

BACTERIOPHAGEN IN ZUURSELS

DOOR

J. W. PETTE

(Ingezonden 13 December 1945)

1. Inleiding

Meermalen wordt uit de praktijk de klacht vernomen, dat zuursels voor de boter- en kaasbereiding meer of minder plotseling dienst weigeren. Vooral voor den noodzakelijken vlotten gang van zaken in onze boterfabrieken is dit een ernstig ongemak, daar, indien de zuring van den room met deze zuursels te traag verloopt, de room niet op tijd dik is.

Meestal wordt het verschijnsel waargenomen bij het z.g. „grootzuur” en soms ook bij het „stamzuur”, indien daar tenminste mee gewerkt wordt, hetgeen nog lang niet overal het geval is.

Speciaal bij het inzetten van nieuw zuursel zouden deze verschijnselen optreden. Dit nu staat helaas de verstrekking van gecontroleerde goede zuursels van uit een centraal laboratorium in den weg, welke verstrekking uit andere hoofde, n.l. uit die der aromavorming in de boter zeker wenschelijk is.

Ter illustratie van het bovenstaande zij hier eerst iets verteld van de ervaring, die wij zelf hierover opgedaan hebben.

Sinds eenige jaren verstrekt n.l. de Bacteriologische Afdeling van het Rijkslandbouwproefstation door het geheele land heen zuursels voor de boterbereiding aan de praktijk. In verband met vroeger opgedane ervaringen met de zuurselverstrekking, werden daartoe eenige **praktijkzuursels** genomen, die in de fabrieken goed voldeden en die volgens de tegenwoordig bekende contrôlemethoden als „goed” beoordeeld worden, d.w.z., dat zij snelzurend en zwak reduceerend zijn en alleen bestaan uit een mengsel van melkzuurstreptococci en aromabacteriën.

Deze zuursels worden in het laboratorium elken dag met $\pm 1\frac{1}{2}$ % overgeënt in potjes met 750 cm³ gepasteuriseerde centrifugemelk, dus op een wijze, zooals dit in de praktijk bij een stamzuursel gewoonlijk geschiedt. Na een dag kweken in een broedstoof bij 20 à 21 °C, worden zij in gesteriliseerde fleschjes naar de praktijk verzonden. Vanzelfsprekend vindt er steeds een regelmatige contrôle van deze zuursels plaats. Tot nu toe werd er nooit eenige afwijking geconstateerd.

Daar de zuursels niets anders zijn dan uitstekende praktijkzuursels, zou men verwachten, dat aan de verstrekking van deze zuursels aan de praktijk geen moeilijkheden zouden zijn verbonden. Bij tal van fabrieken was dat ook het geval, doch een aantal fabrieken klaagde over een te zwakke zuring of over een algeheele weigering van het zuursel om te zuren. Enkele voorbeelden van de verschijnselen, die zich voordeden, mogen hier volgen.

Een fabriek meldde ons, dat zij wel 15 % zuursel aan den room (vet-

gehalte $\pm 20\%$) toevoegen moest om den room bij 13°C in normalen tijd dik te krijgen.

Een andere fabriek deelde mede, dat er na eenige dagen een verzwakking in de zuring optrad, die zich na nog eenige malen overenten weer herstelde.

Bij een derde fabriek herstelde zich een dergelijke verzwakking niet. Na het sturen van een ander zuursel ging het een tijd lang goed, terwijl maandelijks een nieuw fleschje zuursel gestuurd werd. Plotseling weigerde dit tweede zuursel na eenige malen overenten geheel.

Een dergelijke spontane weigering trad bij meerdere fabrieken op; bij sommige na 3 of 4 dagen, bij andere na 3 weken of nog langeren tijd.

Ten slotte deelden enkele fabrieken mede, dat het zuursel zelfs bij de eerste overenting al niet aanslaan wilde. Bij één dezer fabrieken werd de poging niet een nieuw monster zuursel nog tweemaal herhaald, echter zonder succes, waarop zuursel van een buurtfabriek genomen werd, waarmede wel goed gewerkt kon worden. Het merkwaardige echter was, dat deze buurtfabriek hetzelfde zuursel kort geleden van ons ontvangen had en er tot volle tevredenheid mede werkte.

Hoewel wij overtuigd waren van de goede kwaliteit van onze zuursels, ook wat het zuigingsvermogen betreft, viel het optreden der raadselachtige verschijnselen niet te loochenen.

Uit inlichtingen uit de practijk, o.a. van den HEER W. DE BOER, technisch ambtenaar van de N.C.Z., voor wiens waardevolle en steeds zoo bereidwillig gegeven inlichtingen wij gaarne hierbij onzen dank betuigen, bleek ons wel, dat het verschijnsel der spontane weigering van zuursels niet alleen bij zuursels van het Rijkslandbouwproefstation voorkwam.

Aan onze zuursels stelt men echter den eisch, dat dit verschijnsel niet voorkomt, een eisch, waaraan wij nimmer zullen kunnen voldoen, omdat, zooals wij later zullen zien, een besmetting van het zuursel in de fabriek een der oorzaken is. Alvorens echter op deze oorzaken nader in te gaan, willen wij eerst eens nagaan wat er over het weigeren van zuursels om te zuren in de literatuur bekend is.

2. Ervaringen in Nieuw-Zeeland

Speciaal in Nieuw-Zeeland is zeer veel aandacht geschonken aan het weigeren van zuursels. Het betreft hier kaaszuursels voor de Cheddar-kaasbereiding. In verband met het feit, dat men bij het z.g. chedderen wachten moet tot de zuurgraad van de aflopende wei een zekere waarde verkregen heeft, is het niet goed verlopen der zuring bij deze kaasbereiding natuurlijk een ernstig nadeel.

De analogie der in Nieuw-Zeeland waargenomen verschijnselen bij zuursels met het gedrag der zuursels hier te lande is zoo groot, dat de daar gevonden resultaten zeer zeker ook voor onze zuursels van belang zijn.

Zoo beschrijven WHITEHEAD en WARDS (1) in 1933 hoe een door het Dairy Research Institute aan een bedrijf verstrekt zuursel, na verscheidene maanden normaal gewerkt te hebben, plotseling weigerde. Nieuw gezonden

cultures deden het de eerste dag goed, maar na 2 of 3 dagen was het weer heelemaal mis. De melk werd zelfs niet meer dik. Gebruik van andere melk leidde niet tot verbetering. Hetzelfde zuursel was op het laboratorium reeds een jaar lang goedgehouden en daarom werd verondersteld dat het aan de wijze van overenten lag. Bootste men op de fabriek de wijze van overenten van het laboratorium na door in een flesch met wattenprop over te kweken, dan ging het aanvankelijk goed, doch na 3 weken liep het zuringsvermogen van het zuursel toch achteruit. Bootste men op het laboratorium de wijze van overenten op de fabriek na, dan lukte het toch niet het gebrek te voorschijn te roepen. Hoewel de oorzaak dus onbekend bleef, vermoedden de schrijvers, dat er sprake was van een of andere infectie in de fabriek.

Merkwaardig in verband met het door ons genoemde analoge geval is nog de vermelding, dat intusschen door de fabriek een ander zuursel gevonden was, dat zich ook bij fabriekmatige behandeling goed hield. Verdere proeven werden daarom afgebroken.

Doch hiermede was de zaak niet afgedaan. Nieuwe gevallen van spontane weigering deden zich voor. WHITEHEAD (2) (3) (4) vond een tweetal streptococcenstammen, de eene een *Sc. cremoris*, de andere een veel op *Sc. mastitidis* gelijkende stam, die in sterke mate zuringsverhinderende stoffen afscheidde. Dergelijke streptococcen werden door WHITEHEAD en Cox (5) zeer verbreid, o.a. ook in silage gevonden.

Nu is dit verschijnsel van bacteriën, die elkaar in hun werkzaamheid belemmeren, algemeen bekend. Misschien dat dit in sommige gevallen een rol zal spelen, maar er bestaat toch geen aanleiding voor om er groote beteekenis voor de spontane weigering van zuursels aan toe te kennen. Dit verschijnsel treedt immers ook op indien er geen sprake is van een infectie met dergelijke zuringsverhinderende bacteriën.

Opnieuw werd daarom het onderzoek ter hand genomen en er werd aangeknoopt aan de ervaring, dat een zuursel, dat zich normaal gedraagt, indien het in kleine hoeveelheden melk overgeënt wordt, dikwijls weigert, indien het in een groote portie melk aangezet wordt. Er bleek nu aan WHITEHEAD en Cox (6), dat dit een gevolg was van meer of minder luchttoetreding tot de melk. Werd het zuursel in een conische flesch overgekweekt, dan bleef het goed, terwijl bij overenting in grootere vaten, ja zelfs in beker glazen, een spontane weigering dikwijls optrad. Dit nu zou volgens hen een gevolg zijn van een verschil in luchttoetreding (aeratie).

Ook bij uit het zuursel geïsoleerde melkzuurbacteriënstammen trad het verschijnsel op. Niet altijd vindt een algeheele zuringsverhinderende plaats; het kan ook een zuringsvertraging zijn.

Plotseling hield nu echter, zoowel bij het zuursel als bij de geïsoleerde stammen, het verschijnsel der zuringsbelemmering op. Gedurende een periode van 9 maanden bleven ze volkomen normaal en ook ongevoelig voor aeratie. Toen verscheen het weer bij een geïsoleerden *Sc. cremoris*stam.

We kunnen hier dus de conclusie uit trekken, dat, zooals ook onze ervaring is, het verschijnsel epidemisch optreedt, d.w.z., dat het slechts af en toe optreedt en dan plotseling weer verdwijnt evenals b.v. een epidemische ziekte.

gevallen de oorzaak waren van de genezing. In de ontlasting van herstellende patienten kon men dan ook bacteriophagen tegen de ziekte veroorzakende bacteriën aantreffen en bacterievrije bacteriophagfiltraten werden ter genezing toegepast.

Naderhand is wel gebleken, dat bacteriophagen ook bij saprophyte micro-organismer voorkomen, zooals bij verschillende al of niet sporenvormende grondbacteriën.

Meer en meer komt men tot het inzicht, dat het een algemeen verschijnsel is bij bacteriën en het laat zich aanzien, dat dit verschijnsel de toch al zoo moeilijke bacteriologische wetenschap nog gecompliceerder zal maken.

Bij de bestudeering der bacteriophagen kwamen eenige algemeene eigenschappen naar voren, waarvan wij, behalve de reeds genoemde overentbaarheid en de wisselende sterkte der werkzaamheid, nog de volgende willen noemen.

De bacteriophag ontplooit zijn werkzaamheid binnen bepaalde temperatuurgrenzen en wel $\pm$ tusschen 10 en 45 °C. Verhitting tot $\pm$ 75 °C maakt hem onwerkzaam. De werkzaamheid van den bacteriophag uit zich meestal slechts ten opzichte van bepaalde stammen van dezelfde soort. Het komt echter ook voor, dat bacteriën van verschillende soort door eenzelfde bacteriophag worden aangetast. Ook is wel gebleken, dat de werkzaamheid der bacteriophagen in verloop van tijd soms sterk varieert, hoewel ook dikwijls een merkwaardige constantheid in eigenschappen waargenomen werd.

We zullen nog gelegenheid hebben op deze eigenschappen terug te komen bij de bespreking der bacteriophagen bij zuurselstreptococcen.

4. Literatuur over zuurselbacteriophagen

In Nieuw-Zeeland komen WHITEHEAD en Cox (13) in 1936 uitvoerig op hun voorloopige mededeeling over bacteriophagen terug. Zij beschreven in deze publicatie proeven met een reincultuur van *Sc. cremoris*, welke plotse-ling niet wilde zuren.

Zij demonstreerden hiervan, dat de oplossing overentbaar was. Bij toevoeging n.l. van een paar druppeltjes van deze niet gestreinde cultuur der bacterie in melk met methyleenblauw, geënt met den betreffenden stam en gekweekt bij 30° C., zag men wel aanvankelijk een ontkleuring der melk en kon men microscopisch een goeden groei der bacteriën waarnemen, doch een uur later was de proefbuis weer blauw en waren alle bacteriën verdwenen. Dit proces liet zich voortdurend herhalen.

Werd van een dergelijke opgeloste cultuur een bacterievrij filtraat gemaakt, dan bleek dit werkzaam tot in de verdunning 10⁻⁸ of 10⁻⁹.

Op gist-wei-agar-platen konden kale plekken worden gevormd, die een grootte hadden van $\pm$ 0,5 mm.

Zij vonden verder nog, dat:

- 1°. de bacteriophag beter werkzaam was bij 30 dan bij 20 of 37° C.;
- 2°. dat hij vernietigd werd door een verhitting van 30 min. op 70° C ;

- 3°. dat het filtraat maandenlang bij 4° C. te bewaren was zonder noemenswaardigen achteruitgang der werkzaamheid;
- 4°. dat melk verreweg het beste medium was, doch dat het in andere voedingsbodems ook ging, b.v. in wei;
- 5°. dat de bacteriophagaag zeer specifiek was t.o.v. den *Sc. cremoris*stam;
- 6°. dat het niet gelukte blijvend immune varianten van dezen stam te kweken, dus secundaire cultures, die blijvend niet gevoelig voor den phaag waren, en
- 7°. dat aeratie der melk een buitengewoon activeerende werking op het bacteriophagaverschijnsel heeft.

Door al deze waarnemingen wordt wel duidelijk bevestigd, dat er sprake is van een werking van een bacteriophagaag bij deze *Sc. cremoris*.

In den loop der jaren werd vervolgens door WHITEHEAD en HUNTER (14) nog meerdere ervaring over bacteriophagen opgedaan, zonder dat dit echter tot nieuwe gezichtspunten aanleiding gaf. Enkele opmerkingen willen wij nog even aanstippen.

Zoo vestigen de schrijvers er speciaal nog eens de aandacht op, dat het zoo maar niet naar believen mogelijk is het bacteriophagaverschijnsel te voorschijn te roepen. Het is noodig, dat de cultuur hiervoor in een gevoelig stadium is, hetgeen slechts af en toe het geval is. Is dit het geval, dan is het verschijnsel door allerlei maatregelen, die luchttoetreding tengevolge hebben, te activeeren.

Het treedt speciaal bij werkelijke reincultures op, terwijl bij mengcultures zelden totale weigering optreedt, omdat de bacteriophagen zoo specifiek zijn voor de stammen, waarop zij werken. Uit hun artikelen blijkt nu, dat in Nieuw-Zeeland juist werkelijke reincultures verstrekt worden, in tegenstelling tot in andere landen, waar men dit systeem reeds lang verlaten heeft, omdat reincultures niet goed voldeden. Het is waarschijnlijk, dat ook in andere landen juist de werking der bacteriophagen, zich uitende in een onvoldoende zuring, er de oorzaak van geweest is, dat men tot mengcultures (zuursels) is overgegaan en aannemelijk, dat men in Nieuw-Zeeland, door de klok terug te zetten en weer met reincultures te beginnen, zoo veel last van onvoldoende zuring heeft gekregen.

Toen nu wederom het bereiden van phaagresistente zuursels niet mogelijk bleek, werd er toe overgegaan de cultures in grotere hoeveelheid over te enten dan gebruikelijk was om de z.g. lag-phase ¹⁾ zoo kort mogelijk te doen zijn. Een langere duur van deze phase zou n.l. tot het optreden van den bacteriophagaag aanleiding geven.

Hoewel dit zwaardere enten in het laboratorium wel succes had, bleek dit in de practijk in het geheel niet het geval te zijn. Dit gaf aanleiding om meer en meer tot de overtuiging te komen, dat er in de bedrijven een infectie met bacteriophagen van buiten af plaats vindt. Dit was voor de schrijvers een moeilijke erkenning, daar ze aanvankelijk juist in verband

¹⁾ Een pas geënte cultuur van bacteriën heeft eenigen tijd noodig alvorens tot een snellen groei over te gaan. Men noemt deze beginphase, die gewoonlijk eenige uren duurt, de lag-phase.

hun vermogen de zuurvorming van melkzuurbacteriënstammen te verhinderen, dan bleek dit veelvuldig voor te komen, vooral ten opzichte van enkele gevoelige stammen. We zien hier dus weer hetzelfde verschijnsel als in Nieuw-Zeeland en de Amerikaansche schrijvers stellen deze werking eveneens op rekening van bacteriophagen. De overentbaarheid en de plagevorming konden beide gemakkelijk bewezen worden.

Merkwaardig is echter, dat ook filtraten van schijnbaar normale zuursels bacteriophagen bleken te bevatten, al waren dan de filtraten van langzame zuursels sterker werkzaam. Meestal verhinderden de filtraten van normale zuursels slechts de zuurvorming door enkele stammen. Filtraten, gemaakt van reine melkzuurbacteriënstammen, vertoonden nooit eenige phaagwerking. Ook *Bc.-cremoris*-stammen (aromabacteriën) bevatten geen bacteriophag. Slechts wanneer beide in combinatie in het zuursel leven, konden blijkbaar bacteriophaghoudende filtraten worden bereid. Dit resultaat is dus in tegenspraak met de bevindingen van WHITEHEAD c.s., die herhaaldelijk bacteriophagen van reincultures isoleerden.

De verdere bevindingen van NELSON, HARRIMAN en HAMMER met den bacteriophag zijn vrijwel gelijk aan die in Nieuw-Zeeland en in overeenstemming met de eigenschappen van bacteriophagen in het algemeen. De uit zuursel verkregen bacteriophag was dikwijls zwak, de titer bedroeg soms niet meer dan 10^{-2} . Hij kon echter aanmerkelijk versterkt worden door enkele overentingen bij toevoeging aan een gevoeligen melkzuurbacteriestam. De toevoeging van den bacteriophag diende echter niet te laat na de enting der melkzuurbacterie te geschieden, want dan zijn de melkzuurbacteriën reeds te oud en de bacteriophag kan zich slechts vermeerderen ten koste van jonge deelende bacteriën. Een voorbeeld moge dit verduidelijken.

TABEL 1.

Filtraat 128, waarvan de titer $10^{-6.5}$ was, werd na verschillende tijden toegevoegd aan met *Sc. lactis* 99 geënte melkcultures en bij 30° C gekweekt. Van deze cultures werden opnieuw na eenigen tijd filtraten bereid.

Toevoeging van filtraat in uren na de enting	Titer van het resulteerende filtraat
0	10—7,5
5	10—9
8,5	10—3,5
12	10—2

Getracht werd om de bacteriophagen rein te kweken door ze voortdurend via 1 stam te kweken en steeds kale plekken (= phaagkoloniën) af te pikken. De eigenschap om sommige melkzuurbacteriën te beïnvloeden ging daarbij verloren; ten opzichte van andere stammen werd zij versterkt, zoodat er blijkbaar wel van een zekere reïncultivering sprake is. In een enkel geval werd echter een nieuwe stam gevoelig, terwijl infectie uitgesloten kon worden geacht.

De beste omstandigheden voor het voortkweken der bacteriophagen werden nagegaan in verschillende media met verschillenden pH en bij verschillende temperaturen. Bij 21 of 30° C bleek het wel het beste te gaan, de geschiktste pH was 6,8 à 7,2 en hoewel het ook in andere media uitstekend gaat, wordt melk als voedingsbodem nergens door overtroffen.

De thermoresistentie der phagen was zeer verschillend. Soms werden zij door een verhitting van 5' op 65° C reeds vernietigd, soms konden zij 10' op 70° C nog verdragen. Bij lageren pH, b.v. 4,8, ging de vernietiging veel vlugger.

Dikwijls bleek de bacteriophagaag thermoresistenter dan de corresponderende bacterie en de schrijvers achten het wel mogelijk, dat de bacteriophagen bij standpasteurisatie niet vernietigd worden.

Bij lage temperatuur konden de bacteriophagen lang actief bewaard blijven. Ook door uitdrogen gedurende 7 dagen boven P_2O_5 en weer oplossen tot het oorspronkelijk volume ging de titer slechts weinig achteruit.

Interessant zijn ten slotte nog de waarnemingen, die door de schrijvers bericht zijn over de gevoeligheid van melkzuurstreptococceen voor bacteriophagen.

Alle uit spontaan gezuurde melk geïsoleerde melkzuurbacteriënstammen waren ongevoelig voor bacteriophagen, terwijl de uit zuursel geïsoleerde stammen soms gevoelig waren en soms niet, zonder dat dit afhing van het zuursel, waaruit zij geïsoleerd waren. Het is dus niet zoo, dat men juist uit die zuursels, die zwakke zuring vertoonen, gevoelige stammen isoleeren kan. Ook konden uit 1 zuursel op verschillende tijden nu eens gevoelige en dan weer ongevoelige stammen geïsoleerd worden.

Tusschen gevoelige en ongevoelige stammen konden geen opvallende verschillen waargenomen worden, noch in hun gedrag in lakmoesmelk of tomatenbouillon, noch wat den kolonievorm of de suikervergisting betreft.

Wel meenen de schrijvers, dat juist met de gevoelige stammen de meest aromatische zuursels verkregen kunnen worden, maar zij bereidden een aantal combinaties van niet-gevoelige melkzuurstreptococceen met aromabacteriën, die wat geur en smaak betreft, toch uitstekend voldeden.

Over het geheel genomen bleken secundaire cultures wel veel minder gevoelig te zijn voor bacteriophagen, maar zij zijn niet geheel resistent. Overigens ziet men ook soms, dat de gevoeligheid van melkzuurbacteriën ten opzichte van bacteriophagen zonder aanwijsbare oorzaak verandert. De schrijvers meenen, dat dergelijke veranderingen uit de bacteriecel voortspuiten en niet van den bacteriophagaag afkomstig zouden zijn.

Op grond van de hierboven in het kort vermelde proeven en waarnemingen komen NELSON, HARRIMAN en HAMMER tot de slotsom, dat het verschijnsel der zwakke zuring zonder twijfel aan bacteriophagen te wijten is. Deze wetenschap brengt hen echter niet veel verder, daar zij van oordeel zijn, dat er geen enkele aanwijzing gevonden is om het verschijnsel te voorkomen of te verhelpen.

Het verschil tusschen een langzaam en een normaal zuursel is volgens hen gelegen in het feit, dat een langzaam zuursel voldoende stammen van bacteriophagaag bevat om de zuring door een belangrijk deel der in het zuursel voorkomende stammen van melkzuurbacteriën tegen te houden,

Er werden herhaalde pogingen aangewend om z.g. „plage”-vorming te verkrijgen, doch dit gelukte nimmer. Uit latere ervaring is het waarschijnlijk, dat dit te wijten was aan een verkeerde techniek, doordat gelatine gebruikt werd i.p.v. agar en onjuiste verhoudingen gekozen werden van melkzuurbacterie en bacteriophagaag.

Hoewel het dus niet gelukte vorming van kale plekken te verkrijgen, werd wel bewezen, dat de oplossing der bacteriën overentbaar was. De mogelijkheid om een titer vast te stellen bewees, dat er sprake moest zijn van deeltjes in de oplossing. Het is dan ook wel zeker te achten, dat hier sprake was van een werking van een bacteriophagaag.

B. ZUURSEL 110

Op 2 Juni 1942 was het zelf samengestelde zuursel 110 plotseling niet gestremd. De titer bedroeg slechts 41° D. Evenals bij M I was ook hier de citroenzuromzetting geheel normaal. Het verschijnsel geleeek dus sterk op de een maand eerder plaats gehad hebbende weigering bij zuursel M I. Ook hier was 24 uren later het zuursel wel gestremd en sindsdien is het verschijnsel tot nu toe niet meer opgetreden.

Het zuursel 110 hebben wij nog steeds in cultuur en het werd met succes ook in praktijkproeven gebruikt.

Op dezelfde wijze als bij M I werd ook van het niet gestremde zuursel 110 een filtraat gemaakt. Dit filtraat was echter *niet* in staat de zuring van het zuursel 110 of van hieruit geïsoleerde melkzuurbacteriën of van melkzuurbacteriën uit de collectie te belemmeren. Het blijft dus zeer de vraag of hier werkelijk bacteriophagaag aanwezig is geweest.

C. ZUURSEL H

Sinds wij in 1943 waren overgegaan tot het regelmatig verstrekken van boterzuursel aan de praktijk, kwam het verschillende malen voor, dat wij het door ons verstrekte zuursel, na eenigen tijd gebruikt te zijn, van de fabriek terug kregen om na te gaan of er veranderingen in de eigenschappen van het zuursel waren opgetreden. Dit bleek zeer veel het geval te zijn.

Hierbij bleek o.a. dikwijls ook de zuringssnelheid belangrijk achteruit gegaan te zijn.

Om na te gaan of hierbij ook sprake was van een werking van bacteriophagen werden weldra ook bacterievrije filtraten van deze teruggezonden zuursels gemaakt en van deze filtraten werd nagegaan of zij verhinderend op de stremming van een aantal reïncultures van onze collectie werkten. De vroeger gebruikte reïncultures waren grootendeels verloren gegaan, waaronder ook de gevoelige stammen V en XVI. Een 17-tal nieuwe stammen werd nu gebruikt, waarvan de stam Wg₂ het gevoeligste bleek. Met verscheidene filtraten kon hiervan stremverhinderend bewerkstelligd worden. Een nader onderzoek werd door tijdgebrek meestal niet ingesteld.

Aan 2 gevallen werd echter meer aandacht besteed.

Het betrof hier respectievelijk de zuursels H en W., beide uitstekende praktijkzuursels, die regelmatig door ons met goed succes aan de praktijk verstrekt worden.

Op 27 October 1943 werd ons door een fabriek het praktijkzuursel H teruggezonden, omdat het niet meer zuren wilde. De titer was bij het

verzenden 56° D. Bij aankomst was de cultuur wel gestremd en er had een sterke weiafscheiding plaats gevonden.

Bij uitzaaiing van het zuursel op weigelatine bleek de flora der melk-zuurbacteriën van een geheel andere samenstelling dan het oorspronkelijke (foto's 4 en 5).

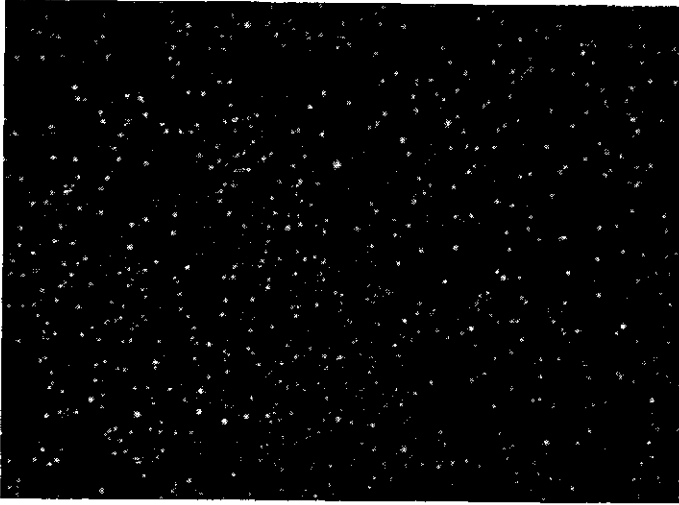


Foto 4.
Oorspronkelijke flora van het zuursel H.

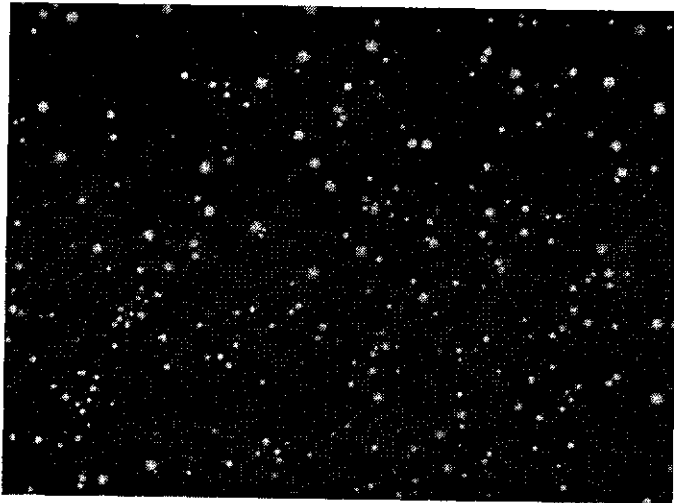


Foto 5.
Flora van het zuursel H, na eenigen tijd overenten in een fabriek.

Wat ons echter het meeste interesseert is de vraag wat er tegen te doen is.

Is het weigeren van zuursels werkelijk te allen tijde te voorkomen? Waarschijnlijk is dit niet, omdat veel er op wijst, dat we hier met een ziekteproces der bacteriën te maken hebben, hetwelk zich bij alle bacteriën openbaren kan. Aangezien het echter een infectieziekte schijnt te zijn, moet het mogelijk zijn door hygiënische maatregelen de gevolgen zooveel mogelijk te beperken. Als zoovele malen blijkt ook hier weer, dat reinheid de belangrijkste peiler is, waarop de zuivelbedrijven dienen te steunen.

Langs twee wegen kan het gevaar van infectie met zuurselbacteriophagen worden voorkomen. In de eerste plaats dient de verstrekking van zuursels te geschieden van uit laboratoria, die een regelmatige, strenge controle kunnen en willen uitoefenen. Wij hebben de laatste jaren aan het Rijkslandbouwproefstation de techniek van de controle op zuursels zoodanig uitgewerkt, dat een regelmatige controle op zuringseigenschappen en aromatische kwaliteit betrekkelijk eenvoudig mogelijk is. Indien een zuursel bacteriophagen bevat, zal dit ongetwijfeld bij de regelmatige controle blijken. Op vrij eenvoudige wijze is tenslotte ook een bacterievrij filtraat te bereiden, dat met een aantal gevoelige stammen op aanwezigheid van bacteriophag getest kan worden. Het spreekt vanzelf, dat slechts die zuursels aan de practijk verstrekt zullen mogen worden, die in verloop van langen tijd nimmer verschijnselen van bacteriophagie hebben vertoond. In de tweede plaats dient een infectie op de bedrijven voorkomen te worden. Hiervoor gelden dezelfde regels als voor het voorkomen van elke andere infectie. In het bijzonder schijnt, behalve goed schoonmaken, een chloordesinfectie hiervoor nuttig te zijn.

Een nieuw element bij de zindelijke bedrijfsvoering is tenslotte het zooveel mogelijk vermijden van luchtinfectie. De gesloten zuringstanks voor zuursel en room bieden hierbij aanmerkelijke voordeelen. Het afscheppen van de bovenlaag van het zuursel met een sterielen lepel alvorens door te roeren, een gewoonte, die vooral vroeger in zwang was en die dan zou dienen om de „meer aerobe” melkzuurbacteriën te verwijderen, aangezien deze voor de zuring niet gunstig zouden zijn, zou misschien opnieuw beteekenis krijgen, omdat men ermee de van luchtinfectie afkomstige bacteriophagen zou verwijderen. Indien in het bedrijf stamzuursel aangehouden wordt, kan deze werkwijze met geringe moeite hierbij uitgevoerd worden en is dit dus veiligheidshalve aan te bevelen. Het zij bovendien gezegd, dat het aanhouden van stamzuursel in elk geval aan te bevelen is, omdat men bij het werken met kleine hoeveelheden beter in staat is infecties te vermijden.

Het is onze overtuiging, dat bij een zindelijke bedrijfsvoering het gevaar voor bacteriophagen gering is. Meerdere kennis over het wezen van den bacteriophag en over de omstandigheden, waaronder hij optreedt is echter wel gewenscht, alvorens een definitief oordeel te vellen.

7. Samenvatting

Het komt meermalen voor, dat bij zuursels in de fabrieken een meer of minder sterke verzwakking van het zurend vermogen optreedt. Vooral voor den noodzakelijken vlotten gang van zaken in onze boterfabrieken is dit een ernstig ongemak.

Dit verschijnsel, dat ook in andere landen bekend is, wordt daar toegeschreven aan de werking van bacteriophagen.

Er werd daarom een overzicht gegeven van de ervaringen in het buitenland ⁽¹⁾ en nader toegelicht wat onder bacteriophagie wordt verstaan.

Het onderzoek van enkele gevallen bracht aan het licht, dat ook in Nederland bacteriophagen de oorzaak van het weigeren van zuursels kunnen zijn. Het is waarschijnlijk, dat besmetting hiermede op de fabriek plaats kan vinden. Zindelijkke bedrijfsvoering is een eerste vereischte voor het verhinderen van deze besmetting.

Summary

Sometimes starters, used in factories, fail to develop acid at a normal rate. This is a very serious inconvenience, especially in butterfactories.

In other countries, where slow acid production by starters also has been noted, bacteriophages are considered as the cause of this phenomenon.

A description of the bacteriophage phenomenon and a review of the investigations on bacteriophage active against lactic streptococci has been given ⁽²⁾.

It was demonstrated that also in the Netherlands bacteriophages can be the cause of the slow development of acid by starters.

It is highly probable that this is due to a contamination with bacteriophages in the factory. Special stress is laid down on cleanliness to overcome the failure.

⁽¹⁾ Slechts de literatuur, die gedurende den oorlog voor ons toegankelijk was, kon hierin worden verwerkt.

⁽²⁾ Only the literature accessible to us in war-time could be mentioned.

Literatuur

- (1) H. R. WHITEHEAD and L. WARDS, New Zealand Dairy Research Institute, Bulletin No. 38, 1933.
- (2) H. R. WHITEHEAD and W. RIDDET, New Zealand Journal of Agriculture, April (1933).
- (3) H. R. WHITEHEAD, New Zealand Journal of Agriculture, Dec. (1933).
- (4) H. R. WHITEHEAD, The Biochemical Journal **27**, 1793 (1933).
- (5) G. A. COX and H. R. WHITEHEAD, New Zealand Journal of Agriculture **52**, 38 (1936).
- (6) H. R. WHITEHEAD and G. A. COX, The Journal of Dairy Research **5**, 197 (1934).
- (7) H. R. WHITEHEAD and G. A. COX, New Zealand Journal of Science and Technology **16**, 319 (1935).
- (8) F. D'HÉRELLE, Compt. rend. Acad. sci. **165**, 373 (1917).
- (9) F. W. TWORT, Lancet 1915, ii, 124.
- (10) H. RUSKA, Arch. für die gesamte Virusforschung **2**, 480 (1943).
- (11) A. J. KLUYVER, Handelingen van het 26e Ned. Natuur- en Geneeskundig Congres (1937).
- (12) M. W. BEYERINCK, Jaarboek voor 1913 van de Kon. Academie van Wetenschappen, te Amsterdam. Verzamelde Geschriften, 5e deel, pg. 138.
- (13) H. R. WHITEHEAD and G. A. COX, The Journ. of Dairy Research VII, 55 (1936).
- (14) H. R. WHITEHEAD and G. J. E. HUNTER, The Journ. of Path. and Bact. XLIV, 337 (1937).
- Ibid. The Journ. of Dairy Res. X, 120 (1939).
- Ibid. The Journ. of Dairy Res. X, 403 (1939).
- (15) H. R. WHITEHEAD and G. J. E. HUNTER, The Journ. of Dairy Res. XII, 63 (1941); Referaat Chem. Zbl. 1943 II, 488.
- (16) P. MAZÉ, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales **135**, 807 (1941).
- (17) G. J. E. HUNTER and H. R. WHITEHEAD, The Journ. of Dairy Res. XI, 62 (1940).
- (18) J. G. DAVIS, Agricult. Progr. **12**, 138 (1935); Referaat: Milchw. Forsch. 18, ref. 267 (1937).
- (19) E. B. ANDERSON and L. J. MEANWELL, J. Dairy Res. XIII, 58 (1942). Referaat: Chem. Zbl. 1944 I, 131.
- (20) F. E. NELSON, L. A. HARRIMAN and B. W. HAMMER, Research Bull. Iowa 256 (1939).
- (26) C 144