

Ek 6

FISKERIDIREKTORATET  
BIBLIOTEKET

# FISKERI- DIREKTORATET

14 OKT. 1979

## Rapporter og meldinger

Nr. 3/79

BAKTERIOLOGISK/HYGIENISK UNDERSØKELSE  
AV FISKEOPPDRETTSANLEGG

av

Jan Gjerde

05  
Rap

Nr. 3/79

BAKTERIOLOGISK/HYGIENISK UNDERSØKELSE  
AV FISKEOPPDRETTSANLEGG

av

Jan Gjerde

## FORORD

Arbeidet ble utført ved Vitamininstituttet 1975 med støtte fra NFFR

## SAMMENDRAG

Arbeidet omfatter bakteriologiske undersøkelser av våtfôr for oppdrettsfisk, sjøvannet i oppdrettsmærer og videre isolering av fecale bakterier fra fisk i oppdrettsanlegg. Arbeidet er ledd i å få bedre kjennskap til de bakteriologiske/hygieniske forhold som oppdrettsnæringen arbeider under. Det ble funnet at bakterier av fecal opprinnelse vanlig kan påvises i oppdrettsanleggene. Disse bakterier inngår ved bakteriologisk standardisering av matvarer generelt. Ved sammenlikning med sjøvann uten kjent organisk forurensing ble det imidlertid ikke påvist økning i oppdrettsmærene av de øvrige bakteriegrupper som inngikk i undersøkelsen.

## INNLEDNING

Et oppdrettsanlegg for fisk vil medføre øket organisk belastning i miljøet. På et relativt begrenset volum avstenges større fiskemengder som spesielt i sommerhalvåret føres intensivt. Ved oppdrett i akvarium er det funnet at førsøl og fiskeavføring som tilføres vannet kan tjene som næringsemne for en rekke grupper av bakterier, og derved øke bakterieinnholdet i vannet (Gilmour et al. 1975). Øket bakterievekst generelt kan også gi muligheter for øket antall potensielle patogene bakterier for fisken. På linje med husdyrhold for øvrig vil sannsynlig de hygieniske forhold i fiskens miljø virke inn på helsetilstanden i anleggene, og videre produktenes anvendelse som matvarer. Ved bakteriologisk undersøkelse av matvarer og vann ut fra en hygienisk vurdering benyttes rutinemessige undersøkelser for indikator bakterier eller grupper av bakterier som kan ha helsemessig betydning. Undersøkelser for bakteriegruppene fecale streptokokker, coliforme bakterier, fecal coliforme inklusive Escherichia coli, coagulase positive staphylokokker og grupper av clostridier har vært hensiktsmessig ved vurdering av bakteriologisk kvalitet for matvarer generelt (Thatcher and Clark 1968). Med unntak av visse serotyper av Escherichia coli (Ewing et al. 1957) regnes disse for apatogene ved lav forekomst. Påvisning av disse grupper kan imidlertid indikere forekomst av patogene bakterier, f.eks. Salmonella (Claudon et al. 1971).

004727

Fiskens bakterieflora på skinn, gjeller og i tarmen er nær relatert til fiskens miljø (Shewan 1961). For oppdrettsfisk vil derved føret som nyttes i vesentlig grad kunne innvirke på fiskens bakterieflora. Undersøkelser har vist at bakterier som tilhører familien Enterobacteriaceae normalt ikke finnes i tarmen hos fisk, og påvisning av slike bakterier hos nyfanget fisk er indikasjon på kloakkforurensing i fiskens miljø (Geldreich and Clarke 1966, Zobell 1941). Videre undersøkelser viser at fisk som lever i et miljø hvor humanpatogene bakterier eller bakterier som Escherichia coli påvises, kan danne antistoffer mot disse bakterier (Jansen and Meyer 1968, Troast 1975). Dette indikerer at fisk aktivt kan infiseres med disse bakteriearter, eller at antistoff dannelsen i fisk har skjedd på grunn av at fiskens gjeller er kommet i nær kontakt med bakteriene. Ut fra disse undersøkelser er det ting som tyder på at fisk kan være reservoar eller vert for bakterier av humanpatogen betydning.

Ved bakteriologisk undersøkelse av sjøvann i oppdrettsmører er det også aktuelt å ta andre bakteriegrupper med i vurderingen. Ved tilførsel av organisk materiale som tilfellet er i et fiskeoppdrett, vil muligheten for prosentvis økning av antall proteolytiske og stivelsesspaltende bakterier være til stede (Hansen og Bonde 1973, Rheinheimer 1970). Bakterier som inngår i nedbrytningen av det organiske avfallet i det marine miljø i kaldere farvann er i overveiende gram negativ staver. Disse grupper er vanligvis saprophytære organismer selv om grupper av disse bakterier spesielt innenfor genera Vibrio og Aeromonas har vært årsak til infeksjonssykdommer hos fisk og skjell (Simudo og Kaneko 1973).

Ut fra disse forhold tok denne undersøkelsen sikte på å påvise forekomster av bakteriegrupper i fiskens miljø som kan ha hygienisk betydning ved videreføring av fisken til konsum, og omfatter undersøkelser av coliforme bakterier, fecal coliforme og fecale streptokokker i fiskeføret, sjøvannet og fiskens overflate og tarminnhold. Videre ble det søkt å kartlegge bakteriegrupper som kan indikere øket organisk belastning generelt. I denne vurderingen inngår total antall levende bakterier, proteolytiske bakterier, stivelsesspaltende bakterier og forekomst av vibriobakterier og hæmolytiske bakterier.

#### Materiale og metoder

Det ble valgt ut tre oppdrettsanlegg som lå slik til at prøvene innen tre timer etter uttak var sådd ut. Oppdrettsanleggene var basert på flytemører. Størrelsen på anleggene representerte det en vanlig kan finne ved kommersiell fiskeoppdrett. Ett av anleggene var svært lite, nærmest hobbybruk (A), et av anleggene var i mellomgruppen hvor 2 mann var sysselsatt (B), og det tredje var et større anlegg med 11 ansatte i sommerhalvåret (C). Størrelsen på fiskemengden i de ulike anlegg til hver tid var vanskelig å beregne på grunn av slakting og for

øvrig rask vekst på fisken. Beliggenheten av anleggene var i avskjermende viker eller fjordarmer. Som referanser ble det tatt ut prøver fra sjøvann uten utslipp fra kjente forurensingskilder (D), og sjøvann fra en betydelig kloakkforurenset fjordarm (E). Referansestedene lå innenfor samme avstand fra laboratoriet som oppdrettsanleggene.

### I. Bakteriologisk undersøkelse av ferdigblandet våtfôr

Undersøkelsen omfatter 62 prøver av ferdigblandet våtfôr. Prøvematerialet er for det meste innhentet ved besøk i oppdrettsanlegg. En del av prøvematerialet er innsendt nedfrosset til laboratoriet. Prøvetakingen i anleggene har foregått ved at prøver på ca. 1 kg ble uttatt aseptisk i sterile plastposer og straks brakt til laboratoriet for bakteriologisk undersøkelse. De innsendte frosne fôrprøvene ble før den bakteriologiske undersøkelsen tint i kjøleskap i ca. 15 timer. Fra hver fôrprøve ble det veid ut 3 paralleller hver på 10 g masse som ble fortynnet med 0,1 % peptonvann og homogenisert i en Servall omnimixer i 2 minutter. Prøvene ble videre fortynnet i en dekadisk fortynningsrekke. Av passende fortynninger ble det tatt ut prøver til de forskjellige testene.

1. Total antall levende bakterier pr. g ble bestemt ved innstøpning i Plate count agar (Oxid CM 183). Parallelt inokulerte skåler ble inkubert aerobt ved 37°C i 48 t og ved 20°C i 72 t (N.M.K. nr. 86, 1972).

2. Coliforme bakterier, fecal coliforme bakterier med identifikasjon av Escherichia coli. For bestemmelse av disse bakteriegrupper ble prosedyren foreskrevet av Association of Official Analytical Chemists 1970 (AOAC) benyttet. I denne prosedyren bestemmes disse bakteriegrupper etter prinsippet "Most Probable Number". Escherichia coli identifiseres ved biokjemisk differensiering etter reaksjonen i Indol medium, Metylrødt medium, Voges Proskauer og Citrat medium (IMVC).

For bestemmelse av de coliforme bakterier ble Lauryl sulphate broth (Merck nr. 10266) benyttet. Prøvene ble inkubert ved 37°C i 48 timer. For bestemmelse av fecal coliforme bakterier ble Eijkmans lactose broth (Difco 0017-01) benyttet, og prøvene ble inkubert i vannbad ved 44.5°C ± 0.1 i 48 timer. For videre diagnostisering av Escherichia coli etter IMVC prosedyren, ble det benyttet medier og reagenser produsert av Oxoid Limited (Oxoid manual).

3. Fecale streptokokker ble bestemt ved overflate utstryk av prøven på Enterococcus agar (Difco nr.0746-01). Etter inkubasjon ved 37°C i 48 t ble rødaktige kolonier omgitt av en smal hvit sone registrert som fecale streptokokker (N.M.K. nr. 68, 1968).

4. Antall proteolytiske bakterier pr. gram ble forsøkt bestemt både ved overflateutsæd og innstøping i Calcium-Caseinat agar (Merck nr. 5409). Inkubasjon ved 20°C i 72 timer. Kolonier med en klar sone rundt ble registrert som proteolytiske. Ved utydelige reaksjoner ble skålene tilsatt 5 % eddiksyre for at den klare sone rundt koloniene skulle komme mer tydelig frem (Levin 1968).

5. Antall hæmolytiske bakterier ble bestemt ved overflate utstryk på Nutrient agar (Oxoid CM 3) tilsatt 5 % kalveblod. Til mediet ble det tilsatt en blanding av 75 % sterilt sjøvann lagret mørkt i 3 uker og med saltinnhold på 3 %, og 25 % sterilt springvann (Zobell 1946). Inkubasjon ved 20°C i 72 t. Kolonier med klar lysis av de røde blodlegemer ble registrert.

6. Antall vibriobakterier ble påvist ved overflate utsæd på TCBS medium Merck nr. 10263. Mediets selektive komponenter isolerer i hovedsak vibriolignende organismer (Kaneko and Colwell 1973). Bakterier fremvokst på dette mediet og som var gram negative bevegelige staver, oxidse positive, fermentative i Hugh and Leifsons medium med glukose, sensitive to vibriostatic compound 0/129 og novobiocin ble registrert som vibriobakterier.

## II. Bakteriologisk undersøkelse av sjøvannet i oppdrettsmærene

1. Total antall levende bakterier pr. ml ble bestemt ved overflate utstryk på Nutrient Agar (Oxoid CM) 3 tilsatt en blanding av 75 % sterilt sjøvann lagret mørkt mer enn 3 uker og 25 % sterilt springvann, pH 7.2-7.4. Ved fortytning av vannprøvene ble samme blanding benyttet som fortynningsmedium. Inkubasjon 3 døgn ved 37°C og 5 døgn ved 20°C.

2. For påvisning av coliforme bakterier, fecale coliforme bakterier med identifisering av Escherichia coli ble samme prosedyre benyttet som ved undersøkelser av våtføret.

3. Fecale streptokokker ble bestemt ved å filtrere 100 ml gjennom milliporefilter med porestørrelse på 0.45. Filtrene inokulert på Enterococcus agar (Difco nr. 0746-01). Inkubasjon og avlesing ble utført etter samme metode som ved undersøkelsen av våtfør.

4. Antall proteolytiske bakterier pr. ml sjøvann ble bestemt som for våtføret. Mediet ble her tilsatt blandingen av 75 % sjøvann, 25 % springvann som ved bestemmelse av total antall levende bakterier pr. ml sjøvann.

5. Antall hæmolytiske bakterier bestemt ved overflate utsæd av 0.1 ml sjøvann. Medium Nutrient Agar (Oxoid CM 3) tilsatt blandingen av sjøvann og springvann (75%-25%).

6. Stivelsesspaltende bakterier pr. ml sjøvann ble bestemt på følgende medium: Beefextract 3 g, peptone 5 g, agar 15 g, natrium-desoxicholat 3 g, brom-thymolblått 0.08 g, stivelse 10 g, 75 % sjøvann og 25 % springvann ad 1000 ml pH 7.2. Inkubasjon 48 timer ved 20°C. Stivelsesspaltende bakterier vokser på dette mediet med gule kolonier.

7. Antall vibriobakterier pr. ml vann ble bestemt på TCBS agar (Merck nr. 10263) ved direkte utstryk med 0.1 ml vann på petriskåler, videre filtrering gjennom milliporefilter med porestørrelse på 0.45 µg av 10 ml og 100 ml sjøvann og inokulering av filtrerne på TCBS agar. Inkubasjon ved 37°C i 2 døgn og 20°C i 3 døgn. Antall vibriobakterier pr. ml ble beregnet ved undersøkelse av fremvokste kolonier på mediet etter samme prosedyre som for våtfóret.

### III. Bakteriologisk undersøkelse av fisken i oppdrettsanleggene

Tilsammen 30 fisk ble undersøkt. Overflaten og gjellene på hver fisk ble strøket med en steril pinne med bomull tvinnet i enden. Prøver fra innholdet i anusåpningen ble tatt ut med tilsvarende utstyr. Pinnene ble plassert i Lauryl sulphate broth og inkubert ved 37°C i 48 timer. Videre prosedyre for påvisning av fecale coliforme bakterier med identifisering av Escherichia coli ble utført som for våtfóret.

## RESULTAT OG DISKUSJON

### I. Resultatene fra våtfóret

Resultatene for den bakteriologiske undersøkelsen av våtfóret er vist i Tab. 1 og 2.

Tab. 1 viser resultatene for total antall levende bakterier pr. gram av fóret gruppert i 4 grupper.

Tab. 1. Resultat for totalt antall levende bakterier pr. gram våtfór gruppert i 4 grupper

Gruppering	Antall prøver i hver gruppe Inkubasjon 20°C	Antall prøver i hver gruppe Inkubasjon 37°C
Gruppe 1: $<1 \times 10^6$ pr. gram	11	13
Gruppe 2: $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ pr. gram	36	34
Gruppe 3: $5 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ pr. gram	8	9
Gruppe 4: $>1 \times 10^7$ pr. gram	7	6

Ved inkubasjon ved 20°C ble det påvist et antall bakterier pr. gram fra  $5 \times 10^4$  til  $2 \times 10^7$ . Resultatene for de fleste prøvene var mellom  $1 \times 10^6$  bakterier pr. gram til  $5 \times 10^6$  bakterier pr. gram. Parallell dyrkning ved 37°C ga lavere resultat, den overveiende del mellom 50-70 % av antallet ved 20°C.

Tab. 2 viser resultatene for coliforme bakterier, fecal coliforme bakterier med identifikasjon av Escherichia coli og fecale streptokokker.

Tab. 2. Funn av coliforme bakterier, fecal coliforme bakterier, Escherichia coli og fecale streptokokker i våtfôr av fisk. Resultatene er gruppert i 4 grupper

Gruppering	Coliforme bakterier	Fecal coliforme bakterier	<u>Escherichia coli</u>	Fecale streptokokker
	Antall prøver i hver gruppe	Antall prøver i hver gruppe	Antall prøver i hver gruppe	Antall prøver i hver gruppe
Gruppe 1: $<10^2$	20	45	51	18
Gruppe 2: $10^2-10^3$	22	17	11	25
Gruppe 3: $10^3-10^4$	12		11	11
Gruppe 4: $>10^4$	14			8

Resultatene er gruppert i 4 grupper. Antallet coliforme bakterier varierte fra 0 til  $5 \times 10^4$  pr. gram fôr, fecal coliforme ble påvist opptil  $9 \times 10^2$  pr. gram. I 11 av 62 prøver ble Escherichia coli påvist. Fecale streptokokker i samme materiale varierte mellom 0 til  $2 \times 10^4$  pr. gram fôr.

Disse undersøkelser viser store variasjoner i det bakteriologiske resultat. Våtfôret består i hovedsak av småsei, lodde, rekeavfall og avskjær eller avfall fra fiskefilet produksjonen. Ved hvert anlegg blir råstoffet blandet og oppmalt. Behandlingen, transporten og lagringen av råstoff av denne art vil variere og innvirke på den bakteriologiske kvalitet av fôret. Videre vil også renholdet av det maskinelle utstyr under opparbeiding av fôret ha vesentlig betydning for den bakteriologiske kvalitet. De høyeste resultater ble funnet der hvor avfall eller avskjær inngikk som en vesentlig del av fôret. I de tilfeller hvor råstoffet besto av hel innfrosset fisk kunne resultatene være svært lave uten påvisning av coliforme bakterier eller fecale streptokokker. Ved prøvetakingen ble det ikke observert tilfeller hvor fisken vraket fôret.

Det finnes få data for bakteriologiske undersøkelser av animalsk fôrstoff. Undersøkelser av ukonservert minkfôr hvor råstoffet med unntak av biprodukt fra slakteriindustrien kan sammenlignes med våtfôr til fisk, ble det påvist langt høyere resultat for coliforme bakterier. (Loftsgård og Yndestad 1970). Dette kan sannsynlig tilskrives slakteriavfallet hvor denne type bakterier er mer vanlig. For total antall bakterier pr. gram er resultatene i samme størrelsesorden. Under-



søkelser av tørkekonservert fiskefôr viste også vanlig forekomst av bakterier tilhørende familien Enterobacteriaceae og videre fecale streptokokker (Trust 1971). Andre aktuelle bakterier i en slik undersøkelse er Salmonella og Clostridium botulinum. Salmonella ble utelukket etter preliminære forsøk hvor innholdet av indikator bakterier var i en slik størrelsesorden at sannsynligheten for påvisning av Salmonella var svært liten. For Clostridium botulinum rår laboratoriet foreløpig ikke over utstyr til påvisning. Clostridium botulinum har imidlertid vært påvist relativt ofte i oppdrettsanlegg i Danmark og Storbritannia hvor det antas at bakteriene er innført i anleggene via fôret som hovedsak består av industrifisk (Cann et al. 1975, Huss et al. 1974).

Også i Norge er det påvist Clostridium botulinum i forbindelse med oppdrettsfisk, noe som gjør at det er grunn for å utvise forsiktighet når det gjelder produksjon av lett-konserverte produkter fra denne råvare (Tjaberg og Håstein 1975).

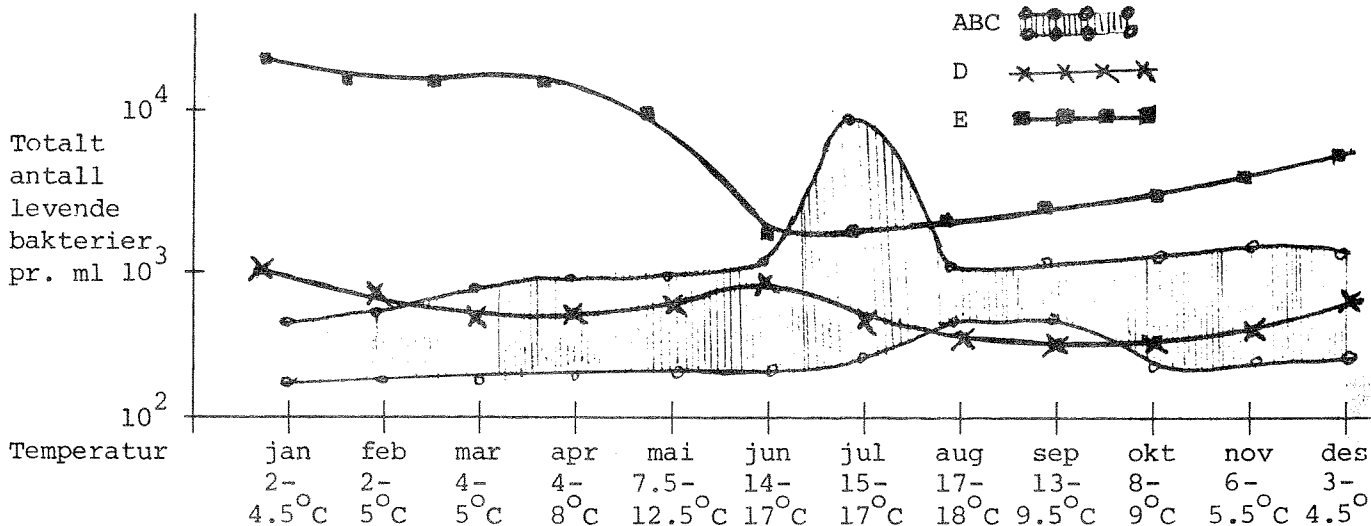
Både proteolytiske og stivelsesspaltende bakterier ble påvist i våtfôret. Ved overflate utstryk ble det imidlertid lett sammenklumping av kolonier, noe som medførte vanskeligheter med sikker registrering av disse grupper.

Hæmolytiske bakterier ble påvist i lavt antall. Dette var også tilfelle for vibriobakterier ved direkte utstryk på TCBS agar Merck nr. 10263. I de tilfeller hvor det ble registrert vekst av kolonier ble dette funnet å være gram positive kokker. Undersøkelser av disse bakteriegrupper i våtfôret ga således sparsom informasjon.

## II. Resultatene fra sjøvannprøvene

Resultatene for den bakteriologiske undersøkelsen av sjøvannet i oppdrettsanleggene baserer seg på månedlige observasjoner. Fig. 1 viser totalt antall levende bakterier pr. ml sjøvann i oppdrettsmærene ved inkubasjon ved 20°C som ble funnet å variere mellom  $2 \times 10^2$  pr. ml til  $1 \times 10^4$  pr. ml.

Fig. 1. Totalt antall levende bakterier pr. ml sjøvann i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E).



Det ble påvist liten forskjell mellom de tre oppdrettsanleggene. Resultatene ligger innenfor det skravert feltet (A, B, C). De høyeste verdier representerer sporadiske funn. Ikke i noen av anleggene ble det påvist tydelig årsvariasjon. Resultatet for total antall levende bakterier pr. ml sjøvann ved inkubasjon ved 37°C viste vesentlig lavere resultat i alle prøver.

I prøvene fra området D (uforurenset sjøvann) ble det påvist resultater i samme størrelsesorden med total antall levende bakterier pr. ml mellom  $4 \times 10^2$  til  $1 \times 10^3$ .

I den forurensete fjorden som inngikk i forsøket (E) besto det organiske avfall i hovedsak av kloakk fra boliger og tilsig fra jordbruksområder. Som mål for bakteriell kvalitet ble i første rekke benyttet forekomst av antall indikatororganismer som coliforme bakterier, fecal coliforme, Escherichia coli og fecale streptokokker. Den organiske tilførsel kan imidlertid ikke direkte sammenlignes med det en finner i oppdrettsanlegg. Resultatene for total antall levende bakterier er vesentlig høyere enn det som ble påvist i oppdrettsanleggene med antall mellom  $3 \times 10^3$  til  $3 \times 10^4$ . Spesielt prøvene fra desember til mars viste høye verdier.

Tabell 3-4-5 viser resultatene for forekomst av indikatorbakterier fra sjøvannsprøvene.

Tab. 3. Antall coliforme bakterier pr. 100 ml sjøvann påvist i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)

	A	B	C	D	E
September	120	64	39	0	1100
Oktober	75	0	23	0	150
November	20	0	75	0	150
Desember	0	15	1100	0	210
Januar	0	28	460	0	460
Februar	43	64	460	0	120
Mars	39	0	43	0	240
April	64	39	0	0	150
Mai	75	75	0	0	210
Juni	93	28	240	0	150
Juli	240	1100	210	7	5500
August	460	240	460	3	4600

Tab. 4. Antall fecal coliforme bakterier pr. 100 ml sjøvann påvist i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)

	A	B	C	D	E
September	20	4	11	0	460
Oktober	23	0	7	0	75
November	9	0	11	0	64
Desember	0	0	43	0	120
Januar	0	0	43	0	120
Februar	7	11	43	0	15
Mars	7	0	0	0	11
April	0	14	0	0	0
Mai	21	39	0	0	11
Juni	11	15	39	0	43
Juli	43	43	14	3	1100
August	43	39	28	0	1100

Tab. 5. Antall fecale streptokokker pr. 100 ml sjøvann påvist i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)

	A	B	C	D	E
September	7	2	10	0	210
Oktober	9	4	0	0	80
November	13	2	10	0	34
Desember	2	0	14	0	87
Januar	4	4	11	0	87
Februar	0	0	0	0	33
Mars	0	0	4	0	15
April	14	2	11	0	30
Mai	0	15	3	0	50
Juni	14	13	7	0	10
Juli	15	15	14	3	900
August	15	8	12	2	700

I det uforurensete området ble det ikke påvist indikatorbakterier, bortsett fra spordadiske funn av coliforme bakterier i juli/august. I oppdrettsanleggene derimot ble indikatorbakterier påvist i en stor del av prøvene. Antallet pr. ml var imidlertid lavt. For coliforme bakterier ble det påvist  $1.1 \times 10^3$  pr. 100 ml som største antall, av fecal coliforme ble det påvist opptil 43 pr. 100 ml og *Escherichia coli* ble påvist i samme størrelsesorden. Høyeste verdi for fecale streptokokker ble funnet å være 15 pr. 100 ml (Tab. 3-4-5). Resultatene for oppdrettsanleggene var langt lavere enn fra den forurensete fjorden (E) hvor gruppene av de undersøkte indikatorbakterier ble påvist i den overveiende del av prøvematerialet.

Samlet viser undersøkelsen at indikatorbakterier som coliforme bakterier, fecal coliforme bakterier, *Escherichia coli* og fecale streptokokker er vanlig forekommende i forbindelse med oppdrettsanlegg for fisk i sjøvann. Imidlertid var antallet av disse grupper bakterier pr. ml lavt. Det er sannsynlig at tilførselen av disse bakteriegrupper til vannet skjer gjennom fôret som benyttes, da betydelig mengder indikatorbakterier pr. gram ble påvist i en del av fôrprøvene.

### III. Resultatene av undersøkelsen fra fisken i oppdrettsanleggene

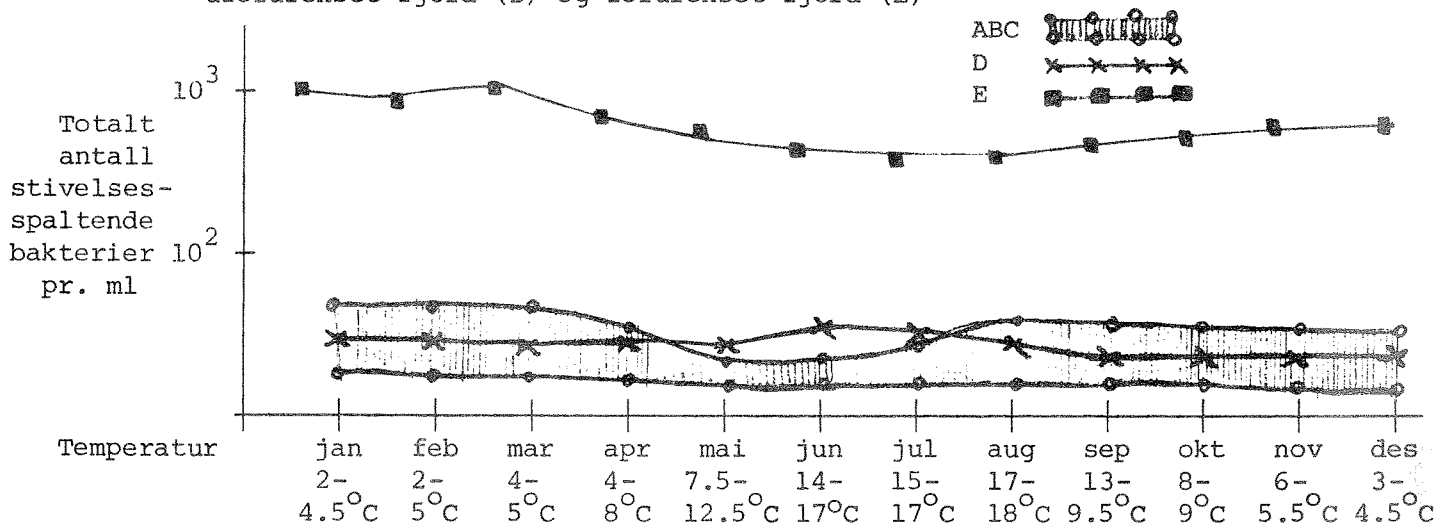
Bakteriologisk undersøkelse fra overflate, gjeller og tarminnhold hos oppdrettsfisk viste at i 8 av 30 fisk ble Escherichia coli påvist på overflaten og gjeller, og i 11 av 30 fisk i samme materiale ble tilsvarende grupper påvist i tarminnholdet. Ved tilsvarende kanadiske undersøkelser av gytevandrende laks i saltvann og ferskvann ble det også påvist coliforme bakterier, men med lav forekomst av fecal coliforme. Escherichia coli ble ikke påvist (Strasdine and Dubetz 1974).

Coliforme bakterier, fecal coliforme bakterier og fecale streptokokker er ikke uvanlig å påvise i matvarer fra fisk og kjøtt. Hos fisket fanget i uforurenset farvann forekommer imidlertid ikke disse bakteriegrupper, så påvisning av disse grupper i ferdige matvarer skyldes vanligvis de hygieniske forhold under opparbeidelsen. Dette har medført utarbeidelse av forslag til bakteriologisk standard for fiskevarer som spesielt i internasjonal handel vil komme til anvendelse. (The International Commission on Microbiological Specification for Foods 1974). Oppdrettsfisk kan således allerede på råvarestadiet ha fått tilført indikatorbakterier, mens fisk fanget i åpent hav først vil kunne tilføres disse bakteriegrupper under bearbeiding. Dette tilsier strenge hygieniske forholdsregler under opparbeiding og foredling av oppdrettsfisk.

Proteolytiske bakterier ble påvist i alle sjøvannsprøvene som ble undersøkt. Ved overflate utstryk ble det imidlertid lett sammenklumping av kolonier, noe som medførte vanskeligheter med sikker registrering av antall proteolytiske bakterier pr. ml.

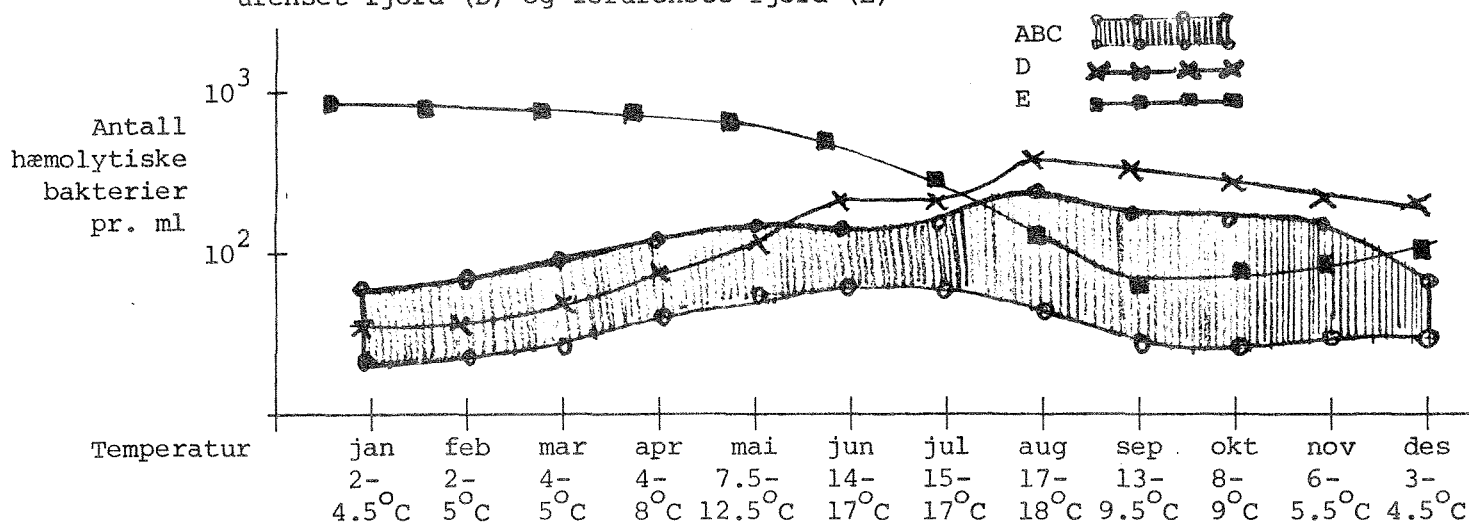
Forekomsten av stivelsesspaltende bakterier ble etter den beskrevne metode registrert i lave antall ved prøvetakingsstedene A, B, C og D. Ved prøvetakingssted E (forurenset fjord) ble det påvist høye verdier i tidsrommet fra desember til mars.

Fig. 2. Stivelsesspaltende bakterier pr. ml sjøvann i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)



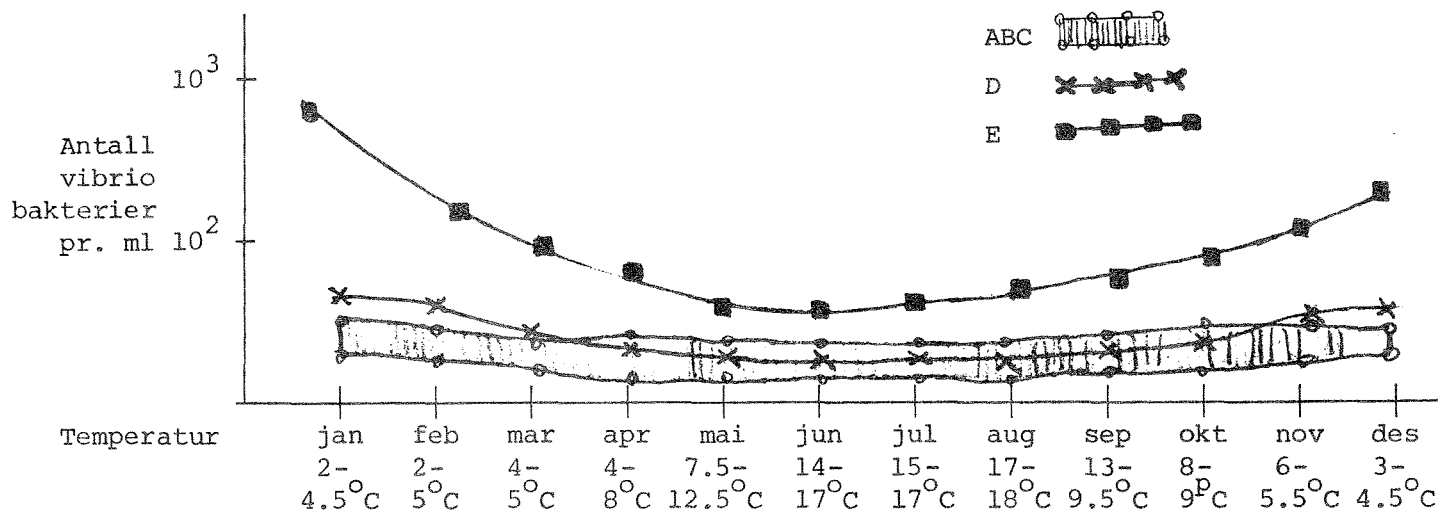
Forekomsten av hæmolytiske bakterier var varierende i alle oppdrettsanleggene med resultat fra 20 pr. ml til 400 pr. ml. Tilsvarende resultat ble påvist fra det uforurensede området. Fra den forurensede fjorden (E) var resultatene fra desember til mai høyere, mens resultatene for resten av året falt innenfor resultatene fra oppdrettsanleggene (Fig. 3).

Fig. 3. H molytiske bakterier pr. ml påvist i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)



Antall vibriobakterier pr. ml sjøvann er vist i fig. 4.

Fig. 4. Antall vibrio bakterier pr. ml vann i oppdrettsanleggene (A, B, C), uforurenset fjord (D) og forurenset fjord (E)



Fra den forurensede fjorden (E) ble det registrert vekst ved direkte utstryk av 0.1 ml på petriskåler med TCBS agar Merck nr. 10263. Resultatene fra E ligger jevnt over høyere enn fra oppdrettsanleggene (A, B, C) og det uforurensede prøvetakingsstedet (D).

Fysiske parameter: Saliniteten i oppdrettsanleggene varierte fra 1.5 % til 2.8 %. Laveste temperatur ble registrert i januar på 2 C og høyeste i juli på

18°C. Tilsvarende fysiske variasjoner ble også påvist i de øvrige prøvetakingssted.

Med unntak av frekvent påvisning av indikatorbakterier i oppdrettsanleggene viser resultatene for den bakteriologiske undersøkelsen liten forskjell mellom oppdrettsanleggene (A, B, C) innbyrdes og videre sammenlignet med sjøvann uten utslipp fra kjente organiske forurensingskilder (D). I resultatene som bygger på månedlige undersøkelser, ble det ikke registrert noen tydelig årsvariasjon. Enkelte resultat som skiller seg ut, kan sannsynlig tilskrives fysiske forandringer som kraftig vind eller strøm med oppvirvling av bunnsediment. Fra en bakteriologisk vurdering er det ingen data som tyder på økt organisk belastning i sjøvannet i oppdrettsanlegg og dermed øket bakterievekst.

Det er sannsynlig at avfallet som oppstår ved försøl og fiskeavføring ikke brytes ned i fiskens omgivelse, men føres ut fra oppdrettsmærene.

### Litteraturhenvisninger

AOAC. Association of Official Analytical Chemists 1970.

Cann, D.C., Taylor, L.Y. and Hobbs, G. 1975: The incidence of Clostridium botulinum in farmed trout raised in Great Britain. J. Appl. Bact. 39: 331-336.

Claudon, D.G., Thompson, D.I., Christenson, E.H., Lawton, G.W. and Dick, E.C. 1971: Prolonged Salmonella contamination of a recreation lake by runoff waters. Appl. Microbiol. 21: 875-877.

Ewing, W.H., Tatum, N.W. and Davis, B.R. 1957: The occurrence of Escherichia coli serotypes associated with diarrhoeal disease in the United States. Public Health Lab. 15: 118.

Geldreich, E.E. and Clarke, N.A. 1966: Bacterial pollution indicators in the intestinal tract of fresh water fish. Appl. Microbiol. 14: 429-437.

Gilmour, A., Allan, M.C. and McCallum, M.F. 1975: Enumeration of heterotrophic bacteria in water from tanks involved in a fish feeding trial. J. Appl. Bact. 38: 201-203.

Hansen, I.C. og Bonde, G.I. 1973: Aeromonas hydrophila (S.liquefaciens) som mulig årsag til furunkulose hos ål. Nordisk vet-med. 25: 121-130.

Huss, H.H., Pedersen, A. and Cann, D.C. 1974: The incidence of Clostridium botulinum in Danish trout farms. I. Distribution in fish and their environment. J. Fd. Technol. 9: 455.

Janssen, W.A. and Meyers, D.C. 1968: Fish: serologic evidence of infection with human pathogens. Science 159: 547-548.

Kaneko, T. and Colwell, R.R. 1973: Ecology of Vibrio parahaemolyticus in Chesapeake Bay. J. Bacteriol. 113: 24-32.

Levin, R.E. 1968: Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria of fish. Appl. Microbiol. 16: 1734-1737.

Loftsgård, G. og Yndestad, M. 1970: Mikrobiologiske undersøkelser av ferdigfôr for mink. Nordisk vet-med. 22: 595-598.

Nordisk Metodikk-komit  (NMK) for levnedsmidler NMK nr. 68, 1968.

Oxoid Manual, Oxoid Ltd. London 1965.

Rheinheimer, G. 1974: Aquatic Microbiology. English edition by John Wiley and Sons Ltd. London, New York, Sydney, Toronto.

Simudo, U. and Kaneko, E. 1973: A numerical taxonomy of Vibrio and Aeromonas from normal and diseased marine fish. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 39: 689-703.

Thatcher, F.S. and Clark, D.S. 1968: Microorganisms in Foods: Their significance and methods of enumeration. University of Toronto Press.

The International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF) 1974: Microorganisms in Foods, volume II. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific application. University of Toronto Press.

Tjaberg, T.B. og Håstein, T. 1975: Utbredelse av Clostridium botulinum i norske fiskeoppdrettsanlegg. Norsk Veterinær Tidsskrift nr. 11: 718-720.

Troast, J.L. 1975: Antibodies against enteric bacteria in brown bullhead catfish (Ictalurus nebulosus, Le Sueur) inhabiting contaminated waters. Appl. Microbiol. 30: 189-192.

Trust, T.I. 1971: Bacterial counts of commercial fish diets. J. Fish. Res. Bd. Canada 28: 1185-1189.

Shewan, I.M. 1961: The microbiology of sea water fish. Fish as Food volume 1. Academic Press, New York and London: 487.

Strasdine, G.A. and Dubetz, L. 1974: Coliform flora of migrating sockeye salmon. J. Fish. Res. Board Canada 31: 1559-1560.

Zobell, C.E. 1941: The occurrence of coliforme bacteria in oceanic water. J. Bacteriol. 42: 284.

Zobell, C.E. 1946: Marine Microbiology. Chrom. Bot. Waltham. Mass.