van Weigmann niet houdbaar, beiden vonden in menschen- en runderfaeces verschillende organismen uit de coligroep, waaronder ook en niet zelden *Bact. lactis aerogenes*. Meerdere malen konden wij uit een melkmonster *Bact. lactis aerogenes* isoleeren, zoodat wij meenen Weigmann's uitspraak althans voor die melkbedrijven, waarvan wij melk in onderzoek namen, te moeten betwijfelen, en het ligt niet voor de hand aan te nemen, dat deze bedrijven, althans voor ons land, tot de uitzonderingen behooren.

Het onderzoek van melk op faecaalorganismen, zooals boven beschreven, zou voor de practijk te veel tijd vorderen, men kan zich echter tevredenstellen met de gistproef en aan het resultaat van deze proef de aan- of afwezigheid van faecaalorganismen vaststellen.

Voor het onderzoek van kleine hoeveelheden melk, d.w.z. niet meer dan 0.1 cm<sup>3</sup> kan men zich bedienen van gewone cultuurbuizen, gevuld met 10 cm<sup>3</sup> van den voedingsbodem, waarin zich bovendien bevindt een aan één zijde togesmolten buisje, met de opening naar den bodem der cultuurbuis. Treedt nu gasontwikkeling op, dan vormt zich in het kleine buisje een gasbel.

Wij hebben nog pogingen gedaan om direct op een plaat entende met uitschakeling van de gistbuis dus, het faecaaltiter te bepalen. Hiertoe bedienden wij ons van Conradi-Drigalski agar als voedingsbodem. Op twee verschillende wijzen is dit te doen, men kan de melk of melkverduunning in de petrischaal enten en de agar, afgekoeld tot 45°, in de schaal gieten of wel, men giet eerst de plaat, laat deze afkoelen, ent de melk op de agar en strijkt met een glazen

<sup>22)</sup> Clemensha. The Bacteriology of Surface Waters in the Tropics. 1912.



driehoekspatel de vloeistof over de agar uit. De eerste methode heeft het nadeel, dat koloniën in de agar liggend, niet hun typische vorm vertoonen; en de eerste dagen niet bereikbaar zijn; de tweede wijze van werken heeft het nadeel, dat aan den spatel een klein gedeelte van de vloeistof blijft kleven, waardoor de kans bestaat, dat faecaalorganismen aan de plaat worden onttrokken en de proef dus niet geheel als quantitatief is te beschouwen. De tweede methode geeft echter platen, waarop men de faecaalorganismen mooier en beter te zien krijgt, het is hierbij zeer gewenscht de platen gedurende minstens 12 uur vooraf in de broedstoof te drogen. Als lactosevergisters vindt men de faecaalorganismen als groote, roode koloniën op de plaat na 24 uur broeden bij  $37^{\circ}$  C.

Een bezwaar van de gevolgde werkwijze is, dat men hoogstens  $0.1 \text{ cm}^3$  vloeistof op de platen kan enten, daar de vloeistof anders niet door den voedingsbodem wordt opgenomen; hierin ligt dus opgesloten, dat de methode niet bruikbaar is voor melkmonsters met een colititer hooger dan 0.1; ze is zooals we zullen zien niet bruikbaar voor modelmelk en gepasteuriseerde melk.

Naar aanleiding van de kleine plaatmethode volgens Frost-van Oyen-Clarenburg<sup>23)</sup> hebben wij getracht de bovenvermelde plaatmethode als kleine plaatmethode te bezigen. Hiertoe werd  $0.1 \text{ cm}^3$  melk of melkverduunning gegent op het kleine plaatje (een voorwerpglas, waarop met een waspotlood 2 rechthoekjes zijn geteekend van ongeveer  $2 \times 2 \text{ cm}$ ), hierbij gevoegd 3 druppels Conradi-Drigalski agar en daarna de vloeistoffen zoo goed mogelijk gemengd met een naald. Tijdens deze bewerkingen wordt het plaatje op  $45^{\circ}$  gehouden, daarna in horizontalen stand tot stolling gebracht en in een vochtige kamer 24 uur bebroed bij  $37^{\circ}$ .

Het bleek echter, dat de kleur van de Conradi-Drigalski

---

<sup>23)</sup> Clarenburg. Acad. proefschrift. Utrecht 1925.



agar door het verdunnen te flets was en de laag voedingsbodem te dun om een duidelijke roode kleur aan de koloniën van faecaalorganismen te voorschijn te roepen. Aannemende, dat toch zuur was gevormd uit lactose probeerden wij de plaatjes te drogen en na te kleuren met lakmoestinctuur, maar ook dit gaf geen goede resultaten, een bezwaar was, dat de agar-melklaag tijdens de bewerking losliet.

Als voedingsbodem voor de kleine plaatjes werd nu nog aangewend Endo-agar, zure agar, waaraan toegevoegd 0.1 % phenol en 0.5 % lactose en zure agar waaraan toegevoegd 0.5 % lactose en 0.1 ‰ neutraalrood. De beide laatste voedingsmilieu's gaven geen bevredigende resultaten. De Endo-agar echter bleek voor deze methode een zeer geschikt voedingsmilieu te zijn, de faecaalorganismen kwamen hierop als groote, intensief roode koloniën te voorschijn, zeer duidelijk te onderscheiden van de kleine intensief roode koloniën van lactococcen en lactobacillen. Het was ook zeer goed mogelijk de groote koloniën met een scherpe naald af te enten op schuin gestolde agar en daarna na te gaan of de organismen werkelijk tot de faecaalorganismen behoorden.

Bij de hierboven beschreven methode's werd steeds als contrôle van hetzelfde melkmonster of dezelfde melkverduunning, met dezelfde hoeveelheden de gistproef ingezet. Bij de plaatjes met Endo-agar werd een behoorlijke overeenstemming tusschen de proefresultaten bereikt, zoodat deze werkwijze voor melkmonsters, waarbij men genoeg neemt met 0.1 cm<sup>3</sup> voor de beoordeeling, uit oeconomisch oogpunt aanbeveling verdient boven de gistingproef.

Daar ondanks heftig schudden van het melkmonster, waarvan het colititer wordt bepaald, men niet kan verwachten, dat de aanwezige faecale bacteriën homogeen in de vloeistof zijn verdeeld, is het noodzakelijk méér dan één gistproef in te zetten met dezelfde hoeveelheid; minstens drie, waarbij men de proef positief rekent als 2 gistbuizen



gas vertoonen; beter nog, vijf, waarbij men de proef positief aanmerkt als er drie positief uitvallen.

De werkwijze om 5 buizen in te zetten wordt ook wel gebruikt bij bacteriologisch wateronderzoek; de Graaff<sup>24)</sup> en de Waal<sup>25)</sup>.

Massink<sup>26)</sup> wijst op de willekeurigheid van deze bepalingwijze, immers zijn 2 buizen van de 5 positief, dan worden deze positieve resultaten genegeerd. Hij beveelt een methode aan, waardoor bij de berekeningswijze gebaseerd op de waarschijnlijkheidsberekening het element willekeur tot kleinere proporties is teruggebracht. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een formule door Mac Crady<sup>27)</sup> het eerst gegeven en later door Wolman en Weaver<sup>28)</sup> vereenvoudigd, waarbij uit de gevonden resultaten het meest waarschijnlijke coli-aantal berekend wordt per 100 cm<sup>3</sup> vloeistof. Bij de berekening wordt de verhouding van het aantal positieve tot het totaal aantal proeven als grondslag genomen. Bij 5 ingezette proeven, elk van 1 cm<sup>3</sup> en 3 positieve, verhouding 0.6, vindt men 91.3 als het meest waarschijnlijke aantal colibact. per 100 cm<sup>3</sup> water, bij 2 positieve, verhouding 0.4, vindt men 56.9 per 100 cm<sup>3</sup>.

Deze werkwijze nu zou bij melkonderzoek ook kunnen worden toegepast, hoewel men bij melk, niet zooals bij water, zich behoeft af te vragen hoeveel coliorganismen in een bepaald volumen aanwezig zijn.

Hier volgt een overzicht van de coligroepbepalingen, uitgedrukt in percenten van het aantal onderzochte monsters.

Resultaten van het colionderzoek van die melkmonsters, welke wat betreft hun kiemcijfer voldoen aan den eisch van

<sup>24)</sup> de Graaff. Tijdschr. v. Vergel. Geneesk. enz. nieuwe reeks deel II. 116. 1922.

<sup>25)</sup> de Waal. Acad. Proefschr. Utrecht. 1918.

<sup>26)</sup> Massink. Ned. Tijdschr. voor Hygiëne, Microb. en Serol. Deel III. 1929.

<sup>27)</sup> Mac Crady. Journal of infect. Diseases, Vol. 183. 1915.

<sup>28)</sup> Wolman en Weaver. Journal of infect. Diseases. Vol. 21. 1917.



den Codex Alimentarius, uitgedrukt in procenten op het totale aantal onderzochte monsters.

Van A en B en C werden gemiddeld één monster per week onderzocht, terwijl de samenvatting onder D geschiedde uit 3 monsters per week.

|                                      | A en B  | C      | D      |
|--------------------------------------|---------|--------|--------|
| Coli, afwezig in 0.1 cm <sup>3</sup> | 100 0/0 | 65 0/0 | 91 0/0 |
| „ „ „ 1 „                            | 92 0/0  | 50 0/0 | 73 0/0 |

Uit deze tabellen ziet men, dat b.v. voor de bedrijven onder A en B in geen enkel modelmelkmonster, dat aan den eisch van den Codex voldeed wat betreft het kiemcijfer, faecaalcoli's aanwezig zijn in 0.1 cm<sup>3</sup> melk en slechts in 8 0/0 van de onderzochte monsters faecaalorganismen werden aangetoond in 1 cm<sup>3</sup> melk. Voor het bedrijf onder C waren deze cijfers resp. 35 0/0 en 50 0/0.

Hier geldt hetzelfde wat omtrent deze bedrijven naar aanleiding van het kiemcijfer is opgemerkt, n.l. dat voor A en B de cijfers de laatste 1½ jaar van het onderzoek gunstiger werden.

Wij meenen tenslotte aan de hand van onze waarnemingen te mogen concluderen, dat men aan goede modelmelk zeker den eisch moet stellen, dat zij in elk geval geen faecaalcoli's bevat in 0.1 cm<sup>3</sup>; dat men dezen eisch echter ongetwijfeld voor goede modelinrichtingen mag opvoeren tot op 1 cm<sup>3</sup>, waarbij dan echter dient te worden bedacht, dat in een melkbedrijf elke kleine onachtzaamheid zich in een afwijkend cijfer kan demonstreeren en aan dezen eisch in de practijk met eenige soepelheid in de beoordeeling dient te worden vastgehouden.



#### § 4. Het streptococcentiter van modelmelk.

In het Melkbesluit<sup>29)</sup> vinden we in Art. 2 lid 2, sub i den volgende eisch, waaraan melk moet voldoen:

— streptococcen mogen niet in aanmerkelijke hoeveelheid aanwezig zijn, pathogene micro-organismen moeten afwezig zijn;

en verder in Art. 2, lid 2, sub j.:

— zij moet verkregen zijn door het volledig uitmelken van dieren, die niet lijden aan een der in art. 25 tweede lid genoemde ziekten, terwijl art. 25 lid 2, sub a. de ziekten, in dit verband bedoeld, opnoemt.

De uitdrukking „niet in aanmerkelijke hoeveelheid”, in art. 2, lid 2, sub i., wijst erop, dat eenige soepelheid in de toepassing van dit artikel uitdrukkelijk wordt verlangd, wij meenen zelfs te mogen zeggen noodzakelijk is. Immers streptococcen worden altijd aangetroffen in rauwe melk, zelfs bij hygiënisch gewonnen melk in verhouding tot het geheele kiemcijfer, procentsgewijze meer dan in niet hygiënisch gewonnen melk.

De mogelijkheid is niet uitgesloten, dat de uitdrukking „niet in aanmerkelijke hoeveelheid” door hen, die niet voldoende met de practijk op de hoogte zijn, anders zal kunnen worden opgevat dan de feitelijke bedoeling was, waardoor conflicten kunnen ontstaan met al de onaangename gevolgen daarvan.

Dit is misschien te vermijden door voor bedoelde uitdrukking een op proefondervindelijke ervaring gebaseerd cijfer in de plaats te stellen; een cijfer, dat verkregen zal moeten zijn uit zeer vele waarnemingen gedurende minstens één jaar gedaan in verschillende melkbedrijven uit verschillende deelen van ons land.

Art. 2 lid 2, sub i. verlangt verder de afwezigheid van pathogene micro-organismen en rekent onder deze volgens

<sup>29)</sup> Melkbesluit, loc. cit.



art. 25, lid 2, sub a. mede de verwekkers van de uierontsteking, dus o.a. *Streptococcus mastitidis* en andere pathogene streptococcen.

Hierin zit de grondoorzaak van een mogelijk verschil in opvatting. In melk vindt men als normaal daarin voorkomend organisme *Streptococcus laticus*, waardoor de mogelijkheid ontstaat normale melk, waarin streptococcen voorkomen af te keuren, omdat het melkbesluit niet opgenomen heeft de morphologische en culturiëele eigenschappen van *Streptococcus mastitidis* en andere pathogenen streptococcen, zoodat verwarring mogelijk blijft.

We komen hier op een gebied, dat reeds vele onderzoekers heeft beziggehouden n.l. de classificatie der streptococcen; het lijkt ons dan ook wenschelijk een verkort literatuuroverzicht van dit zoo belangrijk probleem te geven.

Nocard en Mollereau<sup>30)</sup> beschreven reeds in 1887 een coc, die in langen ketenvorm voorkwam in koemelk van dieren, die chronische mastitis hadden. Ze meenden, dat de infectie door de hand van den melker van het eene dier op het andere werd overgebracht.

v. Lingelsheim<sup>31)</sup> stelde voor een indeeling in 2 groepen gebaseerd op de lengte der ketens; *Str. brevis* met korte ketens bezit meest avirulente vormen, *Str. longus* met lange ketens, meest virulente vormen.

Gröning<sup>32)</sup> noemt ook streptococcen pathogeen, als de ketens lang zijn.

Later is meermalen gebleken, dat deze indeeling niet juist is, er komen overgangsvormen voor, waardoor de lengte der ketens variabel is; bovendien lijkt ons de aanduiding lang of kort onduidelijk, ze kan tot verwarring aanleiding geven en dit dient men te vermijden.

<sup>30)</sup> Nocard et Mollereau. Ann. Inst. Past. Vol. 1. 901. 1887.

<sup>31)</sup> v. Lingelsheim. Zeitschr. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 10. 331. 1891.

<sup>32)</sup> Gröning. diss. Bern. 1901.



J. R u d o l f <sup>33)</sup> vond zelfs pathogene streptococcen als diplococ.

S c h o t m ü l l e r <sup>34)</sup> voerde als diagnosticum de bloed-agarplaat in. (2 deelen steriel menschenbloed met 5 deelen agar). Hij verdeelde de streptococcen naar hun groeiwijze op de bloedagar in 4 groepen.

- 1e. *Str. pyogenes*, een vorm met lange ketens, grijsachtige koloniën, haemolyse.
- 2e. *Str. mitor*, een vorm met korte ketens, groenachtige koloniën, geringe haemolyse.
- 3e. *Str. mucosus*, organismen met een kapsel, slijmachtige koloniën.
- 4e. *Pneumococcen*, koloniën met donkergroene kleur zonder zichtbare haemolyse.

G o r d o n <sup>35 36)</sup> was de eerste, die de suikervergisting invoerde. Hij bereidde suikervrijen bouillon en voegde daarna 1 0/0 toe van een suiker, die hij wilde laten vergisten en bovendien een weinig lakmoes. Hij kwam tenslotte tot een beoordeeling door als diagnostisch kenmerk te beschouwen de werking op de disacchariden : saccharose en lactose, het trisaccharide : raffinose, het polysaccharide : inuline, de glucosiden salicine en coniferine en den alcohol manniet; bovendien beoordeelde hij de melkcoagulatie en de reductie van neutraalrood, deze laatste onder anaërobe omstandigheden.

A n d r e w e s e n H o r d e r <sup>37)</sup> beschouwen pathogeniteit als een eigenschap, twijfelachtig van waarde voor de indeeling, omdat streptococcen zoo gemakkelijk hun virulentie verliezen. Ook agglutinatie is in veel gevallen onbruikbaar en leidt tot foutieve conclusies. Zij beschouwen G o r-

<sup>33)</sup> J. Rudolf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 100. 47.

<sup>34)</sup> Schotmüller. Münch. Med. Wochenschr. Bd. 1. Nos. 20, 21. 849. 894, 909.

<sup>35)</sup> Gordon, Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 35. 271. 1904.

<sup>36)</sup> Gordon. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 3. 28. 1904.

<sup>37)</sup> Andrewes and Horder. The Lancet 708, 775, 780, 852. 1906.



d o n's werkwijze als zeer waardevol, maar niet ongevaarlijk, omdat men bij zijn werkwijze, mits men maar meer stammen onderzoekt, steeds meer afwijkingen zal vinden en dus schijnbaar steeds meer soorten. A n d r e w e s en H o r d e r wijzen er, en volgens ons terecht, met nadruk op, dat bij pogingen om bacteriën in het algemeen te identificeeren, men zich niet moet blind staren op kleine verschillen. De moeilijkheid zit er volgens hen in, dat men eerst moet uitmaken welke van de culturiëele eigenschappen men als voor de soort fundamenteel wenscht aan te zien, en welke van bijkomstige waarde moeten worden geacht.

Zij constateeren, dat de reactie's, die G o r d o n naging, in den regel merkwaardig constant zijn voor verschillende streptococcen, die zij onderzochten, zelfs dikwijls na laboratoriumcultuur van meer dan een jaar. Slechts in enkele gevallen vonden zij afwijkingen, tweemaal was de manniet vergisting verloren gegaan en eenige malen klopten de resultaten van de neutraalrood- en van de salicineproef niet met eerder gevondene. Ook bleek hen, dat de virulente streptococcen na veelvuldige dierpassage constant bleven wat betreft hun gedrag ten opzichte van de suikers.

A n d r e w e s en H o r d e r voegden groepen, die in één of twee niet fundamenteele punten van elkaar afweken, samen tot één en kwamen tot een indeeling in 7 groepen, hielden hierbij ook rekening met de lengte der ketens.

Groep A. *Str. equinus*. Niet pathogeen, voorkomend voornamelijk in lucht, stof en paardenfaeces, minder in menschen speeksel, faeces en urine; vergist saccharose.

Groep B. *Str. mitis*. In den regel niet pathogeen, korte ketens voorkomend in menschelijk speeksel en faeces; vergist lactose en saccharose.

Groep C. *Str. pyogenes* (Rosenbach). Pathogeen, lange ketens, sterk haemolytisch, vormt sterk zuur in melk; vergist lactose en saccharose.

Groep D. *Str. salivarius*. In sommige gevallen, als korte



streptococ pathogeen, in de meeste echter niet. De lange vorm is zeer pathogeen. In speeksel en faeces van menschen voorkomend, vergist saccharose, lactose en raffinose.

Groep E. *Str. anginosus*. Dit is de pathogene, lange vorm van *Str. salivarius* met haemolytisch vermogen; vergist saccharose, lactose en soms raffinose.

Groep F. *Str. faecalis*, een facultatieve parasiet, korte ketens, typische darmbewoner van den mensch, heeft geen haemolytisch vermogen en komt, hoewel zelden, als lange keten voor; vergist snel saccharose, lactose, salicine, coniferine en manniet.

Groep G. *Pneumococci*. Pathogeen. Indien groeiend in het dierlijk lichaam, voorzien van een kapsel, zoo ook in sommige cultuurmedia. Op gewone media in staat ketens te vormen; vergist en saccharose, lactose, raffinose.

Zij wijzen erop, dat in elke groep individuen voorkomen, welke geringe afwijking in suikersplitsend vermogen vertoonen, waarschijnlijk afhangende van hun voorgeschiedenis, zij zien het geslacht streptococci als een „dominant genus” waarbij b.v. *Str. pyogenes* zich geheel als een parasitair organisme heeft kunnen ontwikkelen en handhaven.

Beitzke en Rosenthal<sup>38)</sup> wijzen er nogmaals op, dat de bloedagarplaat niet steeds met succes kan worden gebruikt, zij zeggen dat het vermogen bloed op te lossen een te variabele eigenschap is om als identificatie te kunnen dienen. Deze laatste uitspraak vindt men ook bij Hoessli<sup>39)</sup>.

Ernst<sup>40 41)</sup> meende in het melksediment streptococci als pathogeen te kunnen herkennen, als ze in de keten als diplococ voorkwamen en elke coc bovendien niet rond maar ovaal gevormd was. Ernst noemt dezen vorm „Staketiform”, geeft in een latere publicatie toe, dat niet alle mas-

<sup>38)</sup> Beitzke und Rosenthal. Arbeiten. Path. Inst. Berlin. 349. 1906.

<sup>39)</sup> Hoessli. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 5, 135. 1910.

<sup>40)</sup> Ernst. Monatsch. prakt. Tierheilk. Bd. 20. 414 1909.

<sup>41)</sup> Ernst Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 72. 183. 1912.



titisgevallen veroorzaakt worden door dergelijke streptococci. Hij bestrijdt de bewering van andere onderzoekers, dat mastitisstreptococci vaak geen gas vormen in suikerhoudende voedingsbodems.

Volgens L ö h n i s <sup>42)</sup> is dit volkomen juist, men heeft hier dan niet te doen met *Str. mastitidis* Guillebeau, maar met vertegenwoordigers van de groep *Str. pyogenes* Rosenbach, die ook uierontsteking kunnen veroorzaken.

v. L i n g e l s h e i m <sup>43)</sup> beschouwde de lengte der ketens in combinatie met den vorm van den coc in de keten n.l. ovaal, rond of diplococ als een belangrijk criterium maar werd in hetzelfde jaar tegengesproken door W i n s l o w <sup>44)</sup>, die eenige door hem geïsoleerde stammen, bestaande uit ketens van variabele lengte en met ovale cellen als diplococ, als *Str. lacticus* identificeerde.

S a i t o <sup>45)</sup> geeft een verschil tusschen *Str. lacticus* en *Str. pyogenes*, de eerste coaguleert melk na 24 uur, de laatste na meer dan 72 uur.

H o p k i n s en L a n g <sup>46)</sup> besloten, dat in het algemeen stammen, die melk coaguleerden met verschillende snelheid, diegene die het snelst coaguleerden het minst pathogeen waren. De lengte der ketens heeft bij de beoordeeling pathogeen of niet, geen waarde.

H o l m a n <sup>47)</sup> betoogde dat het streptococconderzoek meer systematisch moest worden opgenomen en men eerst moest zoeken naar voedingsstoffen, waarop streptococci in elk geval goed groeien, waarbij men diende te bedenken, dat vloeibare media beter zijn dan vaste voedingsbodems; voor de vloeibare gebruikte hij serumbouillon, als vaste ver-

<sup>42)</sup> L ö h n i s. Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. 1910.

<sup>43)</sup> v. Lingelsheim, in Kolle und Wasserman's Handbuch der Path. Mikroorg. Bd. 4. 453. 1912.

<sup>44)</sup> Winslow. Jour. Inf. Dis. Vol. 10. 285.

<sup>45)</sup> Saito. Arch. f. Hyg. Bd. 75. 121. 1912.

<sup>46)</sup> Hopkins and Lang. Journ. Inf. Dis. Vol. 15. 63. 1914.

<sup>47)</sup> Holman. Journ. Med. Research Vol. 34. 377. 1916.



koos hij bloedagar. Hij veronderstelt, dat vroegere onderzoekers niet voldoende aandacht hadden geschonken aan het zuiveren van hun cultures en werkte zelf op de volgende wijze. Hij entte het oorspronkelijke materiaal op serumbouillon, maakte hiervan bloedagarplaten en nam hiervan volkomen geïsoleerd liggende koloniën. Bij onzuiverheid door *B. coli* of *B. proteus* beveelt hij aan het gebruik van serumbouillon, waardoor *B. coli* door de streptococcen wordt overgroeid en voor *B. proteus* verwarmen van de entstof gedurende 20—30 minuten op 53° C., waardoor de streptococ niet wordt geschaad, gevolgd door anaëroob kweeken. Hij verdeelt de organismen eerst in naar hun haemolyseerende eigenschap en daarna naar hun fermentatieve eigenschappen ten opzichte van lactose, manniet en salicine.

Brown<sup>48)</sup> bestudeerde streptococcen op de bloedagarplaat en onderscheidde 4 types, naar gelang de wijze, waarop de haemolyse op de plaat tot uiting kwam, elk dezer types weer in groepen in verband met de werking van het organisme op manniet, lactose en salicine; de groepen weer in ondergroepen, waarbij werd beschouwd de werking op saccharose, inuline en raffinose.

Hij wees op de soms buitengewoon kleine verschillen, die hierbij optreden en die bij de beoordeeling een groote rol kunnen spelen. Ook hechte hij veel waarde aan de bereiding en den zuurgraad der voedingsbodems.

Terecht wijst Brown op den chaos in de benamingen, door verschillende onderzoekers gebruikt. Bovendien heeft men te veel in één richting gezocht en is niet voldoende doordrongen geweest van de noodzakelijkheid door combinatie van eigenschappen tot een oplossing te geraken, een meening ook reeds uitgesproken door Andrewes en Horder.

---

<sup>48)</sup> Brown, Monographs of the Rockefeller Institute for Med. Research No. 9. 1919.



B a r n e s <sup>49)</sup> onderzocht 51 stammen en verdeelde deze op grond van hun haemolytische en koolhydraatsplitsende eigenschappen in 11 groepen. Hij immuniseerde 8 konijnen, ieder met een verschillende stam. De specifieke precipitinereactie's van deze immuun-sera stemden nauwkeurig overeen met de groepindeeling, mits groote verdunningen werden gebruikt.

K e n d a l l, D a y, W a l k e r e n R y a n <sup>50)</sup> bespraken in een uitvoerige verhandeling de vergisting van verschillende suikers door middel van streptococcen en knoopen hieraan een theoretische beschouwing vast, waarbij zij tot de conclusie kwamen dat koolhydraten waarde hebben voor de indeeling van bacteriën in het algemeen door het feit, dat er blijkbaar een bepaalde verwantschap bestaat tusschen de stereometrische configuratie der suikers en het vermogen van bacteriën, deze aan te tasten; welk vermogen als een fundamenteele eigenschap van het cytoplasma van het organisme zou zijn te beschouwen.

Ook wij meenen, dat een bepaald geconstrueerd cytoplasma een bepaald geconstrueerd enzym vormt, dat weer een bepaald geconstrueerd substraat ontleedt.

De specifiteit van deze reactie's bezit waarde, daar een zorgvuldig uitgekozen groep van bacteriën als een buitengewoon fijn reagens kan dienen bij de structuurbepaling van koolhydraten.

W a r r e n C r o w e <sup>51)</sup> beschreef een cultuurmedium, samengesteld uit gedefibrineerd runderbloed en peptonagar, waarop de streptococcen zeer verschillend groeien. Daar latere onderzoekers van dezen voedingsbodem ook gebruik maken, laten we het voorschrift voor de bereiding hier volgen.

Ongeveer 1 liter gedefibrineerd runderbloed wordt door

<sup>49)</sup> Barnes, Journ. Inf. Dis. Vol. 25. 47. 57. 1919.

<sup>50)</sup> Kendall, Day, Walker and Ryan. Journ. Inf. Dis. Vol. 25. 189. 1919.

<sup>51)</sup> Warren Crowe. Journ. of Path. and Bact. Vol. 24. 361. 1921.



neteldoek gefiltreerd, 750 cm<sup>3</sup> filtraat worden gezet in een waterbad van 50° C, 250 cm<sup>3</sup> pepton agar gesmolten en afgekoeld tot 50° C beide oplossingen gemengd, 1 % glucose toegevoegd en het mengsel op 50° C gehouden, terwijl buizen en/of platen werden gevuld. Een stukje filtreerpapier wordt tusschen het deksel der platen gelegd. De voedingsbodem blijft week. De gevulde buizen en/of platen worden gedurende 2 uur bij 65—70° en daarna ½ uur bij 85—90° in den stoomsterilisator gehouden, welke laatste bewerking men gedurende drie achtereenvolgende dagen herhaalt.

De temperatuur mag niet hoger komen dan 90° C, om te voorkomen, dat het agaroppervlak wordt gedeformeerd. Dit oppervlak moet glad en glanzend zijn. De platen worden gedroogd (filtreer-papier tusschen het deksel uit) en drie weken op kamertemperatuur gehouden, waarna ze voor het gebruik gereed zijn.

Bij het enten mag het agar-oppervlak niet beschadigd worden. De voedingsbodem is chocoladebruin gekleurd. Warren Crowe zegt in zijn publicatie, dat hij naar de groeiwijze op dezen voedingsbodem onderscheid kan maken tusschen de verschillende variëteiten van streptococcen. Zoo geeft hij o.a. een tabel, waarin opgenomen 5 streptococcen van het viridans type, waaruit blijkt, dat deze 5 stammen verschillend en goed onderkenbaar groeien, hoewel ze door vroegere onderzoekers als *Str. viridans* zonder meer zijn geïdentificeerd.

Warren Crowe<sup>52 53</sup>) geeft toe, dat er enkele organismen zijn, die op zijn voedingsbodem groeien, alsof het streptococcen zijn en dat er ondanks alle pogingen een groot deel der streptococcen niet te definieeren zijn.

Hij beveelt aan:

<sup>52</sup>) Warren Crowe. Journ. of Path. and Bact. Vol. 26. 51. 1923.

<sup>53</sup>) Warren Crowe. Journ. of Path. and Bact. Vol. 27. 449—454. 1924.



- 1e. een kleurenfoto van de kolonie op Crowe's voedingsbodem.
- 2e. nader onderzoek van de betreffende kolonie op verschillende voedingsbodems, waarbij voor de suikerhoudende men moet uitgaan van zeer zuivere suikers en moet steriliseeren zoodanig, dat de suiker niet ontleeft.

Heim en Schlirf<sup>54)</sup> verwerpen de opvatting van onderzoekers als Morgenroth, Schnitzer en Berger<sup>55)</sup>, die trachtten te bewijzen, dat alle streptococci en pneumococci zijn terug te voeren tot één organisme, een soort standaardorganisme dus, en dat alle pogingen, om de, volgens hen, vermeende groep streptococci te classificeeren daarom op niets uitliepen.

Het bleek aan Heim en Schlirf, dat Morgenroth en zijn medewerkers bij hun werkwijze voortdurend dezelfde fout begingen, waardoor te verklaren is, dat al hun waarnemingen met verschillende stammen gedaan, steeds hetzelfde resultaat opleverden.

Heim en Schlirf meenen nu een culturiëel onderscheid gevonden te hebben tusschen verschillende streptococci en wel in hun gedrag ten opzichte van lakmoesmelk (Zij zochten dus in dezelfde richting als Saito en Hopkins & Lang).

*Str. lactis* Heim (= *Str. lacticus* Kruse) maakt lakmoesmelk door de door haar gevormde reductase binnen 7—17 uur volkomen wit, tot op een, onder de eveneens witte roomlaag gelegen, roode zône van eenige mm. dikte. In den loop der volgende dagen wordt de vloeistof, naar het onder-einde der buis toe, rood. Met het optreden der bovenste roodkleuring treedt gewoonlijk coagulatie op. Juist door de vlugge en bijna volkomen reductie der lakmoes is *Str. lactis*

<sup>54)</sup> Heim u. Schlirf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 100 Heft 1/3.

<sup>55)</sup> Morgenroth, Schnitzer u. Berger. Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exper. therap. Jena I Teil Orig. Bd. 43, 169, 1925.



te onderscheiden van *Str. pyogenes*, die lakmoesmelk niet direct, maar eerst nadat ze rose of rood geworden is, slechts voorbijgaand of gedeeltelijk wit maakt. De genoemde onderzoekers geven echter toe, dat het ondanks deze verschillen soms moeilijk is, om uit te maken welke streptococ men in handen heeft.

R u d o l f <sup>56)</sup> werkte het bovenbeschreven onderzoek na en is het in zooverre met H e i m e n S c h l i r f e e n s, dat *Str. mastitidis* meestal binnen 24 uur lakmoesmelk via rose, rood maakt, waarbij ten slotte coagulatie optreedt.

Als laatste willen wij nog een publicatie vermelden van D. en R. T h o m s o n <sup>57)</sup>. Zij gingen verschillende methodes door andere onderzoekers gebruikt, na, en voegden er een nieuwe, die der fotografie aan toe, welke zij op uitgebreide schaal toepasten. Ze merkten, zeer terecht op, dat een foto, beter dan de nauwkeurigste beschrijving, bijzonderheden vastlegt, waardoor ze in combinatie met andere waarnemingen van onschatbare waarde is.

Om te beginnen legden zij plaatcultures aan op C r o w e's agar, de goed geïsoleerd liggende koloniën werden met behulp van een platina-naald onder het binoculair microscoop van de plaat genomen en daarna werd nog tweemaal plaat-passage toegepast, waarna de koloniën als reincultuur werden beschouwd.

Daarna werden twee stamcultures aangelegd, één op testikel-agar waaraan toegevoegd 5 % gekookt bloed en tevens één op gekookt bloed-testikel-agar, verdund met testikel bouillon, zóó dat de voedingsbodem niet geheel vast wordt. Deze beide media bleken hen bij uitstek geschikt voor het kweken van streptococcen.

Incubatie volgde bij 37° C voor één of twee dagen, waarna werd overgeënt op verschillende voedingsbodems met:

<sup>56)</sup> Rudolf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 100. 47.

<sup>57)</sup> D. Thomson and R. Thomson. Annals of the Pickett-Thomson Research Laboratory Vol. III. 1927.



glucose, maltose, galactose, saccharose, lactose, manniet, dextrine, inuline, salicine, raffinose en op serumwater van H i s s. Bovendien werd gemaakt een G r a m preparaat en dit bij sterke vergrooting ( $1700\times$ ) gefotografeerd, terwijl nog foto's werden gemaakt (ware grootte,  $20\times$  en  $150\times$ ) van koloniën op platen van testikelagar (aëroob en anaëroob) en van testikelagar met 5% gekookt bloed (aëroob), na bebroeding bij  $37^{\circ}\text{C}$  gedurende 2 dagen.

D. en R. T h o m s o n deelen nu de streptococcen in 5 hoofdgroepen in, naar hun gedrag op de testikelagar waaraan toegevoegd 5% gekookt bloed, aëroob gekweekt.

Groep A verandert het medium niet.

Groep B brengt een mat groenachtige tint te voorschijn na 2 tot 6 dagen.

Groep C produceert een beperkte smalle groene of groenachtig geele, verkleurde zône in 2 dagen.

Groep D roept een breede gele bleeke zône in 2 dagen te voorschijn.

Groep E brengt een beperkte zwartachtige verkleuring teweeg.

Deze hoofdgroepen verdeelen zij weer onder: naar het gedrag van het organisme op de verschillende suikers, beoordeeld na 3 en na 11 dagen en naar het fotografisch beeld van de kolonie (ware grootte,  $20\times$  en  $150\times$ ) en dat van het G r a m-preparaat ( $1700\times$ ).

Merkwaardig is nu de goede overeenstemming tusschen hun methode en die van W a r r e n C r o w e. C r o w e zond hun 49 variëteiten door hem volgens zijn methode geïdentificeerd; zij kwamen met hun methode ook tot de conclusie dat deze 49 variëteiten werkelijk alle verschillend waren.

In de publicatie in de Annals of the Picket-Thomson Research Laboratory vinden we een uitgebreide lijst van variëteiten gecompleteerd door foto's, waaronder ook eenige kleurenfoto's van C r o w e. Bij de meeste daarop voorkomende organismen vinden we helaas niet den naam, maar



slechts de bron, waaruit het organisme is geïsoleerd: blijkbaar hielden genoemde onderzoekers zich niet bezig met die organismen, welke bij runderen uierontsteking veroorzaken, we missen althans in deze lijst o.a. *Str. mastitidis*.

Zij hebben echter met bewijzen gestaafd, dat identificatie van streptococcen niet tot de onmogelijkheden behoort, noemen echter als noodzakelijkheid op, dat dit werk slechts met vrucht kan worden verricht in een laboratorium, dat geheel op dit soort onderzoekingen is ingesteld.

Hoewel hun methode zeer goede resultaten oplevert, is zij voor melkonderzoek te ingewikkeld en te tijdrovend.

Vatten wij in het kort de diagnostische kenmerken, welke waarde kunnen hebben, samen, dan blijken deze te zijn.

het haemolyseerend vermogen,

de suikerontleding in het algemeen en de ontleding van lakmoesmelk,

het fotografische beeld.

Een ander belangrijk onderdeel van het streptococcen-vraagstuk is de vraag op welke wijze, afgezien dus van het aantoonen van het ziektewekkend organisme, een uierontsteking kan worden geconstateerd door middel van chemische of andere afwijkingen, welke de melk van het zieke dier vertoont.

De gevallen, waarbij de veearts de ziekte kan constateeren door uierafwijkingen blijven hier buiten beschouwing.

Als afwijking in de chemische samenstelling was reeds lang bekend een verhoogd chloorgehalte, liever gezegd een verhoogd chloornatriumgehalte, waardoor de melk bovendien een zoutigen smaak kan krijgen; H e s z, S c h a f f e r en B o n d z y n s k i <sup>58)</sup>.

Met het verhoogd chloorgehalte gaat gelijktijdig een ver-

<sup>58)</sup> Hes z, Schaffer u. Bondzynski. Landw. Jahrb. d. Schweiz 4. 46—63. 1890.



laging van het melksuikergehalte gepaard, zoodat de verhouding van beide, het chloorsuikergetal, d.i. het getal aan gevende het chloorgehalte in procenten met 100 vermenigvuldigd en door het melksuikergehalte gedeeld, als een chemische maatstaf kan gelden, (Weigmann<sup>59</sup>).

Sjollema<sup>60</sup>) noemt verder nog de verhooging van het eiwitgehalte en de verlaging van den zuurgraad, van het kalk- en van het phosphorzuurgehalte en werkte resultaten van verschillende onderzoekers na, waarbij hem bleek, dat het gemakkelijkst uitvoerbaar zijn chloor- en melksuikerbepalingen.

Hij acht het van beteekenis in verdachte gevallen voornamelijk op het chloorgehalte van elk der vier kwartieren te letten en zegt, dat hoewel het chloorgehalte in den regel bij gezonde dieren weinig aan schommelingen onderhevig is, men in het algemeen aan geringe afwijkingen van het chloorcijfer van melk, als deze niet per kwartier wordt onderzocht, weinig heeft.

De bepaling van de zuurgraadsverandering merkt hij als onbetrouwbaar aan.

In een latere publicatie van Sjollema en v. d. Zande<sup>61</sup>) behandelen zij de vraag of er verband bestaat tusschen zuurgraad, streptococcen en leucocyten. Het verband tusschen zuurgraad en streptococcen is volgens hen onzeker, omdat streptococcen zuurvormers zijn en men dus bij bewaren stijging van den zuurgraad krijgt. (Hierbij dient te worden opgemerkt dat, wanneer melk wordt bewaard bij een temperatuur tusschen 0° tot + 3° C, dus in een ijskist, de groei van de zuurvormende organismen stilstaat; de zuurgraad blijft in den regel gedurende 5 × 24 uur constant.)

<sup>59</sup>) Weigmann. Pilzkunde der Milch. 219. 1924.

<sup>60</sup>) Sjollema. Hand. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde 1910 II.

<sup>61</sup>) Sjollema en v. d. Zande. Hand. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde 1921.



Niet altijd gaat een abnormale zuurgraad gepaard met een hoog sediment (bepaald volgens *Trommsdorff*), bij streptococcenmastitis behoeft het sediment niet altijd boven het normale te stijgen. Een lage zuurgraad (hooge pH) is geen bewijs van uierziekte.

Een zeer hoog leucocytengehalte is volgens hen wellicht een der beste aanwijzingen voor uieraandoening.

*Sjollema* en *v. d. Zande* bevelen aan het tryptophangehalte te bepalen volgens *v. Fürth* en *Nobel* <sup>62)</sup>. Deze colorimetrische bepaling berust op een violette verkleuring die tryptophaan geeft met formaline, rookend zoutzuur en nitrietoplossing. De reststikstof van normale melk is geheel of nagenoeg geheel tryptophaanvry, terwijl melk uit abnormale uiers een verhoogd tryptophaangehalte bleek te bezitten.

*Wester* <sup>63)</sup> beveelt als de meest betrouwbare methode aan de sedimentproef en als stalproef de rosolzuurproef voor de reactiebepaling. Merkwaardig is zijn uitspraak, dat men in verreweg de meeste gevallen wel mag aannemen, dat streptococcen in de melk, met een ontsteking, zij het een zeer lichte, gepaard gaan. Dit laatste komt niet overeen met onze bevindingen zooals aan het einde van deze paragraaf zal blijken, waarschijnlijk omdat wij niet in het melk-sediment direct, maar na ophooping in alkalischen bouillon waaraan toegevoegd 2 % glucose, op streptococcen onderzochten.

*Wester* wijst nogeens op het feit, dat men zelfs bij ernstige ontstekingen niet steeds in de uitstrijkpreparaten streptococcen vindt, wat het onderzoek zeer bemoeilijkt.

Het onderzoek per koe, of liever nog per kwartier is hier noodzakelijk.

Soms vindt men streptococcen bij een minimaal sediment. Dit is niet te verwonderen, als men aanneemt, dat

<sup>62)</sup> v. Fürth u. Nobel. Bioch. Zeitschr. Bd. 109. 1920.

<sup>63)</sup> Wester. Hand. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde 1927. I.



het bacteriegehalte van de melk van verschillende dieren zeer kan uiteenloopen, alsook het leucocytengehalte. Uit onze onderzoekingen, aan het einde van deze paragraaf vermeld, is gebleken, dat in melk steeds streptococcen aanwezig zijn en dat het percentage aan streptococcen berekend op de geheele hoeveelheid kweekbare kiemen per  $\text{cm}^3$ , gekweekt op alkalischen bouillon met 2 % glucose zeer groot is en het grootst bij hygiënisch gewonnen melk, terwijl men toch moeilijk kan veronderstellen, dat deze streptococcen tot de pathogene behooren omdat men van een modelmelkbedrijf kan en moet verwachten, dat geen melk wordt afgeleverd van uierziek vee.

K r a m e r <sup>64)</sup> acht voor de beoordeeling van mastitismelk van groot belang het voorkomen van streptococcen naast leucocyten in bepaald verband. Het beeld, dat de phagocytose ons levert is, zooals hij nog eens uitdrukkelijk betoogt, karakteristiek voor mastitis. Afgezien hiervan schijnt het mogelijk, dat de geroutineerde onderzoeker aan een bepaalde ligging van streptococcen en leucocyten in het sediment kan uitmaken of hij melk van uierziek vee in handen heeft zelfs al is het melkleverende dier schijnbaar normaal.

v. d. B u r g en K o p p e j a n <sup>65)</sup> bespreken de thybromolproef van R o e d e r. De bij deze proef gebruikte indicator bleek te zijn broomthymolblauw. Volgens hen ligt de pH van normale melk tusschen ongeveer 6,4 en 6,8. Melk van een pH 6,9 geeft reeds een duidelijk waar te nemen kleurverschil met de normale melk, vooral als men de monsters naast elkaar beschouwt. Zij concludeeren dat met de thybromolproef melkmonsters met een pH 6,9 en hoger, gemakkelijk kunnen worden opgespoord. De proef kan dus voor het onderkennen van melk van koeien met uierontsteking, voor zoover hierbij alkalische melk wordt afgescheiden, zeer goede diensten bewijzen.

---

<sup>65)</sup> v. d. Burg en Koppejan. Off. Org. v. d. F. N. Z. No. 4. 1929.



Ten slotte willen wij ons litteratuur overzicht besluiten met vermelding van een publicatie van medische zijde. Plantenga <sup>66)</sup> is van meening, dat het gebruik van met streptococcen geïnfecteerde melk tot darmstoornis bij jonge kinderen aanleiding kan geven. Hoewel wetenschappelijk zuivere waarnemingen in dezen zin ontbreken, zijn vroeger eenige gevallen geconstateerd. Hij wijst er echter op, dat de streptococcen-darminfectie een ziek-zijn van zeer ernstigen aard ten gevolge heeft.

Hoewel uit uitlatingen van veterinaire zijde wel is komen vast te staan, dat uierontsteking een onder onzen veestapel zeer verbreide ziekte is, die jaarlijks aan het veehouders-bedrijf groote financiële nadeelen bezorgt, is het wel merkwaardig, dat men betrekkelijk zelden ziekten aantreft, waarbij als oorzaak het gebruik van melk van uierziek vee wordt genoemd, temeer daar men op grond van verschillende voormelde publicaties wel mag aannemen, dat het veelvuldig voorkomt, dat lichte gevallen van uierontsteking niet worden ontdekt. Bovendien zijn er nog vele veehouders in ons land, die zonder zich om iets te bekommeren melk van uierziek vee afleveren, welk vergrijp gemakkelijk aan de waarneming kan ontsnappen als men slechts bedenkt, dat in mengmelk het onderzoek bemoeilijkt wordt.

Dat de bevindingen van veterinaire zijde niet die van medische zijde dekken, kan verschillende oorzaken hebben.

1. In de eerste plaats overtreft het gebruik van op eenige wijze verhitte melk ver dat van onverhitte melk; en bij deze verhitting worden niet alleen de micro-organismen gedood, maar bovendien hunne toximen onwerkzaam gemaakt.

2. De micro-organismen, welke bij het rund uierontsteking veroorzaken, zijn voor den mensch in den regel niet pathogeen en hunne afscheidingsproducten in den regel niet giftig.

---

<sup>66)</sup> Plantenga. Hand. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde. 1927. I.



3. De diagnose, uierontsteking, wordt vaak gesteld bij vee, dat in het geheel niet ziek is.

4. De oorzaak van bij den mensch optredende ziekten als gevolg van het gebruik van besmette melk, wordt niet juist herkend.

De onder 2 genoemde oorzaak kan alleen gelden bij het gebruik van onverhitte melk.

Uit een en ander zou men zelfs de conclusie kunnen trekken, dat het bezwaar, dat bestaat tegen het winnen en verhandelen van melk, afkomstig van uierziek vee, slechts van aesthetischen aard zou zijn.

Iedereen zal wel toegeven echter, dat bij een zoo belangrijk voedingsmiddel, als melk voor ons land is, men zeker den eisch moet stellen, dat het wordt gewonnen van volkomen gezond vee. Wij meenen toch er op te mogen wijzen, dat het probleem uierontsteking nog lang niet op bevredigende wijze is opgelost.

Inmiddels is uit de litteratuuraanhalingen wel gebleken, dat men, althans hier te lande nog niet een goede, onaanstastbare methode bezit om uit te maken of een streptococ als pathogeen of als saprophytisch organisme is aan te merken. Het zal echter noodzakelijk zijn tot zulk een methode te geraken, teneinde de mogelijkheid van meningsverschillen, welke nu op grond van den eisch van het Melkbesluit maar al te zeer bestaat, volkomen buiten te sluiten.

Wij meenen, dat de uitdrukking „niet in aanmerkelijke hoeveelheid” beteekent, dat bij het microscopisch onderzoek van het melksediment slechts enkele korte streptococcenketentjes (*Str. lacticus!*) mogen worden gevonden!

Het leek gewenscht het normale streptococcen-gehalte der melk quantitatief te bepalen, althans daarvoor een limiet te stellen.

Het lag voor de hand, dat modelmelk hiervoor het eerst in aanmerking kwam, daar deze melksoort, omdat zij zoo



hygiënisch mogelijk wordt gewonnen, het zuiverste beeld zal vertoonen.

De hoeveelheid streptococcen werd bepaald, door middel van het *streptococcentiter*. Onder het streptococcentiter wordt verstaan, die hoeveelheid melk of melkproduct, waarin juist geen streptococcen meer konden worden aangetoond. De soort streptococ werd hierbij geheel buiten beschouwing gelaten.

Bij deze bepaling, door Petruschky en Pusch<sup>67)</sup> als thermophilen-titer voor wateronderzoek het eerst gebruikt en door Löhnis<sup>68)</sup> voor melk voorgeslagen (echter voorzoover ons bekend nooit in gebruik genomen) gaat men als volgt te werk.

Van de te onderzoeken melk worden verdunningen gemaakt en wel  $10^{-2}$  tot en met  $10^{-7}$  en deze geënt op alkalischen bouillon met 2 % glucose. De verdunningen maakt men het snelst door te nemen:

|                          |                  |                                                 |       |
|--------------------------|------------------|-------------------------------------------------|-------|
| 0,1 cm <sup>3</sup> melk | +                | 9,9 cm <sup>3</sup> steriel physiol. keukenzout | = I   |
| 0,1 cm <sup>3</sup> I    | +                | 9,9 cm <sup>3</sup> „ „ „                       | = II  |
| 0,1 cm <sup>3</sup> II   | +                | 9,9 cm <sup>3</sup> „ „ „                       | = III |
| 1 cm <sup>3</sup> I      | komt overeen met | 1/100 cm <sup>3</sup> oorspronkelijk melk       |       |
| 0,1 cm <sup>3</sup> I    | „ „ „            | 1/1000 cm <sup>3</sup> „ „                      |       |
| 1 cm <sup>3</sup> II     | „ „ „            | 1/10000 cm <sup>3</sup> „ „                     |       |

enz.

De zes geënte buizen met alkalischen 2 % glucose-bouillon worden nu bebroed bij 37° gedurende 24 of 48 uur en het sediment door middel van een gekleurd uitstrijkpreparaat op streptococcen onderzocht.

De streptococcen vinden in dezen voedingsbodem een gunstig milieu om zich te ontwikkelen en worden hier niet overgroeid door andere organismen.

Uit onze waarnemingen bleek ons, dat men voor goede

<sup>67)</sup> Petruschky u. Pusch. Zeitschr. f. Hyg. 43. 304. 1903.

<sup>68)</sup> Löhnis. Handb. d. Landwirtsch. Bakt. 177. 1910.



modelmelk den eisch mag stellen, dat de verdunning  $10^{-4}$ , overeenkomend dus met  $1/10000 \text{ cm}^3$  oorspronkelijke melk, bij deze proef steriel dient te blijven. In verdunning  $10^{-3}$  ontstaat dan groei. Bij modelmelk werd *nimmer* een sediment gevonden, dat géén streptococcen bevatte hoewel nu en dan naast streptococcen, ver in de minderheid, andere bacteriën werden aangetroffen. Door de selectiviteit van den gebruikten voedingsbodem geeft het eindresultaat wel niet weer den toestand zooals deze oorspronkelijk in de melk was, maar daar het hier juist ging om streptococcen aan te toonen moest gebruik worden gemaakt van een bij uitstek geschikt milieu om streptococcen te kweken.

Er bestaat een bepaalden samenhang tusschen het streptococcentiter van modelmelk en het aantal kweekbare kiemen, bepaald op alkalische bouillongelatine.

Hier volgen een paar voorbeelden ter nadere toelichting. Bij een modelmelkmonster, dat 4000 kweekbare kiemen per  $\text{cm}^3$  bevatte (bepaald op de gelatineplaat bij  $22^\circ$  en geteld na 4 dagen) werd een streptococcengetal gevonden van  $10^{-3}$  positief en  $10^{-4}$  negatief. In het sediment van  $10^{-3}$  werden in hoofdzaak streptococcen aangetroffen, oorspronkelijk was in deze verdunning dus minstens één streptococ aanwezig en in 't geheel 4 kiemen, echter hoogstens 3 streptococcen, daar het sediment ook nog staafjes bevatte.

In de oorspronkelijke melk waren dus per  $\text{cm}^3$  minstens 1000 streptococcen aanwezig op in 't geheel 4000 kiemen, terwijl de mogelijkheid nog bestaat, dat er meer dan 1000 streptococcen aanwezig waren, maar hoogstens 3000, daar het sediment na bebroeding ook nog staafjes bevatte.

Een ander modelmelkmonster bevatte 16.000 kiemen per  $\text{cm}^3$  en had ook een streptococcentiter van  $10^{-3}$  negatief. We zien hier, dat het streptococcentiter te laag uitvalt berekend op het kiemcijfer, immers hieruit berekend had in de buis  $10^{-4}$  groei moeten optreden. Afgezien nu van de geheel andere omstandigheden waaronder de bepalingen van kiem-



cijfer en streptococcentiter worden verricht (ander voedingsmilieu en andere temperatuur) vindt deze fout waarschijnlijk zijn oorzaak in het feit, dat in een verdunde bacteriënemulsie de bacteriën niet homogeen zijn verdeeld, ondanks heftig schudden, en deze foutoorzaak zal sterker tot uiting komen naarmate de emulsie meer verdund is: anders gezegd, naarmate het kiemgehalte van het oorspronkelijke monster dichtert ligt bij  $1 \times 100$ ,  $1 \times 1000$  enz.

Omgekeerd werd geconstateerd, dat bij melkmonsters waarbij het kiemcijfer, bepaald op gelatine, 8 tot 9, 9 maal 100, 1000, enz. bedroeg, het streptococcen één verdunning te hoog kan uitvallen.

Nemen we nu den eisch, welke aan modelmelk, wat het kiemcijfer betreft, wordt gesteld n.l. 50.000 per  $\text{cm}^3$  in aanmerking, dan mogen we toestaan, dat een melkmonster om aan dezen eisch te voldoen een streptococcentiter mag hebben van  $10^{-4}$  positief.

Uit een en ander blijkt, dat men voor het beoordeelen van modelmelk gebruik zou kunnen maken van het streptococcentiter, mits men de verdunning geschikt kiest; hoewel deze methode ons niet het kiemcijfer per  $\text{cm}^3$  oplevert en daarom als bedrijfscontrole weinig waarde heeft, is het voordeel, dat men niet behoeft te tellen.

Verder blijkt, dat men bij modelmelk, een melksoort, welke zoo hygiënisch mogelijk wordt gewonnen en waarbij men in het bedrijf groote aandacht besteedt aan het vee, percentsgewijze berekend op het geheele kiemcijfer per  $\text{cm}^3$  veel streptococcen aantreft.

Bij andere melksoorten, zooals gepasteuriseerde melk en het melkproduct koffieroom komt het, zooals later zal worden vermeld, zeer dikwijls voor, dat het sediment van de laatste verdunning, welke groei vertoont, geen of weinig streptococcen bevat, maar in verhouding meer andere bacteriën.

In dit verband zou het aannemelijker zijn te spreken van



„groeititer”. Deze overeenstemming tusschen groeititer en kiemcijfer blijft echter bestaan.

### § 5. Het aantoonen van verhitte melk in modelmelk.

Het met zekerheid kunnen aantoonen van een vervalsching van modelmelk met gepasteuriseerde of op andere wijze verhitte melk is om verschillende redenen van belang.

In de eerste plaats toch voldoet het vervalschte product niet aan den eisch „rauw”.

In de tweede plaats maakt een vervalsching met gepasteuriseerde of verhitte melk het aan een slecht of minder goed ingericht bedrijf mogelijk melk af te leveren, welke bacteriologisch voldoet aan den toch al zoo matig gestelden eisch.

Ten slotte is vervalschen een niet te tolereeren misleiding van het publiek.

De vermenging nu van verhitte of gepasteuriseerde melk met rauwe is niet aantoonbaar op de gebruikelijke wijzen, waarmee men rauwe melk van niet rauwe kan onderkennen.

Het katalasecijfer zal gunstiger uitvallen, het zal lager zijn dan dat van de oorspronkelijke rauwe melk.

Ook door middel van de peroxydaseproef is de vervalsching niet aan te toonen, daar deze proef een niet scherp gedefinieerde verkleuring te zien geeft na een niet zeer bepaalden tijd en men hierdoor geen scherp criterium heeft.

De andere enzymreacties zullen ook geen juist beeld van de vervalsching kunnen geven, ook hierbij is een zeker aantoonen niet mogelijk.

Nu werd door W. D. Frost<sup>69)</sup> een methode beschreven, welke het mogelijk maakt te beoordeelen of melk gedurende 20 à 30 minuten op 63° C is gepasteuriseerd. Hij vond, dat cellen van melk, welke zoodanig was verhit, werden gekleurd met een verdunde methyleenblauwoplossing.

Hekma<sup>70)</sup> werkte de methode na, het bleek hem dat ook

<sup>69)</sup> W. D. Frost. Journ. of Americ. Medic. Assoc. 44. 821. 1915.

<sup>70)</sup> Hekma. Hand. Genootsch. ter bevord. v. Melkkunde 1924. I.



melk, welke slechts 10 minuten op  $63^{\circ}\text{C}$  was verhit, kleuring der cellen vertoonde, waardoor de beteekeenis welke *Frost* aan zijn methode hechtte kwam te vervallen n.l. dat zij uitsluitel kon geven op den duur der pasteurisatie.

*Hekma* veranderde de methode als volgt. De te onderzoeken melk wordt na filtratie vermengd met een gelijk volumen eener 0,15 % trypaanblauwoplossing in physiologisch keukenzout.

Het melk-kleurstofmengsel blijft 10 minuten bij kamertemperatuur staan en wordt daarna overgebracht in een centrifugebuis (b.v. een *Trommsdorff*-buisje). Vervolgens wordt 20 minuten gecentrifugeerd bij een toerental van ongeveer 2800. Het materiaal wordt dan direct onderzocht, omdat een langere inwerking der kleurstof een zwakke kleuring ook van de cellen der onverhitte melk kan teweegbrengen. Roomlaagje en ondermelk worden verwijderd, het sediment in vochtigen toestand microscopisch bekeken,

*Hekma* lette op het al dan niet gekleurd zijn der cellen, (de kleuring der cellen is diffuus, de cel wordt geheel gekleurd en niet alleen de kernen, de eventueel ingesloten vetbolletjes blijven ongekleurd), op de kleurintensiteit en op de grootte der cellen.

De cellen afkomstig van rauwe melk vindt men ongekleurd in een zwak gekleurd veld, de cellen afkomstig van verhitte melk al naar gelang de verhitting hooger is geweest, zwak of sterker gekleurd.

Deze eigenschap werd nu door ons gebruikt om na te gaan, welke hoeveelheid verhitte melk nog aantoonbaar was in onverhitte melk. Onder verhitte melk wordt hier verstaan melk, die op zoodanige temperatuur (of hooger) verhit is geworden welke practisch voor pasteurisatie doeleinden toepassing vindt. In de eerste plaats werd nagegaan of rauwe melk geen gekleurde cellen vertoont na de kleurstofbehandeling. Dit bleek werkelijk niet zoo te zijn.



De eerste proefnemingen werden gedaan met melk, welke gedurende 10 minuten werd verhit op  $75^{\circ}$ . Van deze melk werden mengsels gemaakt met onverhitte melk, zie onderstaande tabel.

| Verhit              | Onverhit            | Gecentrifug.      | Perc. Verhit | Conclusie |
|---------------------|---------------------|-------------------|--------------|-----------|
| 1,5 cm <sup>3</sup> | 0,5 cm <sup>3</sup> | 2 cm <sup>3</sup> | 75           | mengsel   |
| 1,0 „               | 1,0 „               | 2 „               | 50           | „         |
| 0,5 „               | 1,5 „               | 2 „               | 25           | „         |
| 0,2 „               | 1,8 „               | 2 „               | 10           | „         |
| 0,1 „               | 1,9 „               | 2 „               | 5            | „         |
| 0,05 „              | 1,95 „              | 2 „               | 2,5          | „         |
| 0 „                 | 2,0 „               | 2 „               | 0            | rauw      |

De mengsels werden door derden gemaakt en door ons in willekeurige volgorde onderzocht om tot onbevooroordeelde beschouwing te geraken, de melk tezamen 2 cm<sup>3</sup> werd direct in een Trommsdorff-buis gepipetteerd en 2cm<sup>3</sup> kleurstof toegevoegd.

Uit de conclusies van bovenstaande tabel blijkt, dat een vervalsching van rauwe melk, met melk welke 10 minuten was verhit op  $75^{\circ}$ , tot  $2\frac{1}{2}\%$  nog aantoonbaar is.

De grootte van de vervalsching is echter niet na te gaan, hiervoor zou een telling noodig zijn en zou men moeten weten hoeveel cellen er in 1 cm<sup>3</sup> van de componenten oorspronkelijk aanwezig waren. Daar deze hoeveelheid in normale melk enorm kan varieren is dit ondoenlijk.

Op dezelfde wijze als boven omschreven werden mengsels onderzocht van rauwe melk, vermengd met melk, welke 10 minuten op  $65^{\circ}$  verhit was; rauwe melk vermengd met melk, welke 1 minuut op  $80^{\circ}$  verhit was; en rauwe melk met melk, welke tot het kookpunt verhit was. In al deze gevallen was een vervalsching van  $2\frac{1}{2}\%$  verhitte melk aantoonbaar.

De mogelijkheid bestond nu nog, dat melk, welke 24 uur oud was, ook kleurbare, dus afgestorven of beschadigde leucocyten zou bevatten. Om dit na te gaan werd melk ge-



durende 24 uur bewaard in de ijskist, (temperatuur ongeveer 2—5° C), het is immers bij een melkvoorziening, zooals in ons land gebruikelijk is, niet te vermijden, dat melk van den vorigen dag ook als versch wordt aangeboden. Dit is met het oog op het kiemcijfer alleen dan te doen, wanneer deze oude melk bij lage temperatuur wordt bewaard. In geen van de door ons onderzochte gevallen bleek melk 24 uur bij genoemde lage temperatuur bewaard gekleurde leucocyten te bevatten, zoodat deze proef werkelijk specifiek is voor verhitte melk.

## § 6. Zijn wettelijke waarborgen ten opzichte van modelmelk mogelijk en wenschelijk.

In hoofdstuk I § 2 werden de eischen besproken, welke gesteld moeten worden bij de winning van modelmelk om zooveel mogelijk tot een product te komen, dat zonder gevaar voor de gezondheid rauw kan worden genuttigd.

De omstandigheid, dat modelmelk op geenerlei wijze verhit, en dus als vitaminehoudend voedingsmiddel wordt gebruikt, verleent aan dit artikel waarde als medicament naast de waarde als voedingsmiddel.

Hoewel het tot nu toe niet aan pogingen heeft ontbroken de wijze van winning, en alles wat hiermede in verband staat wettelijk te regelen, is men tot op heden niet tot een bevredigende oplossing gekomen. Dit is, omdat zooals in hoofdstuk I § 2 werd vermeld, hier te lande verschil bestaat in opvatting op welke wijze men de winning moet inrichten om tot „modelmelk” te komen, zeker te betreuren.

De bezwaren, verbonden aan een wettelijke regeling zijn echter groot. Immers men zal, wil men volkomen zekerheid hebben alles wettelijk moeten regelen, als stalinrichting, inrichting van den melkbocht, gezondheidstoestand van personeel en melkvee, enz. De naleving van al deze voorschriften dient door de Overheid streng en voortdurend te worden



gecontroleerd, omdat de koper uit de aanduiding aan de melk door den producent gegeven (en welke aanduiding door de Overheid wordt toegestaan) afleidt, dat deze melk zonder gevaar voor de gezondheid in rauwen toestand kan worden genuttigd.

Deze voorschriften zullen den prijs van het product belangrijk hooger doen zijn dan van op gewone wijze gewonnen melk en misschien oorzaak zijn, dat deze stijgt boven de tegenwoordige met als gevolg, dat de omzet geringer wordt waardoor de bestaansvoorwaarden van de thans als goed ingericht aangemerkte bedrijven in gevaar wordt gebracht.

Een strenge en voortdurende contrôle zal kostbaar zijn bovendien.

De belangstelling in medische kringen voor modelmelk is tot op heden bedroevend gering; de dagelijksche omzet van modelmelk wordt geraamd op 3—4000 l, tegen die van consumptiemelk 3.000.000 l.

Een te soepele regeling zou aan bepaalde bedrijven de toestemming verleen en het praedicaat „modelmelk” te voeren, zonder dat het afgeleverde product aan de eischen voldoet, welke men op grond van haar aanduiding mag verwachten, hetgeen met het oog op den waarborg van Rijkswege aan de melk gegeven, niet te verantwoorden zou zijn.

De opmerking van van Raalte<sup>71)</sup>, dat de Overheid bij geen enkel besluit van de Warenwet waarborgt, dat de onder een bepaalde aanduiding ten verkoop gehouden waar, voldoet aan de eischen, aan een zoodanig aangeduide waar gesteld, is in haar algemeenheid wel juist, maar het standpunt dat de commissie bedoeld in art. 17 v. d. Warenwet innam, was eveneens juist, dat aan deze waar de aanduiding moest worden gegeven „in rauwen toestand genuttigd onschadelijk voor de gezondheid”.

De toestand, welke geschapen zou worden, zou op het vol-

---

<sup>71)</sup> van Raalte. Voeding en Hygiëne. 4. blz. 9. 1929.



gende neerkomen. Twee artikelen worden ten verkoop aangeboden en zijn stoffelijk gelijkwaardig maar er bestaat een belangrijk prijsverschil. De koper eischt nu ook, dat het duurdere artikel op een of andere wijze beter is. Dit „beter zijn” bestaat bij modelmelk uit twee dingen, die zeer nauw verband houden, n.l. bacteriologisch beter en hygiënisch beter gewonnen.

Maar zelfs, al wordt een modelmelkbesluit uitgevaardigd en voor de naleving daarvan zorggedragen, dan nog kan de Overheid niet instaan voor de onschadelijkheid van modelmelk, omdat het mogelijk zijn kan, dat de methoden van onderzoek niet voldoende zijn om afwijkingen op te sporen waardoor dus de kans bestaat, dat afwijkingen niet aan het licht komen.

De Overheid kan hoogstens door nauwlettend en uitgebreid toezicht van Rijkswege, of van wege den producent ingesteld den waarborg geven, dat modelmelk niet is besmet met kiemen van ziekten welke tot nu toe als soms in melk voorkomende en als schadelijk voor den mensch bekend zijn.

Dat men met omstandigheden dient te rekenen, welke momenteel niemand voorziet noch kan voorzien, moge blijken uit de kortelings gepubliceerde onderzoekingen betreffende de bacterie van B a n g.

Hoewel verschillende publicaties in het buitenland ook hierover verschenen, willen we slechts de voor ons land belangrijke bespreken.

Uit onderzoekingen in ons land gedaan door v. d. Hoeden<sup>72)</sup> is gebleken, dat het micro-organisme, hetwelk bij runderen aanleiding kan geven tot aborteren, n.l. *B. abortus inf. Bang* bij menschen aanleiding kan geven tot ernstige ziekteverschijnselen; die in den aanvang deden denken aan typhouse aandoeningen, waarbij echter de serum-reactie van W i d a l met *typhus*-, *paratyphus A* en *paratyphus B* bacteriën negatief uitviel. Bij voortgezet onderzoek bleek de

<sup>72)</sup> v. d. Hoeden. Tijdschr. v. Diergeneesk. deel 55. Afl. 5 1928.



ziekte haar ontstaan te danken te hebben aan een infectie met de abortusbacterie van *B a n g*, het ziektebeeld beantwoordde klinisch geheel aan maltakoorts. Het eerste geval werd in ons land herkend in het einde van 1927 door v. d. *H o e d e n*, hoewel het toen nog niet gelukte het micro-organisme zelf aan te toonen. De mogelijkheid, dat de ziekte echte maltakoorts zou zijn, veroorzaakte door *Micrococcus melitensis Bruce*, werd buitengesloten geacht.

In een tweede publicatie vermeldt v. d. *H o e d e n* <sup>73)</sup> dat het aantal gevallen in Nederland is gestegen tot 17 en voert meerdere gronden aan, waaruit blijkt, dat men in ons land werkelijk te doen heeft met een besmetting door de abortusbacterie van *B a n g*. Het gelukte nu ook, het micro-organisme te isoleeren en te identificeeren als *B. Bang*. Een verklaring van het feit, dat voor het einde van 1927 geen gevallen van deze ziekte in ons land bij den mensch werden waargenomen ligt volgens hem in de uitspraak van *L u s t i g* en *V e r n o n i* <sup>74)</sup>: „Jedem, der nur einmal Gelegenheit gehabt hätte, diese beiden Mikro-organismen zusammen zu untersuchen, hätten diese Beziehungen nicht entgehen können. Dieser Fall tratt aber nicht ein wegen der leider bestehenden Scheidung der Tierpathologie und Menschenpathologie, welche erst heute zu verschwinden beginnt.”

Ondanks deze aannemelijke reden blijft het plotseling optreden van deze ziekte een raadsel en zijn verklaringen hieromtrent hypothesen, hoewel als verklaring misschien nog zou kunnen dienen de feiten, dat de ontdekking van *A l i c e E v a n s* <sup>75)</sup> dat *B. abortus inf. Bang* en *Micrococcus melitensis Bruce* zeer nauw verwant zijn van betrekkelijk jongen datum is, dat de meening oorspronkelijk heerschte dat *B. Bang* voor den mensch apathogeen was, waardoor voor dien aan dit organisme geen aandacht werd geschonken.

<sup>73)</sup> v. d. Hoeden. Tijdschr. v. Diergeneesk. deel 53. Afl. 21. 1928.

(In beide publicatie's vindt men uitgebreide litteratuur opgave).

<sup>74)</sup> Lustig u. Vernoni. Handb. der path. Microorg. Lief. 8. 561. 1929.

<sup>75)</sup> Alice Evans. Journ. of Inf. Dis. 22. 580. 1918.



Als oorzaak der besmetting is te verwachten een besmetting door het vee, door rundermelk en door melkproducten. Daar is gebleken, dat de melk een zeer voorname infectiebron zijn kan (v a n d e r H o e d e n kon in 10 van de 24 door hem onderzochte melkmonsters van willekeurige boerderijen uit de provincie Utrecht abortusbacteriën aantoonen), is het zonder meer duidelijk, dat men bij de productie van melk, welke onverhit wordt genuttigd, zeer scherp zal moeten toezien op het voorkomen van abortusbacteriën bij het vee. Nog meer gevaar levert het gebruik van ongepasteuriseerden room, daar zooals v. d. H o e d e n vermeldt, uit publicaties van H u d d l e s o n, H a s l e y en T o r r e y<sup>76)</sup> is gebleken, dat genoemde micro-organismen zich sterk in den room kunnen ophoopen.

Opmerkelijk is, dat ondanks de groote besmettingskansen verbonden aan het gebruik van onverhitte melk of room men slechts een gering aantal ziektegevallen aantreft en ook zooals v. d. H o e d e n uit eigen waarneming vermeldt, dat, terwijl meerdere personen uit één gezin, welke melk dronken, die abortusbacteriën bleek te bevatten, er slechts één ziek werd. Mogelijk spelen veranderlijke stamvirulentie en verschil in gevoeligheid van den mensch hierbij een belangrijke rol.

De mogelijkheid, dat over langeren of korteren tijd blijkt, dat nog andere ziektekiemen van het rund in de melk voorkomend, voor den mensch pathogene eigenschappen bezitten, is niet buitengesloten, men kan van de Overheid niet verlangen, dat zij hierin voorziet.

De absolute waarborg van onschadelijkheid kan zelfs dus niet worden gegeven door de leiding van een in alle opzichten goed ingericht modelmelkbedrijf, zelfs niet al is een ieder, die in het bedrijf medewerkt ter verkrijging van het product, volkomen doordrongen van de verantwoordelijkheid van zijn taak.

<sup>76)</sup> Huddleson, Hasley and Torrey. Journ. of Inf. Dis. 40, 352, 192.



Het ligt niet in de bedoeling om modelmelk als een gevaarlijk voedings- of geneesmiddel te kwalificeeren, maar wij wilden doen uitkomen, dat alleen een productiewijze, waarbij geen enkel onderdeel hoe klein ook wordt verwaarloosd, kan voeren tot een product, dat als onschadelijk voor de gezondheid kan worden aangemerkt, waarbij de waarborg voor zoover deze met den huidige stand van de melkhygiënische kennis in overeenstemming is te brengen, slechts kan worden gegeven door den van zijn verantwoordelijkheid volkomen doordrongen producent.

Het bereiden, bewaren en afleveren van modelmelk is nu eenmaal niet ieders werk. De leider van een dergelijk bedrijf dient dan ook op een bepaald ontwikkelings- en beschavingsniveau te staan, welke waarborgen, dat het vertrouwen, dat de afnemers in hem stellen, ook ten volle gesteld mag en kan worden.

---

### HOOFDSTUK III.

Hoewel het oorspronkelijk slechts in de bedoeling lag waarnemingen in verband met modelmelk te doen, werden toch ook andere melkproducten in onderzoek genomen.

De hierbij verkregen resultaten zullen dan ook hier eveneens worden besproken.

#### A. GEPASTEURISEERDE MELK.

##### § 1. De eischen, aan gepasteuriseerde melk gesteld.

De bacteriologische eischen, welke het Melkbesluit in Art. 13 lid 2 sub a, b en c <sup>77)</sup> aan gepasteuriseerde melk stelt, zijn de volgende:

Zij mag geen kweekbare coli-bacillen bevatten, het aantal kweekbare micro-organismen moet minder dan 25000 per cm<sup>3</sup> bedragen.

De coliproef is hier blijkbaar bedoeld als contrôlemiddel op deugdelijke pasteurisatie, waarbij dan wordt aangenomen, dat het *B. coli* pasteurisatie, zooals die wordt uitgevoerd, in het algemeen niet doorstaat, anders gezegd, dat resistente colistammen zeer sporadisch voorkomen, zooals die door de Jong en de Graaff <sup>78)</sup> werden gevonden; ten tweede wordt bij een negatieven uitslag der coliproef tevens de afwezigheid van pathogene kiemen als *tuberkel-*, *typhus-*, *paratyphus A en B*, *dysenterie*-bacteriën zeer waarschijnlijk. Ook *B. abortus inf. Bang*, welke volgens Sommerfeld <sup>79)</sup> in 10 minuten bij 68° C afsterft, zal in goed gepasteuriseerde melk afwezig zijn.

<sup>77)</sup> Melkbesluit. loc. cit.

<sup>78)</sup> de Jong en de Graaff. Tijdschr. v. Veeartsenijk. dl. 35. 152. 1907.

<sup>79)</sup> Sommerfeld. Handbuch d. Milchkunde. 1919.



## § 2. De coliproef.

cm<sup>3</sup> melk op zuren neutraalrood-lactose-bouillon en beoor-  
 Bij de coliproef in gepasteuriseerde melk entten wij 10  
 deelden het resultaat na 24, in twijfelachtige gevallen na  
 48 uur.

Het bleek nu, dat meerdere malen bij een positief resultaat der vergisting, dit niet kan worden toegeschreven aan het *B. coli*, maar aan de aanwezigheid van *B. butyricus*.

Dit organisme, dat anaërob groeit, was blijkbaar in staat de lactose van den voedingsbodem in de gistbuis te vergisten onder zuur- en gasvorming, gepaard gaande met een sterke reductie van het neutraalrood. Daar het gevormde zuur boterzuur is, is door den karakteristieken boterzuurlucht de aanwezigheid van dit organisme eigenlijk al zonder meer te constateeren, de mogelijkheid, dat bovendien *B. coli* voorkomt, is echter niet uitgesloten. Men zal er dus op verdacht moeten zijn, dat wanneer bij het coli-onderzoek van gepasteuriseerde melk een lactosehoudende voedingsbodem wordt gebruikt zonder meer, een positief uitgevallen proef op één of andere wijze nadere indentificatie van het organisme, dat de vergisting veroorzaakte, behoeft.

De aanwezigheid van *B. butyricus* in gepasteuriseerde melk behoeft geen bevreemding te verwekken, immers als sporogeen organisme zal het de pasteurisatie doorstaan. Het organisme is veelal van faecalen oorsprong, maar komt in veel geringer hoeveelheid dan *B. coli* in faecale stoffen voor. Het feit, dat in 15 % der monsters onderzochte gepasteuriseerde melk dit organisme kon worden aangetoond wettigt dan ook de veronderstelling, dat deze monsters vóór de pasteurisatie rijkelijk faecaalorganismen bevatten.

Een verandering, liever gezegd een bepaalde toevoeging aan den voedingsbodem kan deze meer specifiek maken ten opzichte van de coligroep en wel zoodanig, dat *B. coli* dan nog even goed aantoonbaar is, terwijl *B. butyricus* bij aanwezigheid geen vergissing veroorzaakt.



Wij voegden daartoe aan den voedingsbodem phenol toe in een zoodanige hoeveelheid, dat 50 cm<sup>3</sup> voedingsbodem 1 cm<sup>3</sup> 5 %ige phenol bevatte. (Een variatie dus op Vincent's voedingsbodem, welke bestaat uit alkalischen bouillon met 2 % glucose, per 50 cm<sup>3</sup> bedield met 1 cm<sup>3</sup> 5 %ige phenoloplossing.) Allereerst werd nagegaan of *B. coli* in dezen voedingsbodem na 24 uur op normale wijze groeide. Hiertoe werden van coli-reincultures (uit melk geïsoleerd) emulsies gemaakt van 24 uur oude agar-cultures. Van deze emulsies werd 1 oogje geënt op voedingsbodems, bestaande uit zuren neutraalrood-lactosebouillon, welke phenol in verschillende concentraties bevatte en wel:

|     | bouillon             | phenol 5 %             |                                 |
|-----|----------------------|------------------------|---------------------------------|
| 1.  | 9,95 cm <sup>3</sup> | + 0,05 cm <sup>3</sup> |                                 |
| 2.  | 9,90                 | „ + 0,10               | „                               |
| 3.  | 9,85                 | „ + 0,15               | „                               |
| 4.  | 9,80                 | „ + 0,20               | „ concentratie volgens Vincent. |
| 5.  | 9,75                 | „ + 0,25               | „                               |
| 6.  | 9,70                 | „ + 0,30               | „                               |
| 7.  | 9,65                 | „ + 0,35               | „                               |
| 8.  | 9,60                 | „ + 0,40               | „ dubbele concentratie Vincent. |
| 9.  | 9,55                 | „ + 0,45               | „                               |
| 10. | 9,50                 | „ + 0,50               | „                               |

De proeven werden telkens in triplo ingezet, de voedingsbodems van 1 tot en met 9 gaven steeds positieve resultaten, d.w.z. gas en fluorescentie. Proef 10 viel herhaaldelijk negatief uit, blijkbaar was hier de phenolconcentratie te hoog.

De oorspronkelijke concentratie aan phenol van Vincent leet ons geschikt voor het doel, temeer daar er rekening mee dient te worden gehouden dat de resistentie van verschillende *B. coli* stammen tegen phenol verschillend kan zijn en dat men de weinig tegen phenol resistente stammen niet mag uitschakelen.



Daar bij bovengenoemde proeven gewerkt met hoeveelheden van *B. coli*, welke voor melk abnormaal zijn (immers in een oogje emulsie van 24 uur oude agarcultuur zijn miljoenen bacteriën aanwezig) werden de proeven herhaald op melk, met dien verstande, dat hier alleen de concentratie van No. 4 en No. 8 werden geënt met melk, als controle werd dezelfde voedingsbodem gebruikt echter zonder phenol. Een goede overeenstemming tusschen de proefresultaten werd hierbij bereikt.

Tenslotte werd op den voedingsbodem, welke phenol bevatte in een concentratie als No. 4 en No. 8 *B. butyricus* uit melk geïsoleerd geënt en gekweekt onder anaërobe omstandigheden, met ernaast als contrôle hetzelfde organisme geënt op den voedingsbodem zonder phenol, ook anaëroob gekweekt. Het resultaat was nu, dat in den phenolvrijen voedingsbodem vergisting optrad, in den phenolhoudenden echter niet, zoodat een toevoeging van 1 cm<sup>3</sup> 5 %ige phenol aan 50 cm<sup>3</sup> zuren neutraalrood-lactose-bouillon, dezen voedingsbodem bij uitstek geschikt maakt voor het aantoonen van *B. coli* in gepasteuriseerde melk.

### § 3. Het kiemcijfer.

Behoudens sporadisch voorkomende gevallen met kiemcijfers boven 25000 per cm<sup>3</sup>, waarbij de oorzaak in den regel kon worden opgespoord, met dien verstande, dat het afwijkende monster in den regel abnormaal veel sporendragende micro-organismen bevatte hetwelk weer haar oorzaak kon hebben in een slechte reiniging van de flesch, waarin de melk werd verpakt, of in een abnormaal hoog kiemcijfer van de oorspronkelijke melk, bleek, afgezien van deze uitzonderingen het kiemcijfer der door ons onderzochte monsters ver beneden het toegestane maximum te liggen. De gevonden kiemcijfers lagen tusschen 10 en 2000 per cm<sup>3</sup> met dien verstande, dat in 82 % der gevallen het kiemcijfer



lager was dan 1000 per  $\text{cm}^3$  en in 18 % der gevallen schommelde tusschen 1000 en 2000.

Wij meenen hieruit te mogen besluiten, dat aan de eischen aan gepasteuriseerde melk gesteld zeer gemakkelijk is te voldoen en dat het rationeel zoude zijn het toegestane kiemcijfer te verlagen tot 5000 per  $\text{cm}^3$ .

Het streptococcentiter van gepasteuriseerde melk, waarbij nu ook bij de bepaling bovendien werd ingezet een verdunning bevattende  $1/10 \text{ cm}^3$  der oorspronkelijke melk, vertoonde, hoewel de overeenstemming zooals die bij modelmelk werd vermeld, bleef bestaan wat betreft het optreden van groei in de glucosebouillonbuis een ander beeld. In het sediment werden veelal, vooral in de laatste verdunning welke nog groei vertoonde, alleen staafjes gevonden. De naam „groeititer” zoude hier beter op haar plaats zijn.

## B. KOFFIEROOM.

### § 1. Eenige beschouwingen over koffieroom.

Afgezien van de chemische eischen in het *Melkbesluit* gesteld aan koffieroom komt nog onder Art. 5 lid 3 de eisch voor, dat de reactie van *Storch* negatief moet zijn. Quantitatieve bacteriologische eischen worden niet gesteld.

Daar koffieroom in den regel zonder eenige verandering van toestand te hebben ondergaan door den consument wordt gebruikt, leek het ons van belang den bacteriologischen toestand van dit product na te gaan, daar ons bij een steekproef bleek, dat het negatief uitvallen van de reactie van *Storch* geen waarborg geeft, dat het aantal kweekbare micro-organismen per  $\text{cm}^3$  laag is; evenmin dat bacteriën, welke b.v. in gepasteuriseerde melk practisch afwezig zijn, ook hier niet voorkomen.

De bereiding van koffieroom kan op twee verschillende wijzen geschieden, men kan het product bereiden uit gepasteuriseerde melk of althans uit melk, welke zoodanig is



verhit geweest, dat zij de reactie van *S t o r c h* niet meer vertoont, of uit onverhitte melk en daarna den room pasteuriseeren, steeds zal het eindproduct de reactie van *S t o r c h* niet vertoonen.

De eerst genoemde bereidingswijze is uit hygiënisch oogpunt minder juist, immers het product staat tijdens de bereiding aan infectie's bloot en het ligt voor de hand, dat bij de tweede bereidingswijze de invloed van deze infectie's door de pasteurisatie weder wordt teniet gedaan.

## § 2. De bacteriologische gesteldheid van koffieroom.

Het leek ons nu van belang na te gaan in welken bacteriologischen toestand koffieroom verkeerde. Om hiervan een indruk te verkrijgen werden monsters, uit verschillende plaatsen van ons land afkomstig onderzocht.

Van de monsters werden bepaald: het kiemcijfer, het colititer en het streptococcentiter, terwijl tevens werd nagegaan of het product voldeed aan den eisch, dat de reactie van *S t o r c h* een negatief resultaat moet opleveren. Slechts eenmaal werd een monster onvangen, dat *S t o r c h*-positief was.

Kiemcijfer, colititer en streptococcentiter werden bepaald op de wijzen in de inleiding beschreven.

Hierbij kwamen merkwaardige dingen aan het licht. De uit bacteriologisch oogpunt gunstigen invloed, welke pasteuriseeren op melk heeft, bleek hier niet of althans slechts gedeeltelijk te bestaan. Dit kan verschillende oorzaken hebben. Ten eerste kan ondeugdelijke pasteurisatie van het eindproduct de reden zijn. Ten tweede kan, bij de bereiding uitgaande van gepasteuriseerde melk, infectie tijdens de verdere bereiding de oorzaak zijn, of ook, de melk kan ondeugdelijk zijn gepasteuriseerd.

Een bedrijf, waarmede wij in verbinding staan en dat bij bereiding van room uitging van gepasteuriseerde melk (de



gevonden cijfers motiveeren de veronderstelling, dat alle bedrijven, waarvan wij monsters onderzochten, deze werkwijze volgden, temeer daar de reactie van Storch, negatief uitvallende, wijst op een zoodanige verhitting, dat het vinden van *B. coli* in  $0,1 \text{ cm}^3$  en kiemcijfers boven 1.000.000 per  $\text{cm}^3$  onmogelijk zijn) veranderde na eenigen tijd de bereidingswijze en pasteuriseerde nu den room. Het resultaat was een sterke daling van het kiemcijfer en een verbetering van het colititer.

De resultaten der waarnemingen zijn de volgende:

In monsters vóór de verandering in werkwijze in bovengemeld bedrijf en uit andere bedrijven betrokken werden kiemcijfers aangetroffen varieerend tusschen 102.000 en 129.000.000, in alle was *B. coli* aanwezig in  $0,1 \text{ cm}^3$ .

In monsters, na de verandering in bovengemeld bedrijf werden kiemcijfers aangetroffen varieerend tusschen 25.000 en 200.000, in 10 % der monsters was *B. coli* nog aantoonbaar in  $0,1 \text{ cm}^3$ , in 40 % afwezig in  $0,1 \text{ cm}^3$ , in het overig deel afwezig in  $1 \text{ cm}^3$ .

Bij pasteurisatie vóór de bereiding heeft bij de verdere behandeling een infectie plaats van kiemen en van *B. coli*, terwijl de mogelijkheid bestaat, dat ook pathogene micro-organismen in het product geraken en er bovendien in aanwezig blijven.

Bij pasteurisatie van het eindproduct, waarbij in den regel een sterke verlaging van het kiemcijfer wordt bereikt, is ook nog *B. coli* aanwezig in ontoelaatbare hoeveelheid.

Pasteurisatie op hogere temperatuur dan de tot nu toe aangewende, zal noodig zijn om een colivrij product te verkrijgen, hetgeen wij noodzakelijk achten.

Immers, na de voorgenoemde verandering in werkwijze waarbij de gepasteuriseerde room werd afgetapt in gesteriliseerde fleschjes kan de aanwezigheid van coli-organismen slechts worden verklaard door te lage pasteurisatie.

De overeenstemming tusschen groeititer en kiemcijfer was



zoodanig, dat in den regel in het laatste sediment slechts staafjes, zelden streptococcen of diplococcen werden gevonden.

---

### SAMENVATTING.

Eenige beschouwingen over modelmelk werden gegeven en de voorzorgen, welke bij de winning in acht moeten worden genomen, werden besproken.

De infectie-mogelijkheden, welke bij de winning kunnen optreden werden nader onder het oog gezien en waarnemingen hieromtrent gedaan.

De verschillende wijzen, waarop in ons land getracht wordt modelmelk te winnen werden besproken en bepalingen van kiemcijfer, colititer en streptococcentiter werden verricht. Een overzicht van de voornaamste litteratuur betreffende het streptococcenvraagstuk werd gegeven, terwijl tevens de gevoeligheidsgrens werd bepaald van een methode, welke het mogelijk maakt een vervalsching van rauwe melk met verhitte aan te toonen.

De mogelijkheid en de wenschelijkheid van wettelijke waarborgen ten opzichte van modelmelk werden besproken.

Tenslotte werden beschouwingen over gepasteuriseerde melk en koffieroom gegeven en werden bepalingen verricht, waaruit de bacteriologische gesteldheid van deze beide producten bleek.

---

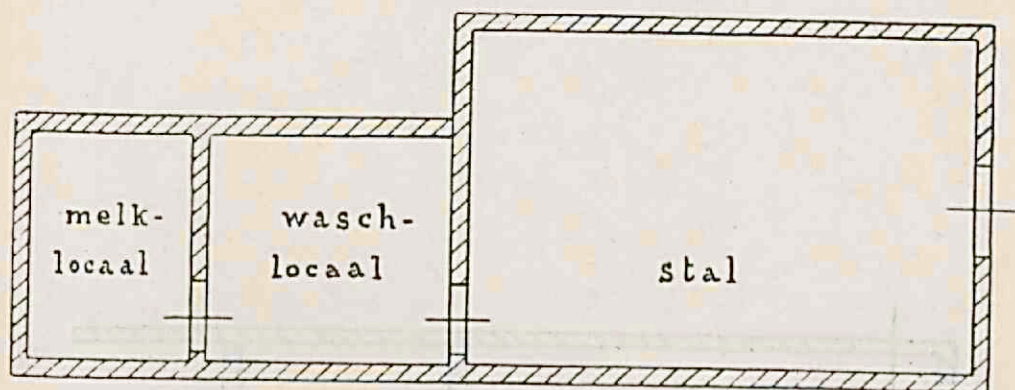


fig. 1.

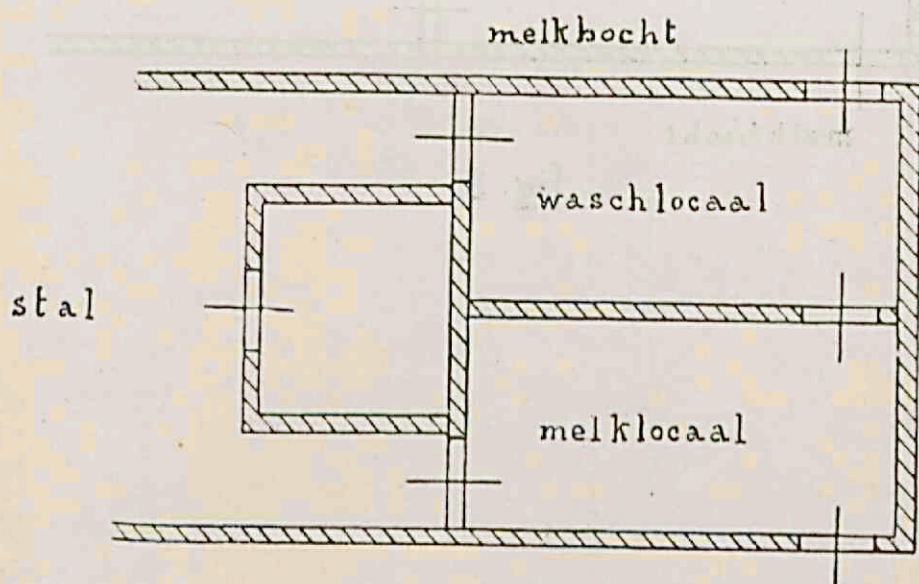


fig. 2.



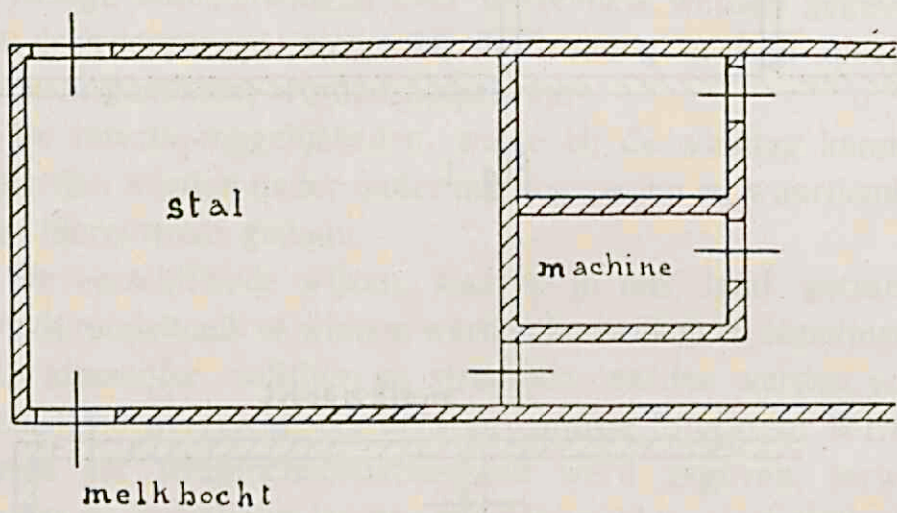


fig. 3.

# STELLINGEN.

---

## I.

Maurer, Ohle en Marecek hebben de 1-5 ringstructuur van glucose niet bewezen.

Maurer. Ber. 63, 25, 1930.

Ohle und Marecek. Ber. 63, 612, 1930.

## II.

De waarde van de onderzoeken van Schmidt en Sheard over het electrolytisch geleidingsvermogen van zoutdampen is door het onderzoek van Querengässer zeer twijfelachtig geworden.

Schmidt. Ann. d. Physik 35, 401, 1911;  
41, 673, 1913; 56, 341, 1918; 72, 565,  
1923.

Sheard. Phil. Mag. 25, 370, 1913.

Querengässer. Z. f. Elektr. Ch. 34,  
199, 1929.

## III.

De adsorptie van actieve kool is afhankelijk van hare gasbelading.

Bruns und Frumkin. Z. f. Phys. Ch.  
141, 141, 1929.

Burstein und Frumkin. Z. f. Phys. Ch.  
141, 158, 1929.





#### IV.

Het onderzoek van Spiritus fortior volgens de Ned. Pharm. Ed. V. geeft onvoldoenden waarborg voor een zuiveren alcohol.

#### V.

Het gebruik van natriumaluminaat met aluin voor het klaren van water en afvalwater verdient de voorkeur boven het gebruik van andere klaringsmiddelen.

Ripple, Turre and Christman. Ind. and Eng. Chem. 20, 748, 1928.

Holmes and Fink. Ind. and Eng. Chem. 21, 150, 1929.

#### VI.

Bact. abortus infectiosi Bang en Brucella melitensis Bruce zijn soortongelijk.

#### VII.

De verdeeling van één melksoort in verschillende graden van zuiverheid, zooals in Amerika en Engeland geschiedt, is te verwerpen.

#### VIII.

Het is noodzakelijk, dat in het Melkbesluit eischen worden worden opgenomen omtrent het kiemcijfer en het colititer van koffie- en slagroom.























