

MICROBIOLOGIE VAN VOEDINGSMIDDELEN

Methoden, principes en criteria

Vijfde druk

Colofon

Microbiologie van Voedingsmiddelen - Methoden, principes en criteria

ISBN 978-90-8572-056-0

Microbiologie van Voedingsmiddelen - Methoden, principes en criteria is een uitgave van:

MYbusinessmedia

Essebaan 63c, 2908 LJ Capelle aan den IJssel

Postbus 8632, 3009 AP Rotterdam

Tel. +31 (0)10 - 28 94 078 / 010 - 28 94 008

Fax +31 (0)10 - 28 94 076

E-mail: klantenservice@mybusinessmedia.nl

Internet: www.vmt.nl

Uitgever

Drs. S. Wanders

Eindredactie

Ir. R. Dijk

Algemene coördinatie

Ing. J. Damman

Vormgeving

I. van der Valk, Arnhem

Illustraties

KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein

R. Dijk, Doesburg

Wageningen Universiteit, Laboratorium voor Levensmiddelenmicrobiologie, Wageningen

Dit boekwerk is met de grootste zorgvuldigheid en nauwkeurigheid samengesteld. De redactie en uitgever nemen geen verantwoording voor de juistheid van door derden verstrekte gegevens, noch voor de gevolgen van onjuistheden en zetfouten die in handboeken met een veelheid aan gegevens, blijkens de ervaring, zelfs bij de meest nauwkeurige en zorgvuldige bewerking kunnen voorkomen.

© 2015

MYbusinessmedia

Behoudens uitzondering door de Wet gesteld, mag zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de recht-hebbende(n) op het auteursrecht niets uit deze uitgave verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotocopie, microfilm of anderszins, hetgeen ook van toepassing is op de gehele of gedeeltelijke bewerking. De uitgever is met de uitsluiting van ieder ander gerechtigd de door derden verschuldigde vergoe-dingen van kopiëren, als bedoeld in artikel 17 lid 2 van de Auteurswet van 1912 en in het Koninklijk Besluit van 20 juni 1974 (Stb. 351) ex-artikel 16b van de Auteurswet 1912, te innen en/of daartoe in en buiten rechte op te treden.

Foto cover: *Salmonella* op Mannitol Lysine Crystalviolet Brilliantgreen (MLCB)-agar.

Microbiologie van Voedingsmiddelen

Methoden, principes en criteria

De onafhankelijke redactie van deze uitgave wordt gevormd door vertegenwoordigers van toonaangevende organisaties op het gebied van microbiologisch onderzoek. Vrijwel alle auteurs hebben zitting in de normcommissie Microbiologie van de voedselketen en de werkgroep Zuivelmicrobiologie van het Nederlands Normalisatie-instituut (NEN) in Delft.

De redactie bestaat uit de volgende personen:

Ir. Roelina Dijk, Dijk Food Consultancy

Dr. Dick van den Berg, LabQuest

Dr. Rijkelt Beumer, Wageningen Universiteit

Ir. Enne de Boer, NVWA/FiMM

Drs. Arnold Dijkstra, CSK Food Enrichment C.V.

Laura Mout MSc, Nederlands Normalisatie-instituut (NEN)

Ir. Henk Stegeman

Prof. dr. ir. Mieke Uyttendaele, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen - Universiteit Gent

Ing. Simon in 't Veld, Vitens

Toelichting

De opzet van dit boek is zodanig dat het de lezer langs de verschillende facetten van het microbiologisch onderzoek leidt. De redactie vindt het belangrijk niet alleen de methoden te beschrijven, maar ook om achtergrondinformatie te geven over zowel de theoretische aspecten als de gebruikservaringen die belangrijk zijn in levensmiddelenmicrobiologie en vooral voor het microbiologisch onderzoek in de praktijk.

Deel 1 start met het geven van algemene aanwijzingen voor een correcte uitvoering van het microbiologisch onderzoek. Aan de orde komen aspecten als veilig werken, de inrichting van het laboratorium en het bereiden van media. Ook de verdere uitvoering van het onderzoek komt uitgebreid aan bod: welke factoren zijn belangrijk bij de monstername, het transport van monsters naar het laboratorium en bij het bereiden van verduunningen. Verder wordt ingegaan op zaken als kwaliteitsborging, validatie, verificatie en normalisatie van microbiologisch onderzoek. Dit deel sluit af met een bespreking van de alternatieve, meestal snellere, microbiologische methoden.

In Deel 2 staan tabellen voor groepering en identificatie van micro-organismen weergegeven. Hier is een bewuste keuze gemaakt voor een beperkt aantal tabellen, omdat de klassieke 'bonte rij' in de praktijk verdrongen is door eenvoudiger te gebruiken determinatiesystemen.

Jaarlijks worden circa 2 twee miljoen mensen ziek worden door het eten van voedingsmiddelen.

Deel 3 geeft daarom informatie over de voedselveiligheid (voedselinfecties en -vergiftigingen): hoe ontstaat een voedselinfectie of -vergiftiging en wat zijn de belangrijkste microbiële veroorzakers.

Deel 4 behandelt diverse groepen voedingsmiddelen (inclusief water) en diervoeders. Er wordt aangegeven waaruit de microflora van de producten veelal bestaat en welke bederfveroorzakers en pathogenen aanwezig kunnen zijn. Bij iedere productgroep worden de microbiologische criteria gegeven waaraan producten moeten voldoen of – bij gebrek daaraan – worden richtlijnen vermeld. Het onderzoek in de productieomgeving komt aan bod in Deel 5. Dit deel geeft antwoord op vragen als 'Hoe en met welke materialen vindt het microbiologisch onderzoek van karkassen (primaire productiefase), handen, lucht, water en omgeving plaats?'

Het testen van de kwaliteit van (zelf) bereide media en de werking van desinfectantia volgt in Deel 6. Ook op welke wijze bacteriofagen en bacteriegroeiremmende stoffen in producten zijn aan te tonen, worden behandeld.

De delen 7 en 8 vormen de kern van dit methodenboek: het microbiologisch onderzoek van voedingsmiddelen en water. Deel 7 vermeldt hoe het onderzoek van voedingsmiddelen plaats vindt en met welke technieken (ophoping, isolatie, bevestiging). Het onderzoek van water staat in Deel 8. Stap voor stap en in korte, krachtige zinnen staat vermeld wat moet worden gedaan. De specifieke bevestigingstesten voor zowel levensmiddelen- als wateronderzoek beslaan Deel 9.

Om het geheel van werkzaamheden overzichtelijk te houden, zijn de bereiding en samenstellingen van de media in Deel 10 opgenomen. Deel 11 ten slotte, vermeldt de overige bronnen van informatie waaronder door de redactie aanbevolen boeken en websites, (geaccrediteerde) laboratoria voor microbiologisch onderzoek, verkrijgbaarheid van referentiematerialen en referentiestammen en fabrikanten en leveranciers van laboratoriumbenodigdheden in zowel Nederland als België.

In deze uitgave van het methodenboek zijn de delen waarin de alternatieve en moleculair-biologische methoden werden besproken niet meer opgenomen. De reden hiervoor is de uitgave van het boek 'Snelle Methodes; microbiologie van voedingsmiddelen en water' in 2012 door Mybusinessmedia, waarin deze en andere informatie zeer uitgebreid en op een praktische manier worden beschreven.

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	23
1.1.4	Personeel	24
1.1.5	Persoonlijke hygiëne	24
1.1.6	Apparatuur	25
1.1.7	Beheer van apparatuur	35
1.1.8	Materialen	36
1.1.9	Media	38
1.1.10	Bereiden en bewaren van media	41
1.1.11	Gieten van platen	45
1.1.12	Uitvoering van het onderzoek	47
1.1.13	Resuscitatie	49
1.1.14	Bebroeden (aeroob, anaeroob, micro-aeroob)	50
1.1.15	Desinfectie van besmette oppervlakken en materialen	50
1.1.16	Microbiologisch laboratoriumafval	51
1.2	Monstername en -transport	53
1.2.1	Inleiding	53
1.2.2	Monstername schema's	53
1.2.3	Keuze van de monsters	61
1.2.4	Statistische aspecten	62
1.2.5	Monstername van levensmiddelen	65
1.2.6	Monstername van water	66
1.2.7	Transport en bewaring	67
1.2.8	Ontvangst en registratie	67
1.2.9	Bewaren van monsters na onderzoek	69
1.3	Bereiding en verdunning van monsters	70
1.3.1	Inleiding	70
1.3.2	Monstervoorbereiding	71
1.3.3	Verdunningsvloeistof	73
1.3.4	Homogenisatie met verdunningsvloeistof	73
1.3.5	Verdunnen van vloeibare producten	74
1.3.6	Verdunnen van niet-vloeibare producten	74
1.3.7	Aanwezigheid van bacteriegroeiremmende stoffen	75
1.3.8	Bakkerijproducten	76
1.3.9	Bevroren producten	76
1.3.10	Bloem, granen en graanproducten, droge diervoeders	78
1.3.11	Dranken, alcoholisch en niet-alcoholisch al dan niet koolzuur bevattend	78
1.3.12	Ei en eiproducten	79
1.3.13	Eiwitrijke vegetarische producten	80
1.3.14	Gedroogde producten en producten met een lage wateractiviteit	80

1.3.15	Gefermenteerde producten of producten met levende micro-organismen	81
1.3.16	Gelatine (poeder of blaadjes)	82
1.3.17	Groenten en fruit (vers verpakt)	82
1.3.18	Harde en/of droge producten.	82
1.3.19	Insecten, gekookt.	82
1.3.20	Margarine en andere vetrijke broodsmeeersels.	82
1.3.21	Melk en melkproducten	83
1.3.22	Monsters uit de primaire productieomgeving	85
1.3.23	Vlees en vleesproducten	86
1.3.24	Vetrijke producten (>20% vet).	86
1.3.25	Vis en visproducten	87
1.3.26	Zure producten.	88
1.4	Kwalitatieve methoden	90
1.4.1	Inleiding	90
1.4.2	Grensreactie	90
1.4.3	Meest waarschijnlijke aantal (MPN)	92
1.4.4	Uitvoering MPN	93
1.4.5	Beoordelen resultaten.	94
1.4.6	Bepalen MPN	94
1.5	Kwantitatieve plaatmethode (telling)	99
1.5.1	Inleiding	99
1.5.2	Bepaling in tweevoud of duplo.	99
1.5.3	Beoordelen van platen en berekenen van het kiemgetal.	100
1.5.4	Vergelijken van resultaten.	103
1.5.5	Bijzondere gevallen.	103
1.5.6	Maximaal verschil in aantal kolonies tussen 2 platen (bepaling in tweevoud).	107
1.5.7	Maximaal verschil in uitkomsten bij duplobepalingen.	109
1.6	Kwaliteitsborging	110
1.6.1	Inleiding	110
1.6.2	Eerstelijnscontrole	110
1.6.3	Tweedelijnscontrole	112
1.6.4	Derdelijnscontrole.	112
1.7	Validatie, verificatie en normalisatie	114
1.7.1	Validatie van methoden	114
1.7.2	Verificatie	116
1.7.3	Meetonzekerheid	117
1.7.4	Normalisatie	119
1.8	Snelle (alternatieve) methoden.	126
<hr/>		
DEEL 2	Groepering en identificatie van micro-organismen.	131
2.1	Inleiding	132
2.2	Kleuren van micro-organismen	134
2.2.1	Inleiding	134
2.2.2	Waterpreparaat	134
2.2.3	Hangende druppeltechniek.	135
2.2.4	Gramkleuring	136

2.2.5	Alternatieven voor Gramkleuring	137
2.2.6	Methyleenblauwkleuring	138
2.2.7	Flagellenkleuring	139
2.2.8	Sporenkleuring voor bacteriën	140
2.2.9	Sporenkleuring voor gisten	141
2.3	Bevestiging en identificatie of determinatie	142
2.4	Diagnostische kits	145
2.5	Typering	146

DEEL 3	Voedselveiligheid: voedselinfecties en -vergiftigingen	149
3.1	Inleiding	150
3.2	Pathogene bacteriën	152
3.2.1	Bacteriële voedselinfectie	152
3.2.2	Bacteriële voedselvergiftiging	155
3.3	Niet-bacteriële oorzaken	156
3.3.1	Mycotoxinen	156
3.3.2	Fycotoxinen	157
3.3.3	Fytotoxinen	158
3.3.4	Virussen	158
3.3.5	Parasieten	159
3.3.6	Biogene aminen	161
3.3.7	Bovine Spongiforme Encephalopathie (BSE)	161
3.3.8	Chemische voedselvergiftigingen	161
3.4	Onderzoek naar oorzaken	162
3.4.1	Meldingen van voedselinfecties en -vergiftigingen	162
3.4.2	Onderzoek van levensmiddelen	163
3.4.3	Registratie en rapportage van onderzoek	164

DEEL 4	Onderzoek van voedingsmiddelen, diervoeders en overige producten	167
4.1	Inleiding	168
4.1.1	Voedselveiligheidscriteria	168
4.1.2	Proceshygiëncriteria	169
4.1.3	Hazard Analysis Critical Control Points en hygiëncodes	169
4.2	Cacao, cacaoproducten en chocolade	171
4.3	Diervoeders	175
4.4	Droge voedingsmiddelen	178
4.4.1	Granen en graanproducten	178
4.4.2	Deegwaren	179
4.4.3	Specerijen en kruiden	179
4.4.4	Puddingpoeders	180
4.5	Ei en eiproducten	182
4.5.1	Ei	182
4.5.2	Eiproducten	184
4.6	Frisdranken en vruchtensappen	187
4.6.1	Frisdranken	187

4.6.2	Vruchtensappen	187
4.7	Groenten en fruit	190
4.8	Kip, kipproducten, overig gevogelte en wild	194
4.8.1	Kip en kipproducten	194
4.8.2	Overig gevogelte	196
4.8.3	Wild	196
4.9	Melk en melkproducten	199
4.9.1	Melk	199
4.9.2	Boter	201
4.9.3	Kaas	202
4.9.4	Melkpoeder	205
4.9.5	Yoghurt en gefermenteerde zuiveldranken	207
4.10	Samengestelde voedingsmiddelen	209
4.10.1	Kokswaren	209
4.10.2	Gekoelde maaltijden	210
4.10.3	Banketbakkerswaren	211
4.11	Vis, visproducten, schaal- en schelpdieren	214
4.11.1	Vis	214
4.11.2	Visproducten	217
4.11.3	Schaal- en schelpdieren	219
4.12	Vlees en vleesproducten	222
4.12.1	Vlees	222
4.12.2	Vleesproducten	225
4.13	Volconserven	228
4.14	Water	231
4.14.1	Drinkwater	231
4.14.2	Flessenwater	233
4.14.3	Proceswater	235
4.14.4	Zwemwater in badinrichtingen en zwemgelegenheden met drinkwater gevulde bassins	235
4.14.5	Oppervlaktewater als zwemwater	236

DEEL 5	Onderzoek in de productieomgeving	241
5.1	Inleiding	242
5.2	Primaire productiefase	243
5.2.1	Monsters genomen na desinfectie	244
5.2.2	Monsters genomen in de boerderijomgeving	244
5.2.3	Monsters genomen van dieren	245
5.2.4	Monsters genomen in de broederij	247
5.2.5	Monsters genomen bij transport van dieren	248
5.3	Onderzoek van karkassen	249
5.3.1	Excisiemethoden	251
5.3.1.1	Kurkboor- of framemethode	252
5.3.1.2	Huidonderzoek	252
5.3.2	Swabmethoden	253
5.3.2.1	Methode met swabs (wattenstokjes)	253
5.3.2.2	Methode met sponsjes	254

5.3.3	Spoelmethode	254
5.3.4	Microbiologisch onderzoek van karkasmonsters	255
5.4	Onderzoek van oppervlakken	257
5.4.1	Onderzoek met afdrukplaatjes en diaposlides	258
5.4.2	Onderzoek met swabs	259
5.4.3	Onderzoek met sponsjes of doeken (grote oppervlakken)	261
5.4.4	Hygiënescores	262
5.5	Onderzoek van handen	264
5.5.1	Onderzoek met afdrukmethode	264
5.5.2	Onderzoek met spoelmethode	265
5.6	Onderzoek van lucht	266
5.6.1	Luchtbemonstering	266
5.6.2	Schimmelsporen in lucht	267
5.6.3	Richtlijnen luchtkwaliteit	268
5.7	Opsporen van een huiskiem	270

Deel 6	Overige bepalingen	271
6.1	Productiviteits- en selectiviteitstesten bereide media	272
6.1.1	Inleiding	272
6.1.2	Kwantitatief onderzoek van vaste media	272
6.1.3	Kwantitatief onderzoek van vloeibare ophopingsmedia (buismethode)	274
6.1.4	Kwalitatief onderzoek van vaste media	276
6.1.5	Kwalitatief onderzoek van vloeibare media (buismethode)	277
6.1.6	Kwalitatief onderzoek van vloeibare media (troebeling)	278
6.2	Desinfectantia	289
6.2.1	Inleiding	289
6.2.2	Bepaling bactericide werking van een product	289
6.2.3	Bepaling fungicide werking van een product	292
6.2.4	Verificatie	296
6.2.5	Validatie	297
6.2.6	Bewaren van bacterie- en schimmelstammen gebruikt voor bepalen bactericide en fungicide werking	299
6.3	Bacteriofagen	302
6.3.1	Inleiding	302
6.3.2	Methode voor aantonen van bacteriofagen	303
6.4	Bacteriegroeiremmende stoffen	309
6.4.1	Inleiding	309
6.4.2	Bepaling bacteriegroeiremmende stoffen in vlees	309
6.4.3	Bepaling bacteriegroeiremmende stoffen in melk en melkproducten	312
6.4.4	Bewaren van bacteriestammen gebruikt voor bepalen aanwezigheid bacteriegroei-remmende stoffen	313
6.5	Microscopische tellingen	315
6.5.1	Inleiding	315
6.5.2	Telling volgens Breed	315
6.5.3	Telling volgens Bürker-Türk	316

Deel 7	Onderzoek van micro-organismen in voedingsmiddelen en diervoeders	319
7.1	<i>Acetobacter</i>	320
7.2	<i>Alicyclobacillus</i>	323
7.3	Antibioticaresistente bacteriën	326
7.4	<i>Bacillus cereus</i>	330
	A. Grensreactie	331
	B. MPN	333
	C. Telling	335
7.5	Boterzuurbacteriën (sporen)	337
7.6	<i>Campylobacter</i>	340
7.7	<i>Clostridium botulinum</i>	346
7.8	<i>Clostridium perfringens</i>	348
7.9	Coagulasepositieve staphylococcen	352
	A. Grensreactie	354
	B. MPN	356
	C. Telling	357
7.10	Coliformen	359
	A. Grensreactie	360
	B. MPN	361
	C. Telling	362
7.11	<i>Cronobacter</i>	364
7.12	Eiwitsplitsende micro-organismen	370
7.13	<i>Enterobacteriaceae</i>	372
	A. Grensreactie	373
	B. MPN	374
	C. Telling	375
7.14	Enterococcen	378
7.15	<i>Escherichia coli</i>	380
	A. Grensreactie	382
	B1. MPN	383
	B2. MPN met chromogeen medium	384
	C1. Telling met resuscitatiemedium	385
	C2. Telling met gietplaten	386
7.16	<i>Escherichia coli</i> O157 en STEC	388
	7.16.1 <i>Escherichia coli</i> O157	388
	7.16.2 Shigatoxineproducerende <i>Escherichia coli</i> (STEC)	393
7.17	Gisten en schimmels	398
7.18	Halofiele bacteriën	401
7.19	Kiemgetallen - Algemene informatie	403
7.20	Kiemgetallen - Aeroob kiemgetal en aerobe bacteriesporen (mesofiel)	405
7.21	Kiemgetallen - Anaeroob kiemgetal en anaerobe bacteriesporen (mesofiel)	408
7.22	Kiemgetallen - Psychrotroof aeroob kiemgetal	410
7.23	Kiemgetallen - Psychrotroof aeroob kiemgetal van melk (telling bij 21°C)	412
7.24	Kiemgetallen - Thermofiele micro-organismen en thermofiele bacteriesporen	414
7.25	Kiemgetallen - Thermoresistente micro-organismen	417
7.26	<i>Listeria monocytogenes</i>	420
7.27	Melkzuurbacteriën	427

7.27.1	Melkzuurbacteriën als bederfflora	428
	A. Lactobacillen (gasvormende zouttolerante)	428
	B. Lactobacillen in kaas en kaasproducten	430
	C. Melkzuurbacteriën in levensmiddelen.	432
	D. Streptococcen (thermostistente).	433
7.27.2	Melkzuurbacteriën als functionele microflora	435
	A. Bifidobacteriën (inclusief <i>Bifidobacterium bifidum</i>)	437
	B1. Citraatfermenterende melkzuurbacteriën (Lactococcen)	438
	B2. Citraatfermenterende melkzuurbacteriën (<i>Leuconostoc</i>)	439
	C. <i>Enterococcus</i>	439
	D. <i>Lactobacillus</i>	440
	E. <i>Lactobacillus acidophilus</i> in zuivelproducten	441
	F. <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	441
	G. <i>Streptococcus</i> en <i>Lactococcus</i>	442
7.28	Norovirus en Hepatitis A-virus	444
7.29	<i>Pseudomonas</i>	447
7.30	<i>Salmonella</i>	449
	7.30.1 <i>Salmonella</i> in levensmiddelen.	450
	7.30.2 <i>Salmonella</i> in dierlijke feces en monsters uit de primaire productieomgeving.	457
	7.30.3 <i>Salmonella</i> (miniaturbepaling van het meest waarschijnlijke aantal).	459
7.31	<i>Shigella</i>	462
7.32	Sulfietreducerende clostridia	468
7.33	Vetsplitsende micro-organismen.	470
7.34	<i>Vibrio</i> (enteropathogene)	472
7.35	<i>Yersinia enterocolitica</i>	478

Deel 8	Onderzoek van micro-organismen in water	485
8.1	<i>Aeromonas</i>	486
8.2	Aeroob kiemgetal bij 22°C en 36°C.	489
8.3	<i>Campylobacter</i> (thermofiele)	491
8.4	<i>Clostridium perfringens</i>	495
8.5	Coliformen.	497
8.6	Enterococcen	500
8.7	<i>Escherichia coli</i>	502
8.8	<i>Legionella</i>	504
8.9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	510
8.10	Sulfietreducerende clostridia (sporen).	513
	A. MPN	514
	B. Telling	514

Deel 9	Bevestigingsreacties	517
9.1	Inleiding	518
9.2	Principe	519
	9.2.1 Acetylmethylcarbinolvorming (Voges-Proskauer-test)	519
	9.2.2 Beweeglijkheid	519

9.2.3	Citraatstest	520
9.2.4	Coagulasetest	520
9.2.5	Esculinehydrolysetest	520
9.2.6	Fermentatie van suikers (zoals glucose, lactose, rhamnose, sucrose, trehalose, xylose)	520
9.2.7	β -Galactosidasetest	521
9.2.8	Gelatinasetest	522
9.2.9	H ₂ S-vorming	522
9.2.10	Hippuraathydrolysetest	522
9.2.11	Indoolvorming	522
9.2.12	Katalasetest	522
9.2.13	Lysinedecarboxylasetest	522
9.2.14	Nitraatreductie	523
9.2.15	Ornithinedecarboxylasetest	523
9.2.16	Oxidasetest	523
9.2.17	Pyrazinamidasetest	524
9.2.18	Ureasetest	524
9.3	Werkwijze	525
9.3.1	Acetylmethylcarbinolvorming met Voges-Proskauer (VP)-medium	525
9.3.2	Aerobe/anaerobe groei met saline meat yeast-agar	525
9.3.3	Ammoniadetectie met acetamidebouillon en Nesslerreagens	525
9.3.4	Argininedihydrolysetest met argininedihydrolysemedium	525
9.3.5	Beweeglijkheidstest met semi-vaste nutriëntagar	526
9.3.6	Calciumafhankelijkheid bij 37°C met caseïne-soya-agar (met magnesium en oxalaat)	526
9.3.7	CAMP-test met CAMP-platen	526
9.3.8	Citraatstest met Christensen's-medium	526
9.3.9	Citraatstest met Simmons-medium	527
9.3.10	Coagulasetest met coagulaseplasma	527
9.3.11	Detectie van fluorescentie en/of pigmenten met King's B-agar	528
9.3.12	Esculinehydrolyse met esculine-agar	528
9.3.13	Esculinehydrolyse met esculinehydrolyse-agar	528
9.3.14	Fermentatie en/of oxidatie van glucose met Oxidatie/Fermentatie (O/F)-medium	528
9.3.15	Fermentatie van dulcitol, glucose, lactose, mannitol, melibiose, raffinose, salicine, sorbitol, sucrose en xylose met koolhydraatbouillon voor <i>Shigella</i>	528
9.3.16	Fermentatie van glucose en lactose met Kligleragar	529
9.3.17	Fermentatie van glucose, lactose en sucrose met Triple Sugar Iron (TSI)-agar	529
9.3.18	Fermentatie van glucose met glucose-agar	530
9.3.19	Fermentatie van lactose en gasvorming met Lactose Sulfiet (LS)-bouillon	530
9.3.20	Fermentatie van lactose en gelatineafbraak met Lactose Gelatine (LG)-medium	530
9.3.21	Fermentatie van lactose met Brilliant Green Bile (BGB)-bouillon	530
9.3.22	Fermentatie van rhamnose en xylose met rhamnose- en xylosebouillon voor <i>Listeria</i>	530
9.3.23	Fermentatie van sorbitol, rhamnose, sucrose, melibiose en amygdaline met koolhydraatbouillon voor <i>Cronobacter sakazakii</i>	530
9.3.24	Fermentatie van sucrose, rhamnose, trehalose en xylose met koolhydraatbouillon voor <i>Yersinia enterocolitica</i>	531
9.3.25	β -Galactosidasetest met β -galactosidasereagens en toluen	531
9.3.26	Gasvorming uit glucose met glucosevergistingsmedium	531
9.3.27	Gevoeligheid voor nalidixinezuur en cefalothine met Mueller Hinton-bloedagar	531

9.3.28	Gevoeligheid voor O129 met zoutnutriëntagar	532
9.3.29	Groei (micro-aeroob) bij 25°C met Columbia-bloedagar	532
9.3.30	Groei (aeroob) bij 41,5°C met Columbia-bloedagar	532
9.3.31	β-Hemolysetest met schapenbloed(agar)	532
9.3.32	Hippuraathydrolysetest met hippuraathydrolysereagentia	533
9.3.33	Indoolvorming met trypton/tryptofaanmedium en Kovacsreagens	533
9.3.34	Indoolvorming met ureumtryptofaanmedium en Kovacsreagens	534
9.3.35	Indoxylacetaathydrolysetest met indoxylacetaatschijfjes	534
9.3.36	Katalasetest met waterstofperoxide-oplossing (3%)	534
9.3.37	Lysinedecarboxylasetest met lysinedecarboxylatiemedium	534
9.3.38	Lysinedecarboxylasetest met zoutmedium	534
9.3.39	Natriumacetaattest met natriumacetaatagar	535
9.3.40	Natriummucaattest met natriummucaatbouillon	535
9.3.41	Nitratreductie en beweeglijkheid met Beweeglijkheid Nitraat (BN)-medium en nitrietreagens	535
9.3.42	Nitratreductie met nitraatmedium	536
9.3.43	Ornithinedecarboxylasetest met ornithinedecarboxylatiemedium	536
9.3.44	Oxidasetest met oxidasereagens	536
9.3.45	Pyrazinamidasetest met caseïnesoya-agar voor pyrazinamidasetest	536
9.3.46	Serologische bevestiging van <i>Salmonella</i> met mono- en polyvalentserum	537
9.3.47	Serologische bevestiging van <i>Shigella</i> met antiserum	537
9.3.48	Tween-esterasetest met Tween-esterasemedium	538
9.3.49	Ureasetest met ureumagar	538
9.3.50	Ureasetest met ureumtryptofaanmedium	538

Deel 10	Media en reagentia	539
10.1	Verdunningsvloeistoffen, ophopings- en isolatiemediën	540
10.2	Bevestigingsmedia en reagentia	606
10.3	Media en reagentia deel 2 en deel 6	634
10.3.1	Kleuren van micro-organismen	634
10.3.2	Desinfectantia	637
10.3.3	Bacteriofagen	639
10.3.4	Bacteriegroeiremmende stoffen	640

Deel 11	Overige informatiebronnen	645
11.1	Genormaliseerde voorschriften	646
11.2	Eigenschappen van in voedingsmedia gebruikte indicatoren	649
11.3	Overzicht van in voedingsmedia gebruikte groeiremmende componenten	650
11.4	Aanbevolen literatuur	652
11.5	Aanbevolen internetsites	653
11.6	Referentiematerialen, -stammen en ringonderzoeken	655
11.7	Overzicht van laboratoria voor microbiologisch onderzoek in Nederland en België	656
11.8	Fabrikanten en leveranciers van (kant-en-klare) media en overige benodigdheden	659

Indexxxx
------------------------	------------------	-------------

Voorwoord

Ieder jaar publiceert de Europese Autoriteit voor voedselveiligheid (EFSA) in samenwerking met het Europees Centrum voor ziektepreventie en -bestrijding (ECDC) een overzicht van de aan voedsel gerelateerde uitbraken die gerapporteerd zijn in de Europese Unie. In 2013 waren dat er iets minder dan 5.200 waarbij ongeveer 43.000 mensen ziek werden. In verhouding tot de bevolkingsgrootte van circa 500 miljoen inwoners lijkt het vrij onbeduidend, maar door onderrapportage weerspiegelt dit getal slechts een fractie van het werkelijke aantal ziektegevallen. Volgens een recente schatting van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) worden er alleen al in Nederland ieder jaar 680.000 mensen ziek door het eten van besmet voedsel. Deze enorme ziektelast is grotendeels vermijdbaar. Dankzij wetenschappelijk onderzoek weten we heel goed hoe besmetting voorkomt kan worden. Deze kennis is ook vertaald in praktische en effectieve richtlijnen, maar helaas schort het nog vaak aan de naleving hiervan.

Door middel van microbiologisch onderzoek is het mogelijk om afwijkingen aan te tonen en in te grijpen voordat een ondeugdelijk product de markt bereikt. Maar bij een lage besmettingsgraad en een onregelmatige verdeling is de pakkans gering. Dit ligt echter niet aan de betrouwbaarheid van de gebruikte analysemethoden. Voor vrijwel alle belangrijke voedselpathogenen en hun toxines zijn tegenwoordig hele gevoelige methodes beschikbaar. Deze methodes zijn niet alleen uitermate geschikt voor het testen van eindproducten in het kader van Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP)-verificatie, maar tevens voor het analyseren van ingrediënten, het verrichten van omgevingsonderzoek, challengetests, enzovoort.

Om betrouwbare resultaten te verkrijgen is het uiteraard wel noodzakelijk dat de methodes correct worden toegepast. De documenten die door de standaardisatieorganisaties zoals het Nederlands Normalisatie-instituut (NEN), de European Committee for Standardization (CEN) en de International Organization for Standardization (ISO) worden opgesteld zijn hierbij van groot belang als leidraad, maar zijn in de dagelijkse praktijk van het microbiologisch laboratorium minder toegankelijk. In dit verband voorziet het boek 'Microbiologie van voedingsmiddelen' in de behoefte om standaardmethoden op een begrijpelijke manier te beschrijven en inzicht te verschaffen in het hoe en waarom van de gevolgde procedures. Daarnaast is er ook uitgebreid aandacht voor productspecifieke aanwijzingen voor onderzoek, kwaliteitsborging en tal van andere aspecten die essentieel zijn voor het goed functioneren van een microbiologisch laboratorium in het Nederlands taalgebied.

In de huidige uitgave van dit boek heeft de redactie de inhoud volledig vernieuwd en aangepast aan de meest recente NEN-, CEN- en ISO-normen. Ook bevat het boek een aantal nieuwe elementen zoals het hoofdstuk over onderzoek in de primaire productiefase en een beschrijving van de onderzoeksmethoden voor shigatoxineproducerende *Escherichia coli*, norovirus, hepatitis A-virus en *Alicyclobacillus*.

Ik heb dan ook alle redenen om de redactie en uitgever te feliciteren met dit prachtige resultaat en zou het ten zeerste aan willen raden aan alle levensmiddelenmicrobiologen die behoefte hebben aan een compleet en actueel naslagwerk.

Prof. Dr. H. Joosten
Buitengewoon hoogleraar levensmiddelenmicrobiologie
Wageningen Universiteit

Inleiding

Het is van essentieel belang de consument te voorzien van veilig en hygiënisch bereid voedsel. Voedselveiligheids- en controleprogramma's zijn bij de productie van voedingsmiddelen onmisbaar. Een belangrijk onderdeel van deze programma's is het microbiologisch onderzoek van de voedingsmiddelen op de aanwezigheid, aantallen en identiteit van micro-organismen. Bijvoorbeeld om vast te stellen of processen voldoende worden beheerst, of juist ter verificatie van het HACCP-systeem. Ook afnemers en overheid voeren microbiologisch onderzoek uit om na te gaan of producten voldoen aan vastgelegde criteria.

De afgelopen decennia was het gebruikelijk om micro-organismen te kweken op voedingsmedia. Nadeel van deze methoden is dat ze vrij arbeidsintensief zijn en het vaak minimaal een paar dagen duurt voordat de resultaten beschikbaar zijn. Daarom werken microbiologische laboratoria steeds vaker met alternatieve, snellere methoden bij de screening van producten op de aanwezigheid van pathogenen, bij het aantonen van hoge aantallen micro-organismen en voor het typeren van geïsoleerde organismen.

Kwaliteitsborging krijgt terecht steeds meer aandacht op de laboratoria. Fouten bij het microbiologisch onderzoek kunnen ernstige gevolgen hebben. Zeker als daardoor producten met ziekteverwekkers in de handel komen. Daarnaast kunnen kwalitatief goede producten onterecht worden afgekeurd.

Deze fouten zijn te voorkomen door ervoor te zorgen dat microbiologisch onderzoek wordt uitgevoerd door personen met voldoende opleidingsniveau en praktische vaardigheden. Verder is een goede controle van de bereide media en de toegepaste bebroedings temperatuur essentieel. Laboratoriumaccreditatie en validatie van methoden zijn naast het gebruik van diverse controlemonsters belangrijke aspecten van de kwaliteitsborging van microbiologisch onderzoek.

Voor de kwalitatieve en kwantitatieve bepaling van micro-organismen in voedingsmiddelen bestaat een grote variëteit aan methoden. Voor een goede interpretatie en vergelijking van onderzoeksactiviteiten van de verschillende werkgroepen binnen het Nederlands Normalisatie-instituut (NEN), de International Standardization Organisation (ISO), de Association of Analytical Chemists (AOAC), de International Dairy Federation (IDF) en het Comité Européen de Normalisation (CEN) zijn op dit gebied de afgelopen jaren belangrijke vorderingen gemaakt.

De meeste van de in dit boek beschreven methoden zijn gebaseerd op internationale normen. Daarmee wordt getracht een verdere bijdrage te leveren aan de standaardisatie van methoden voor het microbiologische onderzoek.

De redactie van dit microbiologische methodenboek bestaat uit personen afkomstig uit verschillende microbiologische sectoren. Deze samenstelling staat borg voor een brede en praktijkgerichte inzetbaarheid van het boek bij het microbiologisch onderzoek van levensmiddelen.

De redactie nodigt lezers en gebruikers uit hun commentaar te leveren op de inhoud van dit boek, onjuistheden te melden en wensen voor een volgende druk kenbaar te maken via redactie.vmt@mybusinessmedia.nl. Op de site VMT.nl zullen eventuele correcties en ontwikkelingen rond het boek *Microbiologie van Voedingsmiddelen* en het boek *Snelle methoden; microbiologie van voedingsmiddelen en water* worden vermeld op de kennisthemapagina 'Voedselveiligheid', onder het kopje 'Analyse'.

De redactie
