
Inhoudsopgave

DEEL 1	Algemeen	19
1.1	Aanwijzingen voor microbiologisch onderzoek	20
1.1.1	Inleiding	20
1.1.2	Veilig werken	20
1.1.3	Inrichting	22
1.1.4	Personeel	23
1.1.5	Persoonlijke hygiëne	24
1.1.6	Apparatuur	25
1.1.7	Beheer van apparatuur	34
1.1.8	Materialen	34
1.1.9	Media	37
1.1.10	Bereiden en bewaren van media	40
1.1.11	Gieten van platen	44
1.1.12	Uitvoering van het onderzoek	46
1.1.13	Resuscitatie	47
1.1.14	Bebroeden (aeroob, anaeroob en micro-aeroob)	48
1.1.15	Microbiologisch laboratoriumafval	48
1.2	Kwalitatieve methoden (grensreactie, MPN)	50
1.2.1	Inleiding	50
1.2.2	Grensreactie	51
1.2.3	Meest waarschijnlijke aantal (MPN)	52
1.2.4	Uitvoering MPN	53
1.2.5	Beoordelen resultaten	54
1.2.6	Bepalen MPN	54
1.3	Kwantitatieve plaatmethode (telling)	60
1.3.1	Inleiding	60
1.3.2	Bepaling in tweevoud of duplo	60
1.3.3	Beoordelen van platen en berekenen van het kiemgetal	61
1.3.4	Vergelijken van resultaten	64
1.3.5	Bijzondere gevallen	64
1.3.6	Maximaal verschil in aantal kolonies tussen 2 platen (bepaling in tweevoud)	69
1.3.7	Maximaal verschil in uitkomsten bij duplobepalingen	71
1.3.8	Bevestigingsreacties	71
1.4	Kwaliteitsborging	72
1.4.1	Inleiding	72
1.4.2	Eerstelijnscontrole	72
1.4.3	Tweedelijnscontrole	74
1.4.4	Derdelijnscontrole	74
1.5	Validatie, verificatie en normalisatie	76
1.5.1	Validatie van methoden	76
1.5.2	Verificatie	78
1.5.3	Meetonzekerheid	79
1.5.4	Normalisatie	81
1.6	Monsternamen en -transport	88
1.6.1	Inleiding	88
1.6.2	Monsternamen schema's	88

1.6.3	Keuze van de monsters	94
1.6.4	Statistische aspecten	96
1.6.5	Monstername van levensmiddelen	98
1.6.6	Monstername van water	99
1.6.7	Transport en bewaring	100
1.6.8	Ontvangst en registratie	101
1.6.9	Bewaren van monsters na onderzoek	102
1.7	Bereiding en verdunning van monsters	104
1.7.1	Inleiding	104
1.7.2	Monstervoorbereiding	105
1.7.3	Verdunningsvloeistof	105
1.7.4	Homogenisatie met verdunningsvloeistof	106
1.7.5	Verdunnen van vloeibare producten	106
1.7.6	Verdunnen van niet-vloeibare producten	107
1.7.7	Aanwezigheid van groeiremmende stoffen	108
1.7.8	Bijzondere gevallen	109

DEEL 2	Groepering en identificatie van micro-organismen	117
2.1	Inleiding	118
2.2	Kleuren van micro-organismen	120
2.2.1	Inleiding	120
2.2.2	Waterpreparaat	120
2.2.3	Hangende druppeltechniek	121
2.2.4	Gramkleuring	122
2.2.5	Alternatieven voor Gramkleuring	123
2.2.6	Methyleenblauwkleuring	124
2.2.7	Flagellenkleuring	125
2.2.8	Sporenkleuring voor bacteriën	126
2.2.9	Sporenkleuring voor gisten	127
2.3	Bevestiging en identificatie of determinatie	128
2.4	Typering	135
2.5	Schimmeldeterminatie	136
2.5.1	Inleiding	136
2.5.2	Nadere identificatie	136
2.5.3	Determinatieschema	137

DEEL 3	Voedselveiligheid: voedselinfecties en -vergiftigingen	149
3.1	Pathogene bacteriën en symptomen	150
3.2	Overige oorzaken	154
3.2.1	Mycotoxinen	154
3.2.2	Fycotoxinen	155
3.2.3	Fytotoxinen	156
3.2.4	Virussen	156
3.2.5	Parasieten	157
3.2.6	Biogene aminen	159
3.2.7	Bovine Spongiforme Encephalopathie (BSE)	160
3.3	Betrokken producten	161
3.4	Onderzoek naar oorzaken	162
3.5	Onderzoek van levensmiddelen	164

DEEL 4	Onderzoek van voedingsmiddelen, diervoeders en overige producten	167
4.1	Inleiding	167
4.2	Cacao, cacaoproducten en chocolade	170
4.3	Diervoeders	173
4.4	Droge voedingsmiddelen	175
4.4.1	Granen en graanproducten	175
4.4.2	Deegwaren	176
4.4.3	Specerijen en kruiden	176
4.4.4	Puddingpoeders	177
4.5	Ei en eiproducten	179
4.5.1	Ei	179
4.5.2	Eiproducten	181
4.6	Frisdranken en vruchtensappen	184
4.6.1	Frisdranken	184
4.6.2	Vruchtensappen	185
4.7	Groenten en fruit	188
4.8	Kip, kipproducten, overig gevogelte en wild	191
4.8.1	Kip en kipproducten	191
4.8.2	Overig gevogelte	192
4.8.3	Wild	192
4.9	Melk en melkproducten	194
4.9.1	Melk	194
4.9.2	Boter	196
4.9.3	Kaas	197
4.9.4	Melkpoeder	200
4.9.5	Yoghurt en gefermenteerde zuivel dranken	201
4.10	Samengestelde voedingsmiddelen	203
4.10.1	Kokswaars	203
4.10.2	Gekoelde maaltijden	205
4.10.3	Banketbakkerswaren	206
4.11	Vis, visproducten, schaal- en schelpdieren	208
4.11.1	Vis	208
4.11.2	Visproducten	211
4.11.3	Schaal- en schelpdieren	213
4.12	Vlees en vleesproducten	215
4.12.1	Vlees	215
4.12.2	Vleesproducten	217
4.13	Volconserven	220
4.14	Water	223
4.14.1	Drinkwater	223
4.14.2	Flessenwater	225
4.14.3	Proceswater	227
4.14.4	Zwemwater in badinrichtingen en zwemgelegenheden	227
4.14.5	Oppervlaktewater als zwemwater	228
DEEL 5	Onderzoek in de productieomgeving	233
5.1	Inleiding	234
5.1.1	Primaire productiefase	234
5.1.2	Productieomgeving	235

5.2	Onderzoek van karkassen	236
5.2.1	Kurkboor- of framemethode	238
5.2.2	Onderzoek met swabs	240
5.2.3	Onderzoek met sponsjes	241
5.3	Onderzoek van pluimveekarkassen	243
5.3.1	Spoelmethode	243
5.3.2	Huidonderzoek	244
5.3.3	Onderzoek met swabs	245
5.4	Onderzoek van oppervlakken	246
5.4.1	Onderzoek met afdrukplaatjes en dipslides	248
5.4.2	Onderzoek met swabs	248
5.4.3	Onderzoek met sponsjes of doeken (grote oppervlakken)	250
5.4.4	Hygiënescores	251
5.5	Onderzoek van handen	253
5.5.1	Onderzoek met afdrukmethode	253
5.5.2	Onderzoek met spoelmethode	254
5.6	Onderzoek van lucht	255
5.6.1	Luchtbemonstering	255
5.6.2	Schimmelsporen in lucht	257
5.6.3	Richtlijnen luchtkwaliteit	257
5.7	Opsporen van een huiskiem	258

DEEL 6	Alternatieve methoden	259
6.1	Inleiding	260
6.2	Methoden afgeleid van de klassieke isolatiemethoden	263
6.2.1	Standaard plaattelling	263
6.2.2	Spiraalplaatapparaat	263
6.2.3	Fluorogene en chromogene media	264
6.2.4	Rehydrateerbare agarfilms	264
6.2.5	Tempo	264
6.3	Methoden gebaseerd op microscopie	267
6.3.1	Directe microscopische tellingen (DMT)	267
6.3.2	Flowcytometer	267
6.3.3	Direct Epifluorescent Filter Technique (DEFT)	268
6.4	Methoden gebaseerd op de activiteit van micro-organismen	269
6.4.1	Impedantie	269
6.4.2	Diagnostische kits	269
6.5	Methoden gebaseerd op de detectie van biochemische componenten	271
6.5.1	Adenosinetrifosfaat (ATP)	271
6.6	Immunologische methoden	273
6.6.1	(Latex)agglutinatie-test	273
6.6.2	Immunoconcentratie	273
6.6.3	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	273

Deel 7	Moleculair-biologische methoden	277
7.1	Inleiding	278
7.2	Principe	279
7.3	DNA-probes	280
7.3.1	Fluorescentie <i>in situ</i> hybridisatie (FISH)	280

7.3.2	Micro-arrays	281
7.4	Polymerase Chain Reaction (PCR)	283
7.4.1	Klassieke PCR	283
7.4.2	Real-time PCR	284
7.4.3	Toepassingen van PCR	286
7.4.4	Problemen in de praktijk	286
7.5	Kwantitatieve real-time PCR	289
7.6	Amplificatie van RNA	290
7.7	Moleculaire typering	291
7.7.1	Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)	291
7.7.2	Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)	291
7.8	Typering via restrictie en hybridisatie	293
7.8.1	Restrictie Enzym Analyse (REA)	293
7.8.2	Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	293
7.8.3	Ribotypering	293
7.8.4	Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)	293
7.9	Populatiestudies	294
7.9.1	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)	294
7.9.2	Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism analysis (T-RFLP)	295
<hr/>		
DEEL 8	Overige bepalingen	299
8.1	Productiviteits- en selectiviteitstesten bereide media	300
8.1.1	Inleiding	300
8.1.2	Kwantitatief onderzoek van vaste media	300
8.1.3	Kwantitatief onderzoek van vloeibare media	302
8.1.4	Semi-kwantitatief onderzoek van vaste media	305
8.1.5	Semi-kwantitatief onderzoek van vloeibare media	306
8.1.6	Kwalitatief onderzoek van vaste media	308
8.1.7	Kwalitatief onderzoek van vloeibare media	310
8.2	Desinfectantia	318
8.2.1	Inleiding	318
8.2.2	Bepaling bactericide werking van een product	318
8.2.3	Bepaling fungicide werking van een product	321
8.2.4	Verificatie	325
8.2.5	Validatie	326
8.2.6	Bewaren van bacterie- en schimmelstammen gebruikt voor bepalen bactericide en fungicide werking	328
8.3	Bacteriofagen	331
8.3.1	Inleiding	331
8.3.2	Methode voor aantonen van bacteriofagen	332
8.4	Bacteriegroeiremmende stoffen	338
8.4.1	Inleiding	338
8.4.2	Bepaling bacteriegroeiremmende stoffen in vlees	338
8.4.3	Bepaling bacteriegroeiremmende stoffen in melk en melkproducten	340
8.4.4	Bewaren van bacteriestammen gebruikt voor bepalen aanwezigheid bacteriegroeiremmende stoffen	341
8.5	Fosfatasetest	343
8.5.1	Inleiding	343
8.5.2	Bepaling aanwezigheid fosfatase	343

8.6	Microscopische tellingen	345
8.6.1	Inleiding	345
8.6.2	Telling volgens Breed	345
8.6.3	Telling volgens Bürker-Türk	346

DEEL 9	Onderzoek van micro-organismen in voedingsmiddelen en diervoeders	349
9.1	<i>Acetobacter</i>	350
9.2	<i>Bacillus cereus</i>	352
	A. Grensreactie	353
	B. MPN	355
	C. Telling	357
9.3	Boterzuurbacterien (sporen)	359
9.4	<i>Campylobacter</i>	362
9.5	<i>Clostridium botulinum</i>	368
9.6	<i>Clostridium perfringens</i>	369
9.7	Coagulasepositieve staphylococcen	372
	A. Grensreactie	374
	B. MPN	376
	C. Telling	377
9.8	Coliformen	379
	A. Grensreactie	380
	B. MPN	381
	C. Telling	382
9.9	Eiwitsplitsende micro-organismen	384
9.10	<i>Enterobacteriaceae</i>	386
	A. Grensreactie	387
	B. MPN	389
	C. Telling	390
9.11	<i>Enterobacter sakazakii</i>	392
9.12	Enterococcen	397
9.13	<i>Escherichia coli</i>	399
	A. Grensreactie	401
	B1. MPN	402
	B2. MPN met chromogeen medium	403
	C1. Telling met resuscitatiemedium	404
	C2. Telling met gietplaten	405
9.14	<i>Escherichia coli</i> O157	407
9.15	Gisten en schimmels	412
9.16	Halofiele bacteriën	415
9.17	Kiemgetallen - Algemene informatie	416
9.18	Kiemgetallen - Aeroob kiemgetal en aerobe bacteriesporen (mesofiel)	418
9.19	Kiemgetallen - Anaeroob kiemgetal en anaerobe bacteriesporen (mesofiel)	421
9.20	Kiemgetallen - Psychroroof aeroob kiemgetal	423
9.21	Kiemgetallen - Psychroroof aeroob kiemgetal van melk (telling bij 21°C)	425
9.22	Kiemgetallen - Thermofiele micro-organismen en thermofiele bacteriesporen	426
9.23	Kiemgetallen - Thermoresistente micro-organismen	429
9.24	<i>Listeria monocytogenes</i>	431
9.25	Melkzuurbacteriën	438
	9.25.1 Melkzuurbacteriën als bederfflora	438
	A. Lactobacillen (gasvormende zouttolerante)	438

	B. Lactobacillen in kaas en kaasproducten	440
	C. Melkzuurbacteriën in levensmiddelen	442
	D. Streptococcon (thermostistente)	444
9.25.2	Melkzuurbacteriën als functionele microflora	446
	A. Bifidobacteriën (inclusief <i>Bifidobacterium bifidum</i>)	448
	B1. Citraatfermenterende melkzuurbacteriën (coccon)	449
	B2. Citraatfermenterende melkzuurbacteriën (<i>Leuconostoc</i>)	450
	C. <i>Enterococcus</i>	451
	D. <i>Lactobacillus</i>	451
	E. <i>Lactobacillus acidophilus</i> in zuivelproducten	452
	F. <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	453
	G. <i>Streptococcus</i> en <i>Lactococcus</i>	454
9.26	<i>Pseudomonas</i>	456
9.27	<i>Salmonella</i>	458
	9.27.1 <i>Salmonella</i> in levensmiddelen	459
	9.27.2 <i>Salmonella</i> in melk en melkproducten	465
	9.27.3 <i>Salmonella</i> in dierlijke feces en monsters uit de primaire productieomgeving	468
9.28	<i>Shigella</i>	471
9.29	Sulfietreducerende clostridia	477
9.30	Vetsplitsende micro-organismen	479
9.31	<i>Vibrio</i> (enteropathogene)	481
9.32	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	486
9.33	<i>Yersinia enterocolitica</i>	491

DEEL 10	Onderzoek van micro-organismen in water	497
10.1	<i>Aeromonas</i>	498
10.2	Aeroob kiemgetal bij 22°C en 37°C	501
10.3	<i>Campylobacter</i> (thermofiele)	503
10.4	<i>Clostridium perfringens</i>	507
10.5	Coliformen	509
	10.5.1 Coliformen in drinkwater	509
	10.5.2 Coliformen in oppervlaktewater (inclusief thermotolerante coliformen)	511
	A. MPN	512
	B. Telling	513
10.6	Enterococcon	516
10.7	<i>Escherichia coli</i>	518
10.8	<i>Legionella</i>	520
10.9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	525
10.10	<i>Salmonella</i>	528
10.11	Sulfietreducerende clostridia (sporen)	533
	A. MPN	534
	B. Telling	534

DEEL 11	Bevestigingsreacties	537
11.1	Inleiding	538
11.2	Principe	539
	11.2.1 Acetylmethylcarbinolvorming (Voges-Proskauer-test)	539
	11.2.2 Beweeglijkheid	539
	11.2.3 Citraattest	540

11.2.4	Coagulasetest	540
11.2.5	Esculinehydrolysetest	540
11.2.6	Fermentatie van suikers (zoals glucose, lactose, rhamnose, sucrose, trehalose, xylose)	540
11.2.7	β -Galactosidasetest	541
11.2.8	Gelatinasetest	541
11.2.9	H ₂ S-vorming	542
11.2.10	Hippuraathydrolysetest	542
11.2.11	Indoolvorming	542
11.2.12	Katalasetest	542
11.2.13	Lysine-decarboxylasetest	542
11.2.14	Nitraatreductie	543
11.2.15	Ornithine-decarboxylasetest	543
11.2.16	Oxidasetest	543
11.2.17	Pyrazinamidasetest	544
11.2.18	Ureasetest	544
11.3	Werkwijze	545
11.3.1	Acetylmethylcarbinolvorming met Voges-Proskauer (VP)-medium	545
11.3.2	Aerobe/anaerobe groei met saline meat yeast-agar	545
11.3.3	Ammoniadetectie met acetamidebouillon en Nesslerreagens	545
11.3.4	Argininedihydrolysetest met argininedihydrolysemedium	545
11.3.5	Beweeglijkheidstest met semi-vaste nutriëntagar	546
11.3.6	Calciumafhankelijkheid bij 37°C met caseïnesoya-agar (met magnesium en oxalaat)	546
11.3.7	CAMP-test met CAMP-platen	546
11.3.8	Citraattest met Christensen's-medium	547
11.3.9	Citraattest met Simmons-medium	547
11.3.10	Coagulasetest met coagulaseplasma	547
11.3.11	Detectie van fluorescentie en/of pigmenten met King's B-agar	548
11.3.12	Esculinehydrolyse met esculine-agar	548
11.3.13	Esculinehydrolyse met esculinehydrolyse-agar	548
11.3.14	Fermentatie en/of oxidatie van glucose met Oxidatie- en Fermentatie (O/F)-medium	548
11.3.15	Fermentatie van dulcitol, glucose, lactose, mannitol, melbiose, raffinose, salicine, sorbitol, sucrose en xylose met koolhydraatbouillon voor <i>Shigella</i>	548
11.3.16	Fermentatie van glucose en lactose met Kligler-agar	549
11.3.17	Fermentatie van glucose, lactose en sucrose met Triple Sugar Iron (TSI)-agar	549
11.3.18	Fermentatie van glucose met glucose-agar	549
11.3.19	Fermentatie van lactose en gasvorming met Lactose Sulfiet (LS)-bouillon	550
11.3.20	Fermentatie van lactose en gelatineafbraak met Lactose Gelatine (LG)-medium	550
11.3.21	Fermentatie van lactose met Brilliant Green Bile (BGB)-bouillon	550
11.3.22	Fermentatie van rhamnose en xylose met rhamnose- en xylosebouillon voor <i>Listeria</i>	550
11.3.23	Fermentatie van sorbitol, rhamnose, sucrose, melbiose en amygdaline met koolhydraatbouillon voor <i>Enterobacter sakazakii</i>	550
11.3.24	Fermentatie van sucrose, rhamnose, trehalose en xylose met koolhydraatbouillon voor <i>Yersinia enterocolitica</i>	550
11.3.25	β -Galactosidasetest met β -galactosidasereagens en toluen	551
11.3.26	Gasvorming uit glucose met glucose-vergiftigingsmedium	551
11.3.27	Gevoeligheid voor nalidixinezuur en cefalothine met Mueller Hinton-bloedagar	551
11.3.28	Gevoeligheid voor O129 met zoutnutriëntagar	552
11.3.29	Groei (micro-aeroob) bij 25°C met Columbia-bloedagar	552
11.3.30	Groei (aeroob) bij 41,5°C met Columbia-bloedagar	552
11.3.31	β -Hemolysetest met schapenbloed(agar)	552
11.3.32	Hippuraathydrolysetest met hippuraathydrolyse-reagentia	553

11.3.33	Indoelvorming met trypton/tryptofaanmedium* en Kovacsreagens	553
11.3.34	Indoelvorming met ureumtryptofaanmedium en Kovacsreagens	554
11.3.35	Indoxylacetaathydrolysetest met indoxylacetaatschijfjes	554
11.3.36	Katalasetest met waterstofperoxide-oplossing (3%)	554
11.3.37	Lysine-decarboxylasetest met lysine-decarboxylatiemedium	554
11.3.38	Lysine-decarboxylasetest met zoutmedium	555
11.3.39	Natriumacetaattest met natriumacetaatagar	555
11.3.40	Natriummucaattest met natriummucaatbouillon	555
11.3.41	Nitraatreductie en beweeglijkheid met Beweeglijkheid Nitraat (BN)-medium en nitrietreagens	555
11.3.42	Nitraatreductie met nitraatmedium	555
11.3.43	Ornithine-decarboxylasetest met ornithine-decarboxylatiemedium	556
11.3.44	Oxidasetest met oxidasereagens	556
11.3.45	Pyrazinamidasetest met caseïnesoya-agar voor pyrazinamidasetest	556
11.3.46	Serologische bevestiging van <i>Salmonella</i> met mono- en polyvalentserum	556
11.3.47	Serologische bevestiging van <i>Shigella</i> met antisera	557
11.3.48	Tween-esterasetest met Tween-esterasemedium	558
11.3.49	Ureasetest met ureumagar	558
11.3.50	Ureasetest met ureumtryptofaanmedium	558

DEEL 12	Media en reagentia	561
12.1	Verdunningsvloeistoffen, ophopings- en isolatiemedi	562
12.2	Bevestigingsmedia en reagentia	629
12.3	Media en reagentia deel 2 en deel 8	657
12.3.1	Kleuren van micro-organismen	657
12.3.2	Desinfectantia	660
12.3.3	Bacteriofagen	662
12.3.4	Bacteriegroeiremmende stoffen	663
12.3.5	Fosfatasetest	666

DEEL 13	Overige informatiebronnen	669
13.1	Overzicht genormaliseerde voorschriften	670
13.2	Eigenschappen van in voedingsmedia gebruikte indicatoren	682
13.3	Overzicht van in voedingsmedia gebruikte groeiremmende componenten	683
13.4	Aanbevolen literatuur	685
13.5	Aanbevolen internetsites	686
13.6	Referentiematerialen, -stammen en ringonderzoeken	688
13.6.1	Referentiematerialen	688
13.6.2	Referentiestammen en cultuurcollecties	689
13.6.3	Ringonderzoeken	691
13.7	Overzicht van laboratoria voor microbiologisch onderzoek	692
13.7.1	Bedrijven in Nederland	692
13.7.2	Bedrijven in België	695
13.8	Enkele fabrikanten van media	699
13.9	Enkele leveranciers van (kant-en-klare) media en overige benodigdheden	700
13.9.1	Bedrijven in Nederland	700
13.9.2	Bedrijven in België	704

Index		719
--------------	--	-----
