

Onderzoek naar de toepasbaarheid van de impedantiemeting als snelle screeningsmethode voor de bacteriologische gesteldheid van caseïnes en caseïnatën. Pr.nr. 505 0030. Projectleider: ir H. Stegeman

Rapport 88.45 juli 1988
Onderzoek naar de toepasbaarheid van
de impedantiemeting als snelle scree-
ningsmethode voor de bacteriologische
gesteldheid van caseïnes en caseïna-
ten

ing. A.E.M. Vermunt

Afdeling Microbiologie

Medewerkers: H. Dusselaar, E. Maas (stagiaire Hogere School voor Levensmiddelen-technologie), A.E.M. Vermunt

Goedgekeurd door: ir H. Stegeman

Rijkskwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon: 08370 - 19110
Telex: 75180 RIKIL
Telefax: 08370-17717

VERZENDLIJST

INTERN

directeur

sectorhoofd

bibliotheek

afd. Microbiologie (5x)

projectbeheer

H. Stegeman

A. van Polanen

EXTERN

Directie Landbouwkundig Onderzoek

E. Maas (stagiaire Hogere School voor Levensmiddelentechnologie)

F.K. Stekelenburg (CIVO-TNO Zeist)

Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding

Inhoudsopgave

SAMENVATTING

1 INLEIDING

2 MATERIAAL EN METHODEN

- 2.1. Monstervoorbehandeling
- 2.2. Werkwijze impedantiemeting
- 2.3. Bepaling mesofiel aeroob kiemgetal
- 2.4. Flora-analyse

3 RESULTATEN

- 3.1. Relatie tussen het kiemgetal en de detectietijd
- 3.2. Screening van praktijkmonsters
- 3.3. Invloed van de microbiele flora op de detectietijd
- 3.4. Microbiele flora van caseines en caseinaten

4 DISCUSSIE VAN DE RESULTATEN

5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

LITERATUURLIJST

FIGUREN

SAMENVATTING

Dit onderzoek is uitgevoerd om na te gaan of de impedantiemeting gebruikt kan worden als snelle screeningsmethode voor het mesofiel aerob kiemgetal van caseïnes en caseïnaten. De experimenten zijn uitgevoerd met een Malthus Growth Analyser.

Met behulp van gepre-incubeerde monsters is het verband bepaald tussen kiemgetal en detectietijd. Het gevonden verband bleek goed bruikbaar voor geïmporteerde monsters, die van nature hoog besmet waren. Het is niet na te gaan in hoeverre het gevonden verband bruikbaar is voor de praktijkmonsters die routinematig op het RIKILT worden onderzocht, daar deze monsters kiemgetallen hebben die ver beneden de norm liggen. Het gebruik van de Malthus voor routinedoeleinden is alleen efficiënt als de testduur niet te lang is. Wanneer we als maximale testduur 20 uur hanteren en een monster wordt goedgekeurd als beide Malthus-meetcellen binnen deze 20 uur geen detectiesignaal geven, behoeven van de tot nu toe onderzochte 162 monsters slechts 8 monsters met de plaatmethode te worden heronderzocht.

Verder onderzoek naar de grootte van de detectietijd van Nederlandse praktijkmonsters die VAN NATURE hoog besmet zijn is noodzakelijk voordat een eindoordeel kan worden gegeven over de betrouwbaarheid van bovengenoemd criterium voor goedkeuring van monsters met de Malthus. In de 8 monsters die binnen 20 uur detectie te zien gaven, was het kiemgetal ver beneden de norm van 30.000 kve/gram. Op het moment van detectie bleek Bacillus cereus aanwezig te zijn. Dit micro-organisme geeft dus een relatief snel detectiesignaal.

1 INLEIDING

In EEG-verordening nr. 756/70 is een steunverlening opgenomen voor ondermelk, die tot caseïne en caseïnaten is verwerkt. Hiertoe zijn o.a. bacteriologische eisen gesteld t.a.v. caseïne en caseïnaten. Deze eisen zijn:

- mesofiel aerob kïemgetal: ≤ 30.000 kve/g
- coli-achtigen: negatief in 0,1 g
- thermofiel kïemgetal: ≤ 5.000 kve/g

Met de gebruikelijke onderzoeksmethode duurt de bepaling van het mesofiel aerob kïemgetal tenminste 3 dagen. Het is uitermate belangrijk om sneller over dit resultaat te beschikken. Bovendien is het gebruikelijke microbiologische onderzoek arbeidsintensief. Daarom is er een grote interesse voor werkwijzen waarmee snellere uitslagen verkregen kunnen worden en waarbij het onderzoek minder arbeidsintensief is. Veelbelovend in dit opzicht is de sinds enkele jaren verkrijgbare apparatuur, die gebaseerd is op impedantiemeting. Deze meting berust op het principe dat ten gevolge van de microbiële stofwisseling van bacteriën, gisten en schimmels in een voedingsmedium van een meetcel de elektrische geleidbaarheid van dit voedingsmedium verandert (Richards et al., 1978). De tijdsduur die nodig is om een meetbare geleidbaarheidsverandering te bereiken (de zogenaamde detectietijd) is afhankelijk van diverse factoren, waaronder de beginconcentratie van micro-organismen.

Ook de generatietijd en de fysiologische toestand van de micro-organismen alsmede het elektrotype, de concentratie van het voedingsmedium en de temperatuur beïnvloeden deze tijdsduur.

Er is reeds onderzoek verricht naar de toepassingsmogelijkheden van de impedantiemeting bij het bacteriologisch onderzoek van zuivelprodukten (Bossuyt et al., 1984; Nieuwenhof et al., 1985).

Het hier gerapporteerde onderzoek is uitgevoerd om na te gaan of impedantiemeting gebruikt kan worden voor de screening van het mesofiel aerob kïemgetal van caseïnes en caseïnaten. Hiertoe is allereerst onderzocht welk verband er bestaat tussen de traditionele plaatmethode en de impedantiemethode. Vervolgens is nagegaan in hoeverre de aldus verkregen regressielijn toepasbaar is voor de screening van praktijkmonsters op het mesofiel aerob kïemgetal. Ook is aandacht besteed aan de microbiële flora van caseïnes en caseïnaten en aan de invloed hiervan op de impedantiemeting.

2 MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Monstervoorbehandeling

Indien monsters gepre-incubeerd werden, is de volgende werkwijze toegepast. 10 gram monster is opgelost in 90 ml 2%-dikaliumfosfaatoplossing (pH=7,4; temperatuur: 45°C) en gehomogeniseerd m.b.v. een stomacher. Dit homogenaat is gedurende 20 uur bebroed bij 30°C. Hierna zijn van deze 1:10 verdunning verdere 10-voudige verdunningen gemaakt in steriele caseinaatoplossing. Deze steriele caseinaatoplossing werd verkregen door 10 g caseinaat, kiemvrij gemaakt door een doorstralingsbehandeling met 10kGy, met 90 ml 2%-dikaliumfosfaatoplossing (pH=7,4; temperatuur:45°C) te homogeniseren. Aldus werden van elk monster 5 submonsters verkregen met verschillende kiemgetallen.

2.2 Werkwijze impedantiemeting

De impedantiemetingen zijn uitgevoerd met een Malthus Model 128H Microbiological Growth Analyser System in meetcellen met platina-electroden voor 2-3 ml medium.

Lege meetcellen zijn gevuld met 2 ml. M.C.B.-medium + 0,1% agar.

De samenstelling van het normaal geconcentreerde medium is weergegeven in tabel 1a. Vervolgens zijn de meetcellen in een autoclaaf gesteriliseerd gedurende 15 min. bij 121°C. Na afkoeling van het medium is hieraan 1 ml monsterhomogenaat toegevoegd. Dit monsterhomogenaat is verkregen door 10 gram monster in 90 ml. steriele 2%-dikaliumfosfaatoplossing (pH=7,4; temperatuur:45°C) gedurende 1 minuut te homogeniseren m.b.v. een stomacher.

Tabel 1a. Samenstelling Malthus Colombia Broth (MCB)

Speciaal pepton mengsel	23,0	g
L-cysteine-HCl	0,1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0	g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,02	g
Na ₂ CO ₃	0,6	g
Chloriden van Na, NH ₄ , Ca	2,12 (Cl)g	
Tris(hydroxymethyl)aminomethaan	0,083	g
Tris(hydroxymethyl)aminomethaan-HCl	0,286	g
Dextrose	3,5	g
Gedemineraliseerd water	1000	ml

N.B. Het in dit experiment gebruikte medium was 1,5x geconcentreerder dan hierboven beschreven.

Ieder homogenaat (dus ieder monster) werd in 3-voud ingezet. Melkzuur-caseïne is opgelost in 2%-dikaliumfosfaatoplossing (pH=8,2; temperatuur 45°C).

Bij de analyse van gepre-incubeerde monsters is 1 ml homogenaat uit elke verdunning (zie 2.1) in de meetcellen gebracht.

Van ieder homogenaat is het mesofiel aerob klemgetal bepaald. De meetcellen zijn direct na de toevoeging van het homogenaat in de incubator geplaatst en aangesloten op het meetsysteem. De temperatuur van de incubator bedroeg 30°C. De tijdsduur tussen homogeniseren en plaatsen in de incubator was maximaal 0,5 uur. Deze procedure werd zoveel mogelijk gestandaardiseerd om een zo hoog mogelijke herhaalbaarheid van de meting te krijgen.

De detectietijd is gedefinieerd als de tijd die verloopt totdat een versnelde verandering van de elektrische geleidbaarheid optreedt als gevolg van microbiele stofwisseling. Op grond van de waarde van 4 verschillende detectieparameters wordt de detectietijd berekend door het apparaat (Anonymus, 1986). Bij dit experiment zijn de volgende detectieparameters gebruikt:

- start scan:12
- baseline threshold:0,8
- first difference: 1,0
- second difference: 0,3

Na ca. 25 uur incubatie is de test gestopt. Door visuele controle van de geleidbaarheidscurve is nagegaan of de geregistreeerde detectietijden correct waren. Indien die detectietijd niet correct bleek, zijn de waarden gecorrigeerd.

2.3. Bepaling van het mesofiel aerobisch kiemgetal

Van geschikte verdunningen van het monsterhomogenaat is in duplo 1 ml gemengd met Plate Count Agar Milk (samenstelling zie tabel 1b) in een petrischaal. Incubatie vond plaats gedurende 3 dagen bij 30°C.

Tabel 1b. Samenstelling Plate Count Agar Milk (PCAM)

Trypton	5,0 g
gistextract	2,5 g
dextrose	1,0 g
ondermelkpoeder	1,0 g
agar	12,5 g
gedemineraliseerd water	1000 ml

pH=6,9 ± 0,1 bij 25°C.

2.4. Flora-analyse

Nadat het te identificeren micro-organisme was geïsoleerd op Trypton Soya Agar, vond identificatie plaats volgens Mossel et al (1982). Bovendien zijn Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Volume 1 en Volume 2) geraadpleegd.

3 RESULTATEN

3.1. Relatie tussen het kiemgetal en de detectietijd bij gepre-incubeerde monsters

Teneinde een betrouwbare regressielijn te verkrijgen zijn monsters nodig met kiemgetallen die tussen 10^2 en 10^7 kve/gram liggen; het verschil tussen het hoogste en het laagste kiemgetal moet 4 tot 5 log-cycli bedragen (Firstenberg-Eden, 1984).

De monsters caseïnes en caseïnaten die voor microbiologisch onderzoek worden aangeboden op het RIKILT zijn van Nederlands fabrikaat en van een goede bacteriologische kwaliteit (meestal is het kiemgetal lager dan 10^3 kve/gram). Om toch over monsters met hogere kiemgetallen te kunnen beschikken is pre-incubatie van monsters toegepast.

In figuur 1 is de impedantiecurve te zien van een monster gesproeidroogd natriumcaseinaat wat gepre-incubeerd is. Duidelijk is het effect van verdunning van het monster op de geregistreeerde detectietijd te zien.

Uit 28 meetwaarden, die afkomstig zijn van 7 gepre-incubeerde monsters is een regressielijn berekend. De vergelijking van de regressielijn was:

$$\log N = -0,42 Td + 8,6 ; \quad r = -0,90 ; \quad (sy)_x = 0,77$$

waarbij:

N = mesofiel aerob kiemgetal

Td = detectietijd

r = correlatiecoëfficiënt

(sy)_x = standaarddeviatie van de schatting van het logaritmisch kiemgetal via de regressielijn uit de gemeten detectietijd (Westgard 1973).

Deze regressielijn is weergegeven in figuur 2.

De hierbij behorende kritische detectietijd (dit is de detectietijd behorende bij $N = 3,0 \times 10^4$ en dus $\log N = 4,5$) is 9,7 uur en de residuele standaardafwijking in x-richting (detectietijd) is 1,8 uur. Als de zgn. "cut-off time" gedefinieerd wordt als de kritische detectietijd minus één standaardafwijking en de zgn. "caution-time" als de kritische detectietijd plus één standaardafwijking (Firstenberg et al., 1983) betekent dit:

Td < 7,9 uur : afkeuren op basis van detectietijd

7,9 ≤ Td ≤ 11,8 uur : grijze zone (onderzoek met de plaatmethode nodig)

Td > 11,8 uur : goedkeuren op basis van detectietijd

Pre-incubatie van monsters kan een floraverschuiving tot gevolg hebben; bovendien kan door pre-incubatie de fysiologische conditie van de bacteriecellen veranderen. Dit kan van invloed zijn op het verband tussen kiemgetal en detectietijd.

Om na te gaan of dit het geval kan zijn, is een aantal geïmporteerde monsters, die van nature WEL hoog besmet waren, nader onderzocht.

3.2 Screening van praktijkmonsters

In figuur 3 zijn het kiemgetal en de detectietijd van de geïmporteerde monsters weergegeven, samen met de in par. 3.1 berekende regressielijn. Ieder monster is twee keer afzonderlijk geanalyseerd. Met de resultaten van de gemeten detectietijd zijn de screeningsresultaten berekend (tabel 2).

Tabel 2. Screeningsresultaten van 7 geïmporteerde monsters

Traditionele methode	Impedantiemethode		
	Td < 7,9	7,9 ≤ Td ≤ 11,8	Td > 11,8
log N ≤ 4,5	0	2	3
log N > 4,5	2	0	0

Td: detectietijd

N : mesofiel aerob kiemgetal

Samengevat kunnen we stellen dat op basis van de grootte van de detectietijd geen vals positieve of vals negatieve uitslagen voorkomen, dat 3 monsters terecht worden goedgekeurd en 2 monsters terecht worden afgekeurd. Twee monsters bevinden zich in de grijze zone van de detectietijd en moeten worden heronderzocht met de traditionele plaatmethode (kiemgetal resp. $1,6 \times 10^4$ en $5,0 \times 10^3$ kve/gram. Voor de geïmporteerde monsters, die van nature hoog besmet zijn, blijkt de door pre-incubatie verkregen regressielijn op basis van de 7 onderzochte monsters goed bruikbaar.

In totaal zijn 162 Nederlandse praktijkmonsters onderzocht. Al deze monsters hadden een logaritmisch kiemgetal beneden 2,4.

Met uitzondering van 8 monsters, was de detectietijd van beide Malthus meetcellen steeds groter dan de minimale testduur van 23 uur.

In tabel 3 zijn de monsters weergegeven waarvan tenminste 1 meetcel een detectietijd te zien gaf beneden 23 uur. Opmerkelijk is dat de kiemgetallen van deze monsters ver beneden de norm liggen. Uit de analyse van de microbiele flora in de Malthus meetcel is gebleken dat in deze monsters steeds Bacillus cereus verantwoordelijk was voor het detectiesignaal.

3.3. Invloed van de microbiele flora op de detectietijd

Bij monsters met lage kiemgetallen, kan het probleem zich voordoen, dat er grote verschillen optreden in de gemeten detectietijden van de diverse meetcellen. Dit is te verklaren uit het feit dat er in dit geval tussen de diverse meetcellen een verschil is in het aantal cq. de aard van de micro-organismen die bij het begin van de test in de meetcel zijn ingebracht. Dit verschijnsel doet zich voor als het aantal

Tabel 3

Caseinaten met detectietijd (Td) < 23 uur

Monster	log N *	<u>Malthus meetcel</u>	
		Td (uren)	microflora op t = Td
1	< 1,0	13,4	<u>Bac. cereus</u>
2	< 1,0	19,4	<u>Bac. cereus</u>
3	1,2	14,2	<u>Bac. cereus</u>
4	3,0	13,1	<u>Bac. cereus</u>
5	3,0	19,3	<u>Bac. spp.</u>
		13,5	<u>Bac. cereus</u>
6	3,1	11,8	<u>Bac. cereus</u>
7	3,2	13,4	<u>Bac. cereus</u>
8	3,2	11,5	<u>Bac. cereus</u>

* N = kiemgetal

Tabel 4

Invloed van microflora van monsters caseinaten op detectietijd (Td)

Monster	Log N *	<u>Malthus meetcel</u>	
		Td (uren)	Microflora op t = Td
1	1,9	27,0	<u>Bac. cereus</u>
		43,0	<u>Staph. spp.</u>
2	< 1,0	19,4	<u>Bac. cereus</u>
		27,6	<u>Bac. licheniformis</u>
		> 51,2	niet aanwezig
3	2,0	33,2	<u>Bac. licheniformis</u>
		> 51,2	<u>Bac. licheniformis</u>

* N = kiemgetal

bacteriecellen minder dan 30 per Malthus-meetcel bedraagt (Firstenberg-Eden, 1984).

In tabel 4 zijn de resultaten weergegeven van een aantal monsters waarbij dit verschijnsel zich voordoet. Bij de monsternrs. 1 en 2 bleek dat de verschillen in detectietijd binnen één monster werden veroorzaakt doordat het detectiesignaal niet door dezelfde micro-organismen was veroorzaakt. Bacillus cereus was verantwoordelijk voor een relatief korte detectietijd. Bij monsternr. 3 is het verschil in detectietijd waarschijnlijk veroorzaakt doordat er een verschil was tussen de aantallen bacteriecellen van Bacillus licheniformis die in de 2 meetcellen zijn terecht gekomen.

3.4 Microbiële flora van caseïnes en caseïnaten

Daar er in de literatuur weinig gegevens zijn omtrent de microbiële flora van caseïnes en caseïnaten is hiernaar onderzoek gedaan.

Uit de flora-analyse van de Nederlandse monsters is gebleken dat voornamelijk Staphylococcus- en Bacillus-soorten voorkomen in deze monsters. Een enkele keer komt het geslacht Microbacterium voor in caseïnaten (zie tabel 5)

Tabel 5. Microbiële flora van Nederlandse monsters caseïnes en caseïnaten

Monster	Flora
Calciumcaseïnaat	<u>Staphylococcus</u>
Calciumcaseïnaat	<u>Staphylococcus</u>
Natriumcaseïnaat	<u>Microbacterium</u>
EM -6 *	<u>Staphylococcus</u>
EM-8 **	<u>Bacillus</u>

* Natriumcaseïnaat + toevoeging(en)

**Natriumcaseïnaat + verdikkingsmiddel

Het is niet verwonderlijk dat Microbacterium en Bacillus soorten aanwezig zijn in deze monsters daar deze tot de thermoresistente bacterietypen behoren. De geïmporteerde monsters bleken een gevarieerdere flora dan de Nederlandse monsters te hebben en bovendien bevatten ze vaker schimmels (deze kwamen in geen enkel Nederlands monster voor).

De geïmporteerde monsters bevatten ook veel aerobe sporevormers en een enkel monster bevatte Staphylococcus-soorten (zie tabel 6).

Tabel 6. Microbiële flora van geïmporteerde monsters caseines en caseinaten.

Monster	Flora
Melkzuurcaseïne	gram-positieve cocci (75%) gram-positieve (niet sporevormende) staven (10%) schimmels aerobe sporevormers
Calciumcaseïnaat (gewalddroogd)	schimmels (90%) aerobe sporevormers (10%)
Natriumcaseïnaat	schimmels (75%) aerobe sporevormers (25%)
natriumcaseïnaat	<u>Staphylococcus</u> (50%) aerobe sporevormers (40%) schimmels (10%)
Edible caseïne	aerobe sporevormers (90%) schimmels (10%)
Industriële caseïne	aerobe sporevormers (90%) schimmels (10%)

Van 5 Nederlandse monsters en 6 geïmporteerde monsters is behalve naar de monsterflora ook gekeken naar de aard van de bacterieflora in de Malthusmeetcel na het stoppen van de test (dus NIET op het tijdstip van detectie). Hieruit bleek dat de monsterflora vrijwel altijd hetzelfde is als de flora die zich in de Malthuscel bevindt na ca. 24 uur.

4 DISCUSSIE

Teneinde enig inzicht te krijgen in de samenstelling van de microbiële flora van caseines en caseinaten is van een aantal monsters flora-analyse uitgevoerd. Hieruit is tevens gebleken dat de microbiële flora in het monster vrijwel altijd hetzelfde is als de flora die zich in de

Malthuscel bevindt na ca. 24 uur. Daardoor is het niet aannemelijk dat er gedurende pre-incubatie van monsters een verschuiving in de samenstelling van de microbiele flora optreedt. Een dergelijke verschuiving zou tot gevolg hebben gehad dat de verkregen regressielijn minder betrouwbaar zou zijn geweest voor gebruik bij het screeningsonderzoek van praktijkmonsters.

Het is evenwel opmerkelijk dat 2 Nederlandse monsters met logaritmische kiemgetallen van resp. 3,4 en 3,5 binnen de testduur van 23 uur GEEN detectietijd te zien gaven (op basis van de regressielijn van par. 3.1 zou deze ca. 12 uur moeten bedragen). Dit kan erop wijzen dat de microbiele flora van deze 2 praktijkmonsters in tegenstelling tot die van de gepre-incubeerde monsters:

- een langere generatietijd heeft;
- een (langere) lagfase heeft;
- minder metabolische activiteit heeft.

Bij het onderzoek van Nederlandse praktijkmonsters is gebleken dat van de 162 monsters, die allen voldeden aan de norm, slechts 8 monsters behoeften te worden heronderzocht, indien als goedkeuringscriterium wordt gehanteerd dat een monster voldoet als beide ingezette Malthus-meetcellen binnen 20 uur geen detectiesignaal te zien geven. Of dit criterium ook voldoet bij van nature hoog besmette praktijkmonsters kon met de thans voorradige monsters niet worden beoordeeld.

Derhalve kan geen volledig oordeel worden gegeven over de bruikbaarheid van dit criterium (goedkeuring op basis van detectietijd) bij de screening van Nederlandse praktijkmonsters caseines en caseinaten.

5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Van gepre-incubeerde monsters is het verband bepaald tussen kiemgetal en detectietijd. Dit verband wordt beschreven door de volgende regressievergelijking:

$$\text{Log } N = -0,42 \text{ Td} + 8,6 \quad ; \quad r = -0,90 \quad ; \quad (\text{sy}) \text{ x} = 0,77$$

waarbij

N = mesofiel aeroob kiemgetal

Td = detectietijd

r = correlatiecoefficient

(sy) x = standaarddeviatie van de schatting van het logaritmisch kiemgetal via de regressielijn uit de gemeten detectietijd

Gebleken is dat genoemd verband goed bruikbaar is om van een 7-tal geïmporteerde, van nature hoog besmette monsters, met behulp van de gemeten detectietijd, een uitspraak te doen over het kiemgetal.

De betrouwbaarheid van deze regressievergelijking voor de monsters die op het RIKILT routinematig worden onderzocht kan echter pas beoordeeld worden als van dergelijke monsters die VAN NATURE hoog besmet zijn, de detectietijd bepaald is.

Het is praktisch gezien niet zinvol om van monsters met lage kiemgetallen de Malthusimpedantiemeting pas te beëindigen op het moment dat detectie plaats vindt (de detectietijd bleek nl. meestal > 50 uur te zijn). De toepassing van de Malthus voor routinedoeleinden is alleen efficiënt als de maximale testduur niet te lang is.

Daarom is besloten een maximale testduur van 20 uur te hanteren.

Als een monster op basis van de gemeten detectietijd wordt goedgekeurd als in beide ingezette Malthusmeetcellen binnen 20 uur geen detectie plaatsvindt, zou geen van de in totaal 162 onderzochte Nederlandse praktijkmonsters ten onrechte worden goedgekeurd en slechts 8 monsters zouden moeten worden heronderzocht met de plaatmethode. In deze 8 monsters was Bacillus cereus verantwoordelijk voor het (relatief snelle) detectiesignaal.

Verder onderzoek van praktijkmonsters met hogere kiemgetallen is nodig om een betrouwbaar oordeel te kunnen geven over deze procedure van goedkeuring met de impedantiemethode.

LITERATUURLIJST

Anonymous, Malthus - AT Training manual. Malthus Instruments, 1986. 96 blz.

Bergey's manual of determinative bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, 1984. 964 blz..

Bergey's manual of determinative bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, 1986, 965-1599 blz.

Firstenberg-Eden, R. and G. Eden. Impedance Microbiology. eerste druk. Research Studies Press Ltd., Great Brittain, 1984. 170 blz..

Bossuyt R. en G. Wars. Enkele toepassingen van de ATP bepaling en de impedantiemeting bij het bacteriologisch onderzoek van zuivelproducten. Voedingsmiddelentechnologie jaargang 17 (1984) no 24, blz.24-29.

Mossel D.A.A.. Microbiology of Foods, the ecological essentials of assurance and assessment of safety and quality. 3de druk. Utrecht, 1982. 188 blz.

Nieuwenhof F.F.J. e.a. Moderne methoden voor het vaststellen van de bacteriologische gesteldheid van melk (deel 1 en 2). Voedingsmiddelentechnologie jaargang 18 (1985) nr. 14, blz. 22-25 (deel 1); nr. 16, blz. 16-18 (deel 2).

Richards J.C.S. e.a. Electronic measurement of bacterial growth. Journal of Physical Environmental Scientific Instruments volume 11 (1978) blz. 560-568.

Westgard J.O. and M.R. Hunt. Use and interpretation of common statistical tests in method-comparison studies. Clinical Chemistry Volume 25 (1979) no. 3, blz. 49-57.

DATE:

SAMPLE: Natriumcaseïnaatspray

DETECTION TIME:

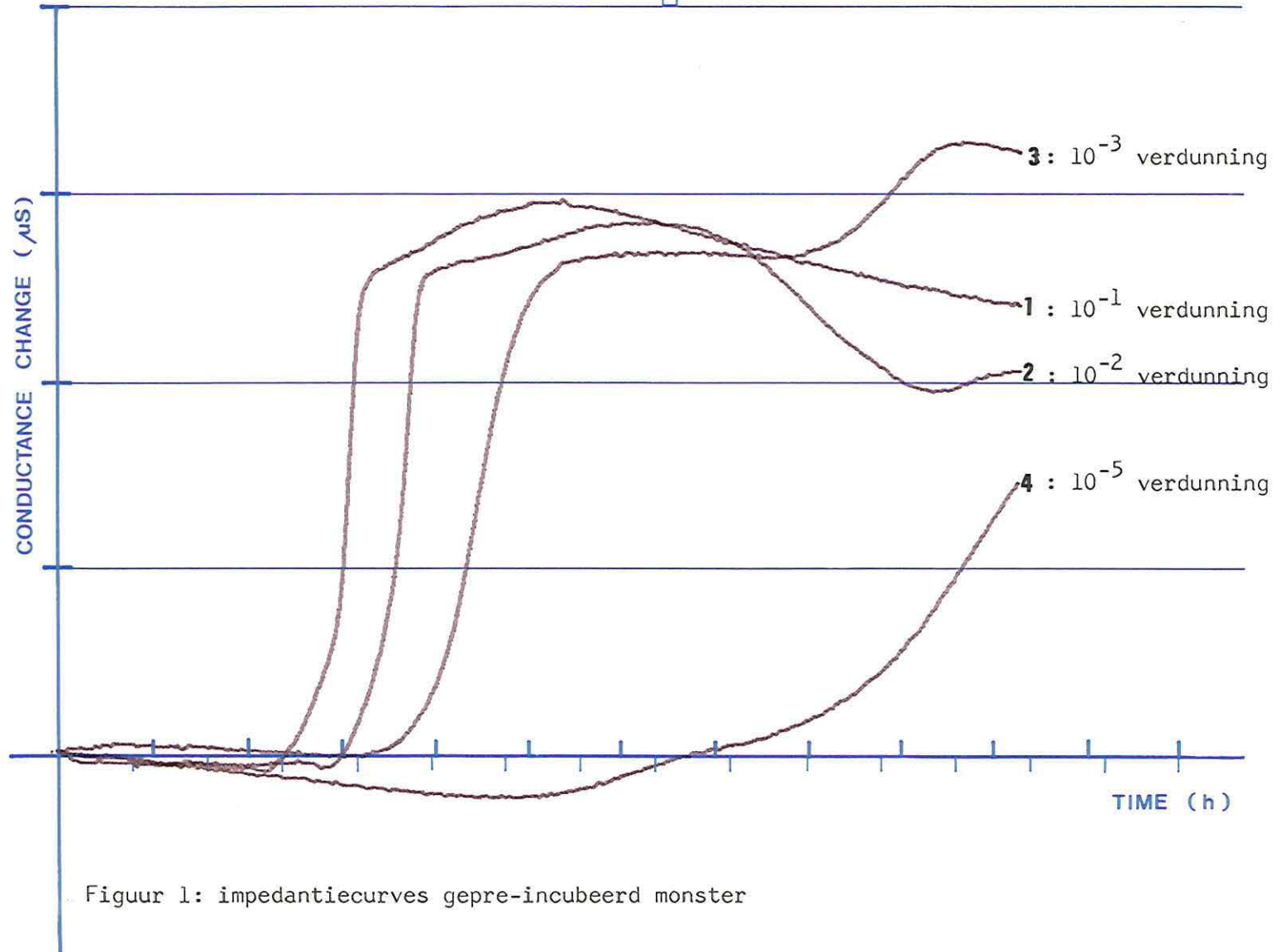
plotter sheet

FULL Y SCALE USED	
200 μ S	x
400 μ S	
600 μ S	
800 μ S	

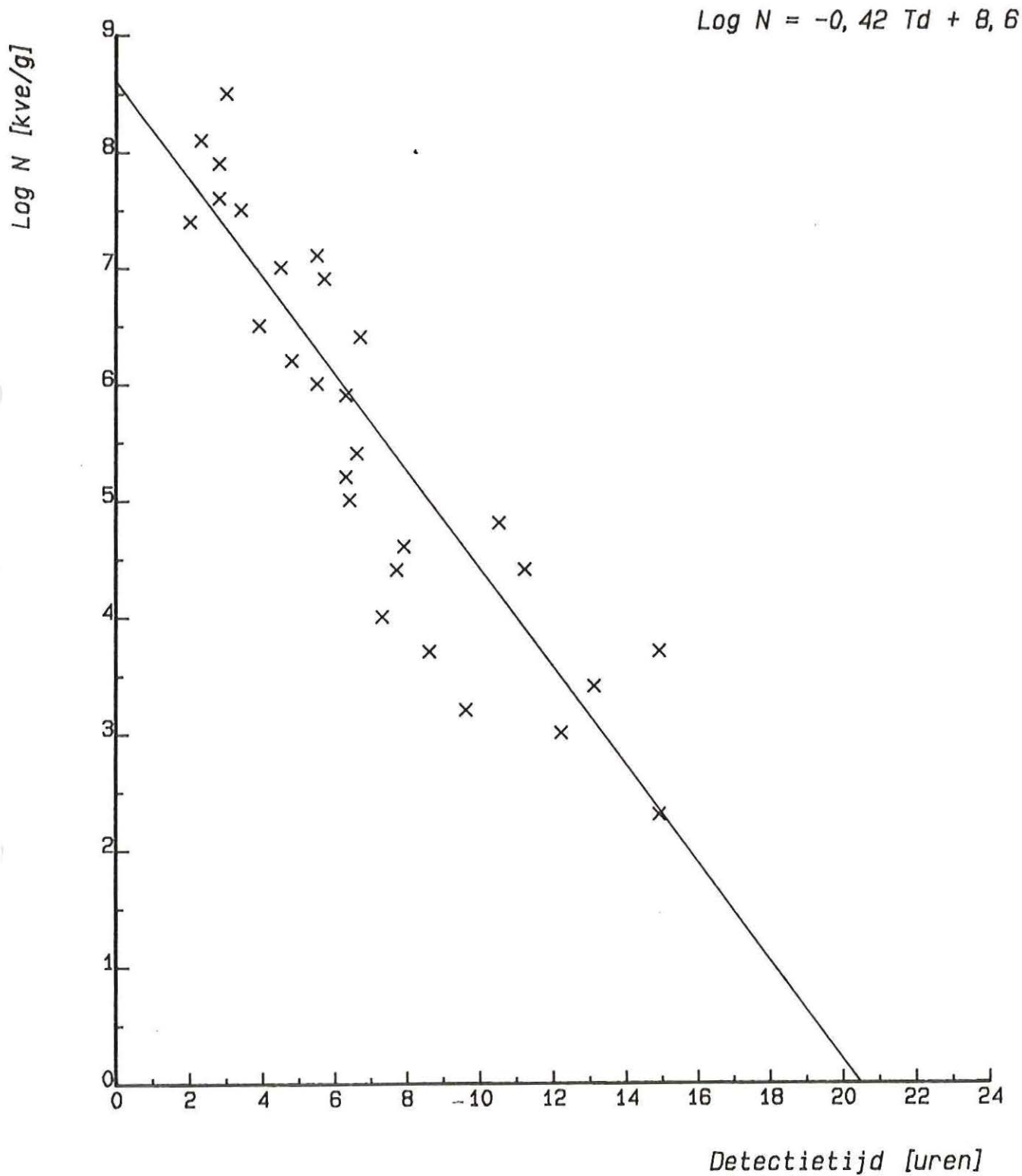
START...1.....

ZERO..1.....

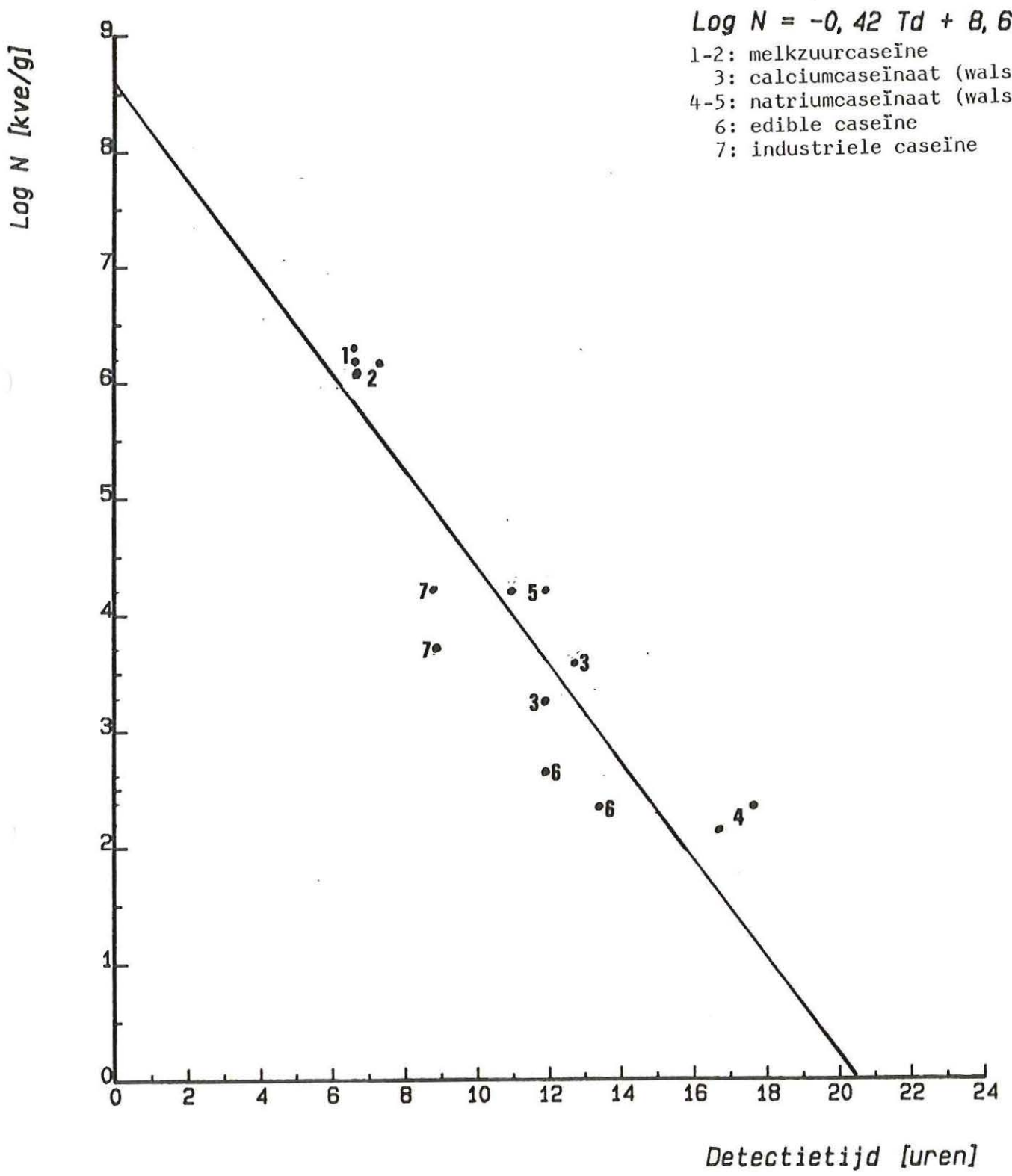
X SCALE USED (h)		
4		72
6		144
12		288
24	x	



Figuur 1: impedantiecurves gepre-incubeerd monster



Figuur 2:
Verband tussen kiemgetal en detectietijd van
gepre-incubeerde monsters caseinaat.



Figuur 3: Resultaten van de screening van geïmporteerde monsters