

# MIKROBIOLOGI

av

vitenskapelig konsulent  
SVERRE HJORTH-HANSEN

FISKERIDIREKTORATET 1975

## I N N H O L D

	Side:
Forord .....	1
Dimensjoner anvendt i mikrobiologien .....	2
Bakteriers form .....	2
Kjemiske stoffers innflytelse på vekstformen av bakterier .....	4
Gjærsoppers form .....	5
Muggsoppers form .....	6
Mikrobenes oppbygning .....	7
Om farging av bakterier og gjær .....	10
Syrefasthet .....	11
Farging av sporer .....	11
Mikrobers forhold til visse faktorer .....	11
Sterilisering og desinfeksjon .....	12
Pasteurisering .....	14
Konservering .....	14
Enzymer .....	18
Mikrober i vann og jord .....	19
Mikrober i luft .....	21
Lysende bakterier .....	23
Antibiotika .....	23
Bedervede næringsmidler som årsak til sykdommer	25
Sykdommer på fisk og skalldyr .....	26
Vibrio anguillarum .....	27
Bacterium pestis astaci <sup>og</sup> Aphanomyces astaci ....	27
Aeromonas salmonicida .....	27
Saprolegnia-arter .....	27
Mycobacterium tuberculosis .....	27
Mikrobeenzymeres spaltning av produkter fra planter .....	28
Chitinspaltende bakterier .....	28
Vann, is og bakterier .....	28
Råfiskens mikrobiologi .....	30

	Side:
Kokte reker og bakterier .....	32
Mikrober og salt .....	33
Törrfisk .....	37
Lutefisk .....	38
Rakefisk .....	38
Rökt fisk .....	38
<del>Havbakteriers ökonomiske betydning.</del>	
Ödeleggelse av fiskegarn, tauverk, gummi og kork .....	38

## F o r o r d

Mikrobiologi er læren om vira, bakterier, gjærsopp og muggsopp og deres livsytringer.

De er alle så små og usynlige at de uten mikroskopets hjelp fremdeles ville utgjøre en ukjent verden, men ikke dessto mindre en verden med en enestående appell til oss mennesker på så mange områder. Mikrobiologien er blant de nyere vitenskaper vi har fått. Den har i sin helt moderne form neppe mer enn 40 - 50 år på nakken og har hatt en rivende utvikling i de siste 20 år. Det er blitt uttalt at den knapt har trådt sine barnesko ennå, og for nylig er det fra amerikansk hold slått til lyd for et mikrobiologisk "10år" hele verden over i tiden fremover. Det viser at mikrobiologien er en vitenskap i imponerende vekst. At det vil gi dem som vil ofre litt av sin tid for å få en viss om enn beskjeden innsikt i den, et stort utbytte, er forfatteren overbevist om. De følgende sider er en liten smakebit.

Bergen, 20. desember 1964.

Sverre Hjorth-Hansen.

### Dimensjoner anvendt i mikrobiologien.

Da bakterier er så små at en bare kan se dem i mikroskop, er det lite bekvemt å bruke millimeter som målestokk for dem. En tusendedel av denne lengde høver langt bedre og er derfor valgt, denne måleenhet heter 1 mikron. En kan si at en bakterie som måler 1 mikron er liten, mens en som måler 10 mikron er en ganske stor bakterie. Hvad bredden angår, er noen smale, andre brede, men alle overganger forekommer. Selv en og samme art viser under mikroskopets visse variasjoner såvel i bredde som i lengde.

I mikrobiologien omtales også de såkalte virus-arter, men de er så små at selv måleenheten mikron lite egner seg for dem. For virus-arter har en innført enheten millimikron som er tusendedelen av mikron, m.a.o. milliontedelen av mm.

$$1 \text{ millimeter} = 1000 \text{ } \mu\text{m} = 1\,000\,000 \text{ m}\mu$$

Ved gjærsopper bruker en samme enhet som for bakterier, om enn gjær-soppceller gjerne er adskillig større enn de fleste bakterieceller.

Ved muggsopper anvendes også samme enhet sålenge en studerer visse detaljer hos dem, men vil en bedømme en muggsopp eller muggsoppkoloni, så er disse ofte så store at millimetermålestokk er berettiget. Dette gjelder da også for kolonier såvel av bakterier som gjærsopper.

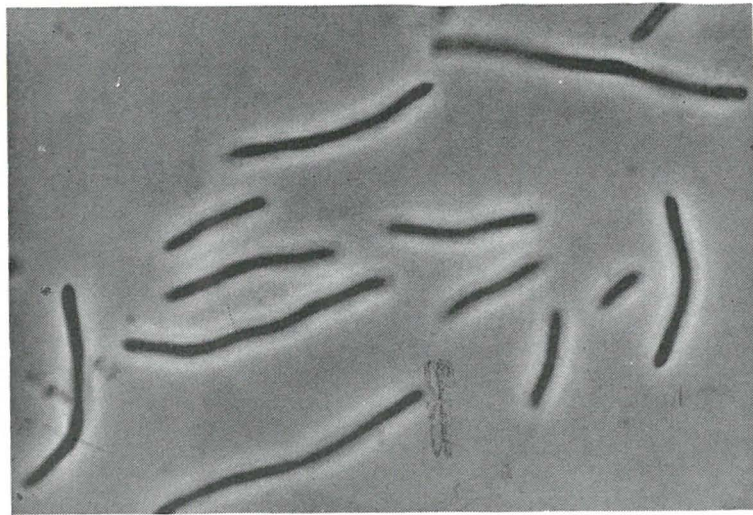
En størrelsessammenlikning kan være nyttig. Menneskets røde blodlegemer måler omkring 7 mikron i diameter, mens de forskjellige eggehvitemolekyler har en størrelse på 4 - 22 millimikron. Bakterier flest er mindre enn blodlegemene og kan grupperes innen området 0,4 - 12 mikron, mens gjærceller vanligvis er større enn dem og kan nå opp i vel 15 mikron. Virus-arter varierer meget, er mindre enn de minste bakterier og adskillig større enn de nevnte eggehvitemolekyler.

Disse tallene bygger på hva en kan se i vanlig mikroskop eller eventuelt utlede av mikrofotografier. Riktigere ville det være å sammenligne volumene av disse organismene, men det byr på visse vanskeligheter som bare tilnærmet hittil har funnet sin løsning.

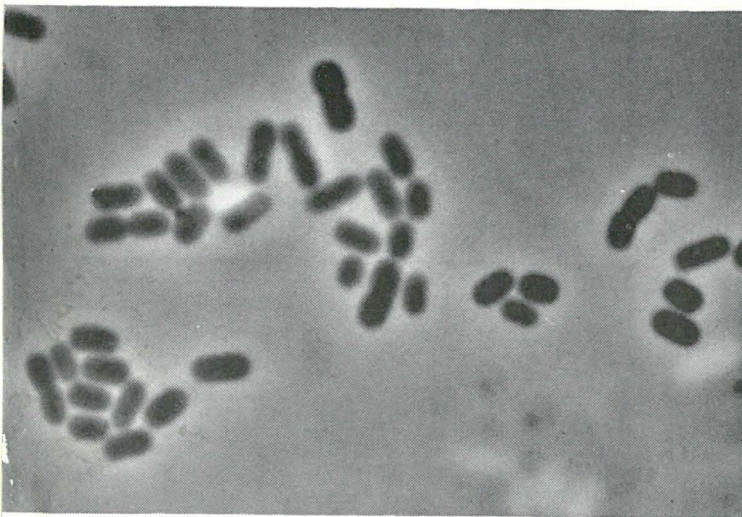
### Bakteriers form.

I friske kulturer likner bakteriene mer eller mindre tilnærmet på skruer, staver og kuler.

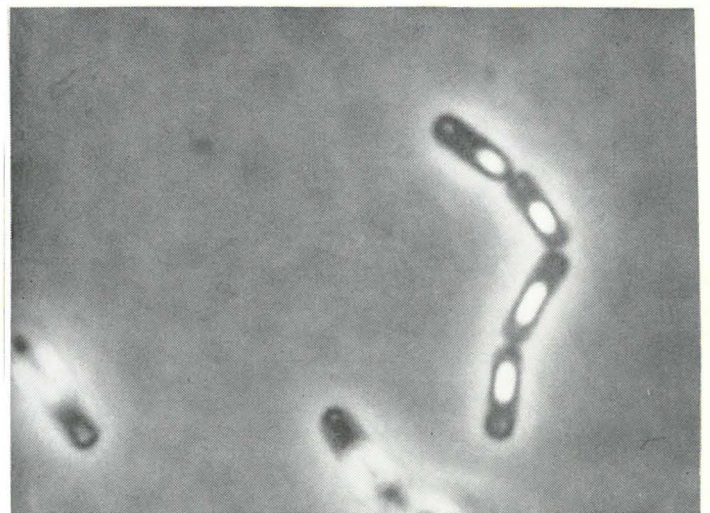
Stavbakteriene kan oppfattes som sylindere som enten er svakt krumme eller helt rette. Forholdet mellom lengde og bredde sett i mikroskopet kan i visse tilfelle være så nær 1 at en fristes til å anta at en har med kulebakterier å gjøre. Stavene kan forekomme enkeltvis, parvis og i kjeder med få eller mange ledd, som i eldre kulturer gjerne faller fra hverandre men de kan også forbli i



*Lang, stavformig bakterie fra råtnende gulrot.*



*Bred, stavformig bakterie fra laboratorieluft.*



*Basill m/sporer fra fisk.*



*Spirill fra kugjødse.*

Kjemiske stoffers innflytelse på vekstformen av bakterier.

Mange kjemiske stoffer (et av dem er koffein) er istand til å bevirke påfallende forandringer av bakteriers normale vekstform allerede i friske kulturer. Stavbakterier kan således vokse ut til en abnorm lengde og anta forvridd former. Men den normale vekstform av visse andre bakterier, som tross/kalles strå-  
sin bakterienatur

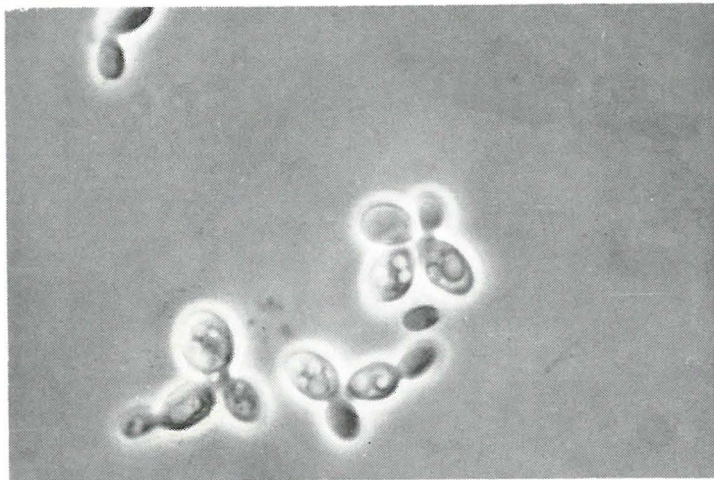
lesopper, da de har en forgrenet fason, kan være vanskelig å skille fra de nevnte irregulære former.

Hvis en bakteriekultur tilsettes et antibiotikum, f.e. penicillin, hender det at der dannes store kuleformete legemer i den ene ende av bakterien. Disse fremmedlegemer forsvinner imidlertid når bakteriene tilføres frisk næring.

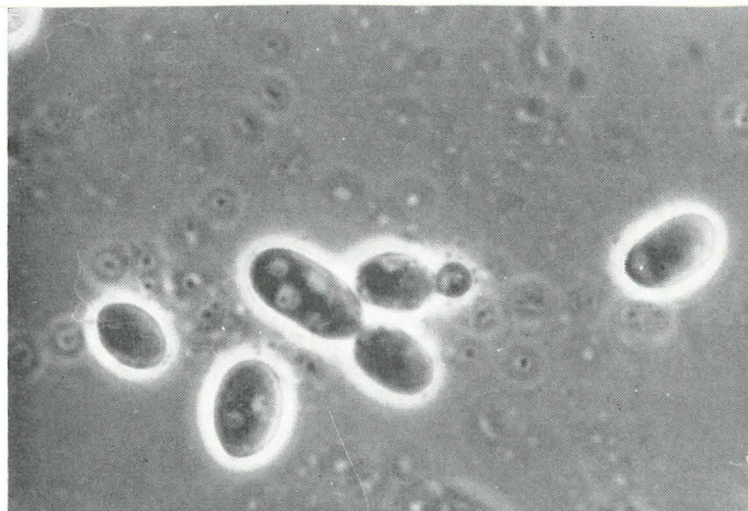
Når bakterier og for den saks skyld også andre mikrober gror, dannes der mange forskjellige stoffskifteprodukter, altså kjemiske stoffer av hvilke en del er direkte skadelige for mikroben. I gamle kulturer finner en derfor at bakteriene kan ha forandret form og på ingen måte likner på dem i den opprinnelige kultur. Disse degenererte former er som regel døde. De som ennå har livet i behold vil gjenvinne sin typiske normale form i nærvær av frisk næring.

#### Gjærsoppers form.

De vanligste typer som en kan se i mikroskopet har fasong av pølser, kuler og ellipsoider. Noen likner på egg, citroner og pærer. En mer sjelden type er formet som et triangel. Gjærcellene opptrer enkeltvis, parvis og under formering (knopp-skyting) i store og små forgrenete klaser. Cellene i disse klaser kan falle fra hvorandre eller holde sammen alt etter livsbetingelsene og gjærartens natur.



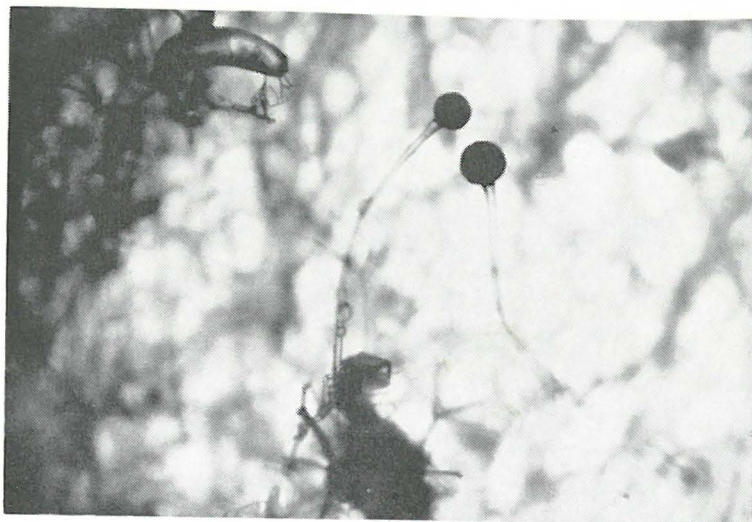
*Gjærceller.*



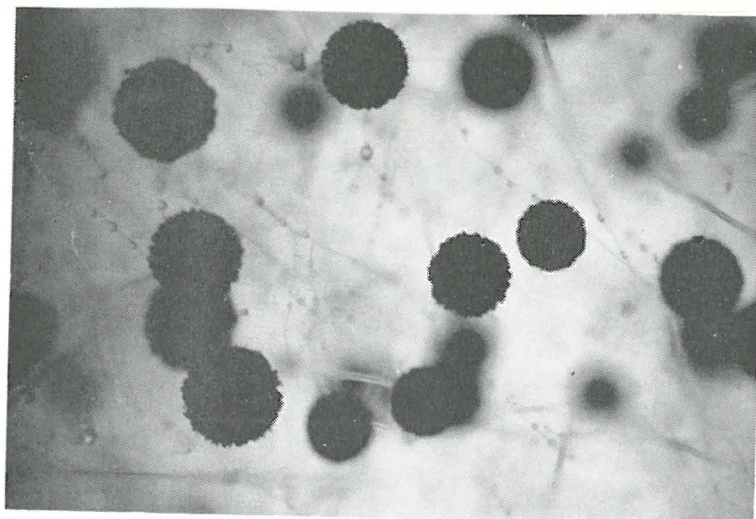
*Gjærceller fra fisk.*

Muggsoppers form.

Muggsoppene avviker sterkt fra bakterier og gjær i sitt utseende. En tør vel nærmest sammenlikne dem med små planter og kan beskrive dem generelt på følgende måte: En enkelt muggsopp består av et virvar av fine tråder, hyfer, som tilsammen danner et myselium. Mange av hyfene er samlet ved soppens basis, en del trenger ned i substratet og en del strekker seg oppad. En muggsopp er hul gjennom sin hele lengde selv om mange typer synes oppdelt i kammer. Tverrveggene i disse kammer er nemlig perforert. Oppløste stoffer i cellevæsken kan derfor sirkulere gjennom soppens indre. Et muggsoppindivid er altså encellet som en bakterie eller en gjærsopp. De hyfer som strekker seg tilværs er hos de forskjellige arter av meget forskjellig høyde. Vanlig er de fra <sup>under</sup> 1 mm og oppover til 4 - 5 cm, men hos en enkelt art skal høyden kunne nå godt over 30 cm. Disse hyfene står i formeringens tjeneste da de i utvokst tilstand enten utvikler et sporehus (sporangium) i den øvre ende eller andre organer, (sterigner) som skal tjene samme øyemed.



*Muggsopp (Phycomyces sp.)*



*Muggsopp (Aspergillus sp.)*



Inne i sporehuset eller ubeskyttet på disse organer dannes en mangfoldighet av legemer som hver enkelt blir til et nytt muggsoppindivid dersom de får høve til å spire under gunstige omstendigheter. Disse legemer kalles sporer dersom de dannes beskyttet av sporehusets vegger. Dannes de på de nevnte organer, kalles de konidier (f.eks. hos brunmidd). Det finnes også noen muggsopper med lange frittliggende hyfer som i tur og orden brytes opp i korte legemer av hyfens bredde. Disse legemer kalles eggsporer (oosporer) og har for disse muggsopper samme betydning som de nevnte sporer og konidier i formeringens tjeneste.

### Mikrobenes oppbygning.

#### 1. Bakterier.

En bakterie og en baktericelle er identiske begreper. Cellens ytre vegg er solid sammenkittet av mucopetider og muco-polysakkarider hos de bakterier som benevnes grampositive bakterier, og av eggehvitestoffer, polysakkarider og fett hos dem som en kaller gramnegative bakterier. De førstnevnte lar seg farve etter Grams metode mens de gramnegative ikke har denne evne. Metoden er av stor betydning innen hele mikrobiologien og vil bli omtalt senere. Til celleveggen kleber et slimlag som er mer eller mindre voluminøst hos de forskjellige arter. Vanligvis sees det knapt i vanlig mikroskop, i andre tilfelle inntar det langt større volum enn cellen selv. Kloss inntil celleveggen innerside ligger cellemembranen som en elastisk pose og inneslutter cellevesken som er så seig at faste kjemiske stoffer og organer i den kan holde seg svevende. Membranen er svakere bygget enn celleveggen men er dog så sterk at den i det vesentlige kan vedlikeholde bakteriens funksjoner om celleveggen skulle gå tapt. Membranen består av eggehvitestoffer og fettliknende stoffer. Hos bakterier som er i stand til å bevege seg fritt, da de er utstyrt med svømmetråder, finner en ved hjelp av elektromikroskopet små utbuktninger på innsiden av membranen og til dem er svømmetrådene festet. Gjennom perforeringer i membran, cellevegg og slimlag føres trådene ut i den omgivende væske hvor de da foretar sine flimmerbevegelser.

Cellevesken er en ganske konsentrert oppløsning av kullhydrater, fett, eggehvitestoffer og salter. Den inneholder dessuten mange organiske stoffer i mindre mengder. Videre inneholder den flere ikke oppløste stoffer i krystallinsk form. f.eks. natrium - eller kaliummetafosfat. Hos et fåtall bakterier ser en også svovelkrystaller.

I cellevesken svever en cellekjerne. Formering og arveegenskaper er bundet til denne. Det forekommer også noen ganske små legemer, mikrosomene, som er sete for viktige enzymer og som er uunnværlige for dannelsen av bakteriens egne eggehvitestoffer. Endelig kan en ved hjelp av vanlig mikroskop så vidt öyne legemer av forskjellig fasong som kalles mitokondrier. Om dem vet en at de leder

oksydasjonsprosessene i cellen og altså er nødvendige for mange av de kjemiske omsetninger som foregår i denne.

Blant de stavformete bakteriene utmerker mange seg ved å inneholde et stort legeme, i visse tilfelle større enn resten av cellen. Disse bakteriene benevnes baciller og det store legemet en spore. Sporen (det dannes bare en i hver celle) må ikke sammenliknes med sporer hos muggarter hvor de oppstår i mengder. Sporedannelsen kan finne sted kort tid etter at en bacille har utviklet seg, men som regel tar den ikke til før etter mange dages dyrking. Når sporen er "moden", går resten av bacillen til grunne. Den har karakteristisk form som en sylinder, ellipsoide, egg, kule o.s.v. Sporens vegg er bygget meget kraftigere enn bacillens vegg og dens cellevæske er om mulig enda mer konsentrert enn bacillens. Den synes rustet for enhver påkjenning og har da også, så vidt en har kunnet forstå, en temmelig ubegrenset holdbarhet. De aller fleste bacillearters sporer uskadeliggjøres først ved 15 - 20 min. oppvarming i autoklav til  $115^{\circ}$  -  $120^{\circ}$  C, eller ved behandling med visse stoffer som er giftige for dem. Sporen spirer og danner en bacille når gunstig næring og temperatur er tilstede. Sporer som ikke tåler oksygen, spirer først når denne gass er fjernet.

Visse bakterier er istand til å gå over i et hvilestadium. De trekker seg sammen til ellipsoider eller kuler som kalles mikrocyster. Disse kan oppfattes som en "mildere" form for sporer, dog oppnår de ikke sporens karakteristiske egenskaper. De er allikevel bedre beskyttet enn bakteriene overfor ytre påvirkninger.

## 2. Gjærsopper.

Gjærsoppene danner celler som hver enkelt av dem har alle gjærens egenskaper og som kan eksistere uavhengig av hverandre. I likhet med bakteriene er de omgitt av en cellevegg som består av polysakkarider og eggehvitestoffer. En gjærsekt, fra praktisk synspunkt den viktigste, har også fett som byggemateriale i celleveggen. Ved hjelp av elektronmikroskopet har en kunnet vise at celleveggen hos eldre celler består av to lag, mens unge celler har en relativt tynn og elastisk vegg. Cellemembranen inneslutter en kornet men ellers klar cellevæske uten farge. En kan se legemer av forskjellige fasonger og hulerum gjerne fylt med væsker. Disse rum kalles vakuoler. Væskene som de er fylt med blander seg ikke med den øvrige cellevæske. I vakuolene kan en ofte se et enkelt lite legeme som utfører en livlig "dans". Ellers i cellevæsken ser en eggehvitekrystaller/<sup>fettkrystaller</sup> og fettdråper, mens et polysakkarid som kalles glykogen, samler seg i en mindre del av vakuolene.

Gjærcellen har en cellekjerne som synes fritt å kunne bevege seg innen cellevæsken.

Mange gjærarter danner et sterkt begrenset antall sporer i en del av cellene. En kan se at cellevæsken trekker seg sammen mot visse knutepunkter og deretter omgir seg med en stadig tydeligere sporevegg. Gjærcellen kalles nå en sekk (askus) som inneholder sekkesporer. Som regel er det 4-8 sporer i hver, men det eksisterer arter med bare 1 spore og likeledes slike med adskillig flere, dog blir antallet aldri betydelig. Gjærens sporer som har form av kuler, ellipsoider, nåler, nyrer og citroner, er av forskjellig størrelse og kan være utstyrt med forskjellige "mønstre" i overflaten. Mens bacillenes og muggsoppenes sporer og konidier uten videre kommer til utvikling, må det egnete metoder til for å demonstrere om en gjærart er sporedanner. Det er mange gjær og gjærliknende arter som ikke er det. Gjærsoppspor er ikke så motstandsdyktige overfor ytre påvirkninger som bacillenes. Gjærsporen spirer og vokser ut til en celle under gunstige forhold.

### 3. Muggsopper.

Muggsoppenes hyfer har ytterst en cellevegg som består av polysakkarider. Et av disse polysakkarider er verd omtale. Det heter chitin og forekommer foruten hos en del muggsopper også i skallet på reker, hummer og krabbe hvor det sammen med kalciumkarbonat utgjør skallets viktigste bestanddeler. Som før nevnt er hyfene fylt med cellevæske som kan gjennomstrømme hele cellen også når denne er avdelt i kammer. Mens gjærcellen har en cellekjerne har muggsoppcellen flere, hvis hyfene har kammer, er det enten 2 eller noen ganske få kjerner i hvert.

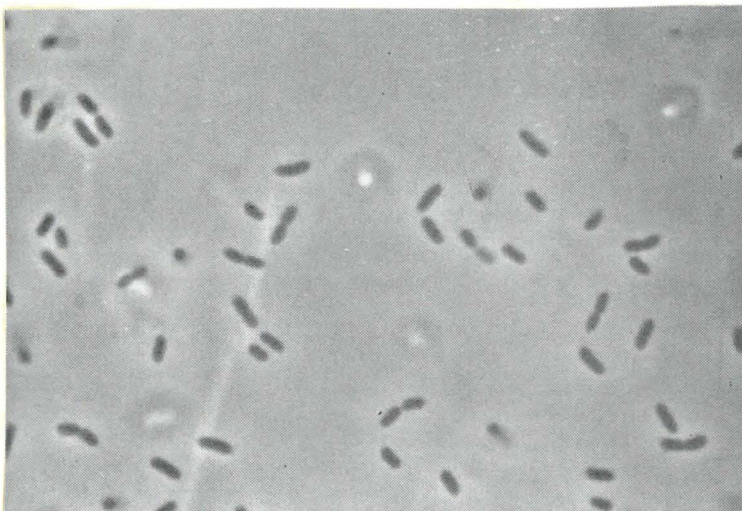
Når en muggsoppspore spirer på overflaten av et fast eller flytende substrat hvor den har ubegrenset adgang til luft (oksygen), dannes det typiske luftmycel som det kalles. Hvis man mikroskoperer et preparat laget ved å skrape **mycelet** på undersiden, vil en se typiske gjærceller istedetfor muggsopphyfer, det skyldes rimeligvis en sterkt begrenset tilgang på luft. Hvis en poder muggsoppspor er eller konidier i et flytende substrat som blir holdt i sterk bevegelse under sporenes spiring, enten ved hjelp av et rysteapparat eller ved stadig å lede steril luft i gjennom, dannes det et fargelöst mycelium med ganske korte hyfer og uten sporehus eller sterigmer. Dette mycel kalles et kulemycel og blir gjerne brukt ved fremstilling av enzymer og antibiotika. Det egner seg bedre til dette enn luftmycelet.

Muggsoppene danner mange flere sporer (resp. konidier) pr. individ enn både baciller og gjær, men som gjærsporene er de ikke så motstandsdyktige overfor ytre påvirkninger som bacillesporene. En oppvarming i vann til f.eks. 80° C tåler de som regel bra, men ved koking går de etterhånden til grunne. De lar seg også lett påvirke av mange kjemiske stoffer og av ultrafiolette stråler.

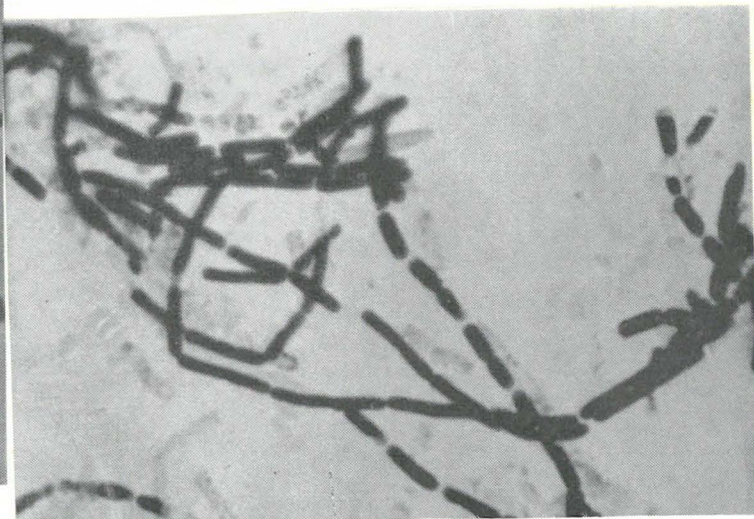
## Om farging av bakterier og gjær.

För fasekontrastmikroskopet kom i bruk var en henvist til å farge bakteriene for å gjøre dem synlige i mikroskopet. Et fåtall fargestoffer kunne brukes, og basisk fuksin var mest anvendt. Fargingen er imidlertid en ganske hård påkjenning både for bakterier og gjærceller som gjør at de skrumper til dels meget hvorfor en i mikroskopet ikke ser dem i deres riktige relative dimensjoner. Ved fasekontrastmikroskopering trenges ingen farging. Mikrobene røres ut i en liten vanndråpe eller i en saltvannsdraupe på et objektglass og dekkes med et dekkglass. Dette kittes til objektglasset med smeltet parafin og preparatet er ferdig. Mikrobene kan nå sees som de er i virkeligheten, men på grunn av anvendt optikk virker de meget mørke eller nesten svarte mot en grå bakgrunn. De trer meget tydelig frem og langt tydeligere enn i et vanlig lysmikroskop.

Et par fargemetoder brukes fremdeles. De tjener mer til en <sup>annen</sup>diagnostisering enn til demonstrering av bakteriene. En heter gramfarging, en <sup>nytt</sup> til påvisning av en bakteries syrefasthet, og en <sup>tredje</sup> kaldes Feulgens farging som brukes for påvisning av kjernens kromosomer, eller kanskje riktigere kromosome-nes byggestener. Gramfargingen skjer med et fargestoff som heter krystallfiolett oppløst i vann og tilsatt litt pottaske slik at fargingen foregår ved svakt alkalisk reaksjon. En farger ved værelsestemperatur i 5 minutter. Deretter helles en oppløsning av jod oppløst i vann tilsatt litt kaliumjodid/på <sup>direkte</sup> objektglasset så alle rester av krystallfiolett forsvinner. Jod bevirker en beising av bakteriene. Jodoppløsningen får også virke i 5 minutter. Objektglasset tørkes grundig mellom filterpapir, holdes med en spesiell pinsett i skråstilling og overhelles ren aceton. Alle bakterier, såvel grampositive som gramnegative er sterkt farget før acetonen helles over. Den fjerner fargestoffet fra de gramnegative cellene, mens de grampositive hårdnakket beholder fargen dersom ikke utvaskingen tar for lang tid. Mer enn ca. 10 sekunder bør den ikke ta, 30 sekunder kan føre til at selv grampositive bakterier mister fargen.



*Kort, stavformig bakterie fra fisk.*



*Gramfarging av streptobasiller for sporedannelse.*

Fargingen skal utføres med unge bakterier. Etter kort tid begynner grampositive celler gradvis å gå over til gramnegative.

De fleste kokker og baciller og gjærceller er grampositive.

De fleste staver er gramnegative. Vibrioner og spiriller er gramnegative.

### Syrefasthet.

En del bakteriearter lar seg ikke så lett farge ved værelsestemperatur. Ved å øke temperaturen til ca. 90 C tar også disse bakteriene fargestoff til seg, særlig om en vedlikeholder denne temperaturen i et par minutter og bruker mer konsentrerte fargestoffoppløsninger enn vanlig. Et egnet fargestoff er basisk fuksin tilsatt karbolsyre som dels beiser bakteriene og dels bidrar til å lette opptakelsen av fargestoffet. Objektglasset holdt i skråstilling, overhelles etter endt farging med en alkohol-oppløsning av saltsyre. Ikke-syrefaste bakterier mister nå fargen, mens de syrefaste beholder fargen om en vasker aldri så lenge.

### Farging av sporer.

Etter at fasekontrast vant innpass, ble det strengt tatt overflødig å demonstrere sporer ved hjelp av farging. Men da fargete sporer gir interessante bilder, beskrives en lettvindt metode her. En går frem etter Flemings metode som nettopp nevnt for syrefasthet, men istedetfor å behandle preparatet med syreoppløsning, stikkes objektglasset, etter vasking med vann, ned i en 1% ig vannoppløsning av fargestoffet nigrosin. Her står det i 10 minutter, vaskes, tørkes mellom filterpapir og er ferdig til mikroskopering. Mot en mørk bakgrunn sees lysende røde sporer inne i klare ufargete baciller.

### Mikrobers forhold til visse faktorer.

#### 1. Oksygen.

Alle mikrober trenger oksygen for å kunne formere seg og utfolde sin livsvirksomhet. Noen av dem må ha adgang til oksygen som fri gass, eventuelt blandet med andre gasser i form av luft, de øvrige i form av kjemisk bundet oksygen.

- En inndeler mikrobene i
- 1) aerobe, oksygen i form av luft
  - 2) mikro-aerofile, i form av luft, men ved en konsentrasjon litt lavere enn i luft.
  - 3) anaerobe, oksygen i form av et oksygenholdig stoff, f.eks. melkesukker. Luft holdes borte når disse bakterier dyrkes.

- 4) fakultative anaerobe, 1) oksygen i form av luft, 2) oksygen i form av egnet kjemisk stoff i fravær av luft.

## 2. pH.

En kjenner en bakterie som overlever så lav pH som ca. 2 og bakterier som overlever pH 10,5.

De fleste bakterier har som regel et meget begrenset pH - område for aktiv virksomhet. Dette området samler seg om en pH-verdi som en kaller bakteriens optimale pH, ved hvilken den enten gror hurtigst eller utvikler seg til flest mulige celler. Denne optimale pH ligger gjerne mellom 6,7 - 7,6 for de fleste.

Den tilsvarende pH for gjærsopper kan en anslå til å ligge mellom 4,5 - 5,5. Muggsoppenes optimale pH tør ligge mellom 3,5 - 5.

## 3. Temperatur.

En inndeler mikrobene etter deres varmebehov på følgende måte:

- 1) termofile, 80° - 50° C
- 2) mesofile, 45° - 25° C
- 3) psykrofile, 25° - 0° C
- 4) kryofile, 3° - +10° C

## Sterilisering og desinfeksjon.

Begrepet sterilisering innebærer en total utryddelse av alle nærværende mikrober i substrater og på alle gjenstander som skal brukes i det mikrobiologiske laboratorium. I substratene skal bare de mikrober være tilstede som en vil undersøke. Alle uvedkommende mikrober må holdes borte så vi unngår feile resultater.

Sterilisering av substrater kan foregå ved værelsestemperatur, men bare av et begrenset antall. Således kan oppløsninger av kjemiske stoffer koldfiltreres gjennom bakterietette filtre såfremt disse ikke gradvis tettes igjen. Glassvarer og visse andre bruksgjenstander kan steriliseres ved hjelp av et stoff, propylenoksyd, som går over i gassform med steriliserende egenskaper.

Sterilisering skjer i de aller fleste tilfelle ved hjelp av høy temperatur, enten uten eller sammen med vanndamp som enten er fuktig eller står under trykk. Glassvarer og annet som skal steriliseres, pakkes inn i vanlige papirposer og oppvarmes minst i 1½ time til 170 C. Sålenge gjenstandene senere befinner seg i posene holder de seg sterile, sannsynligvis i ganske lang tid.

Ved vanlig koking drepes vel de fleste mikrober, men det er ikke mulig å drepe bacillesporer på denne måten. En skal etter at det kokte substrat

har stått avkjølt et døgn, gjenta kokingen. De fleste sporer vil ha spiret i løpet av denne tiden, de drepes nå. Etter enda et døgn skal oppløsningen koke for tredje gang, hvorved eventuelle reestsporer drepes. Det er intet i veien for fremdeles å gjenta kokingen, men erfaringsmessig er dette overflødig. Metoden kalles fraksjonert sterilisering eller Tyndallisering som i mange tilfelle vil kunne overflødiggjøre autoklavering, men den er hverken så bekvem som denne eller kan helt ut erstatte den.

Autoklaven, trykk-kjelen, som er utstyrt med ventiler, kan når vanddampen strømmet temmelig tørr ut gjennom ventilen, lukkes ved hjelp av denne. Inne i beholderen, hvor de substrater og de gjenstander som skal steriliseres er anbrakt, stiger trykket ganske raskt. Sikkerhetsventilen er innstilt på det trykk som en ønsker å oppnå og som når det gjelder mikrober, sjelden overstiger 1 atmosfæres overtrykk. Det svarer igjen til en temperatur av ca.  $121^{\circ}$  C. På 20 minutter vil substrater og gjenstander være sterile. Det hender ved særlig motstandsdyktige mikrober at tiden utvides til 30 minutter eller nedsettes til 15 minutter særlig når kullhydrater er tilstede. De tåler nemlig ikke langvarig oppvarming uten å spaltes. Er stivelse tilstede, må temperaturen nedsettes til  $110^{\circ}$  C og tiden heller økes, da substrater ellers blir brunsvarte.

Den enkleste sterilisering som bare kan brukes på mindre gjenstander som øyeblikkelig skal anvendes, kalles flambering. Gjenstanden, f.eks. et objektglass eller en knivspiss føres raskt gjentagne ganger gjennom en het oksygenrik flamme. Gjenstanden kan også dyppes i alkohol som brennes bort.

Desinfeksjon går ut på å drepe flest mulige bakterier og da særlig sykdomsbakterier (patogene arter) men også andre mikrober som måtte ha slike egenskaper. Om nå ikke alle arter lar seg drepe ved en desinfeksjon, vil den medføre at de aller fleste i et hvert fall blir temmelig grundig skadet. Desinfeksjon foretas alltid av alle de rom som pasienter med smittsomme sykdommer har oppholdt seg i og burde foregå i de rom hvor matråvarer blir behandlet og foredlet for å hindre muligheten av matvareforgiftninger. Det hersker således streng hygiene f.eks. i hermetikkfabrikker.

I visse tilfelle kan en godt gjennomført desinfeksjon (vel å merke når oppgaven gjelder mindre enheter) føre til virkelig sterilisering.

Desinfisering foregår enten ved varme eller vel mest ved hjelp av kjemiske midler. Av slike kan nevnes det meget effektive formalin som i gassform brukes til desinfeksjon av sykeværelser. Det kan ikke brukes når matvarer er tilstede da det vil reagere med stoffer i dette. Det kan derimot svovelsyrling-gass og oson-gass omenn disse neppe kan måle seg med formalin i effektivitet. Mange desinfeksjonsmidler anvendes som vanlige oppløsninger eller oppløst i bensin eller alkohol. Jod, vannstoffhyperoksyd, borsyre og sublimat er

gamle kjente ting. Benzalkonium er av relativt ny dato. Antibiotika brukes tilsatt salver.

Desinfeksjonsmidlene kommer først til sin rett, når en forutgående spyling eller vask har funnet sted. Herunder yter varme oppløsninger av soda en utmerket tjeneste da det fjerner fett og slim som i høy grad nedsetter effektiviteten av desinfeksjonsmidlet.

### Pasteurisering.

Pasteurisering som foregår ved forhøyet temperatur, fører ikke til en tilnærmet sterilisering, men er dog istand til å drepe svært mange bakterier og da særlig sykdomsbakterier. Andre bakterier hemmes i sin vekst, og bakteriebelastningen nedsettes vesentlig. Et næringsmiddel får øket holdbarhet. Det er flere metoder som kommer til anvendelse ved temperaturer som  $63^{\circ}$ ,  $72^{\circ}$  og vel  $83^{\circ}$  C. Oppvarmingen tar fra noen få sekunder til ca.  $\frac{1}{2}$  time. Varer som gjennomgår pasteurisering, er først og fremst melk, men også eplemost, vin, öl og eddikk.

### Konservering.

Konserveringsstoffer er kjemiske stoffer som tilsettes matvarer eller som matråvarer behandles med for å øke deres holdbarhet. Det er dog sterkt begrenset hvilke stoffer som ifølge norsk lov er tillatt for denne bruk. Det er nemlig ikke nok at stoffene skal drepe mikrober, eventuelt hemme dem vidtgående og nedsette deres antall, men de skal på den annen side ikke være giftige for konsumentene. For tiden er det bare borsyre og visse estre av denne, sorbinsyre og svovelsyr/<sup>ling</sup> som er tillatt. Begrenset til visse matvarer kan borsyre, hexametylentetramin og natriumnitrit nyttes. I andre land gjelder andre bestemmelser, og foruten de nevnte stoffene kommer det også andre på tale. Det er karakteristisk for tiden akkurat nå at land som tidligere tillot svært mange konserveringsstoffer, mer og mer søker å innskrenke deres antall. Men nye stoffer opptrer jo etterhvert, og det er nødvendig å ta standpunkt til eventuell bruk av dem. Således har de antibiotiske stoffer, aureomycin og terramycin, kommet i forgrunnen i de senere år, og de er allerede blitt godkjendt i flere land for spyling og/eller tilsetning til is for forsendelse av fisk. (Se om antibiotika senere.)

En prosess som tilfører bakteriehemmende kjemiske stoffer til overflaten av matvarer er røykingsprosessen. Slike matvarer må behandles ytterst forsiktig, oppbevares tørt og relativt kaldt, da både mugg og bakterier i motsatt fall utvikler seg temmelig hurtig på dem. Brunmidden, kjent fra klipp-



fisk, gror under slike omstendigheter hurtig frem på skinker og fete pølser.

Den ideelle konserveringsmåten er frysing da mikrober ikke kan formere seg under  $+ 10^{\circ}$  C. Fra denne temperatur og oppover mot ca.  $+ 50$  gror mikrober av enhver art som benevnes kryofile arter og fra ca.  $0^{\circ}$  C til ca.  $+ 25^{\circ}$  C formerer de mikrober seg som en kaller psykofile. Innen disse to grupper forekommer da alle de mikrobearter som deltar i nedbrytningen av fisk og fiskeprodukter.

Dehydrering, d.v.s. fjerning av vann, er en moderne konserveringsmåte. Prosessen medfører liten nedsettelse av bakteriebelastningen, men bakteriene kan ikke formere seg i fravær av vann. Bare når det kommer vann til et dehydrert produkt, begynner de latent hvilende mikrober automatisk å leve.

I hermetikkindustrien har en å gjøre med mange råvarer som alle er mikrobeholdige og bidrar til bakteriebelastningen av den blanding som boksene blir fylt med. Boksene gjennomgår en oppvarmingsprosess i autoklav ved en temperatur og i en tid som er tilstrekkelig til at boksenes totale innhold når denne temperatur. Da skal også de uunngåelige sporer være drept. Under denne forutsetning er det bare et krav til som må oppfylles om hermetikken skal holde seg, nemlig at falsen slutter tett. Det minste hull i denne er fatalt for varen.

De såkalte halvkonserves kan etter sin natur ikke varmemsteriliseres, så gaffelbiter og ansjos må fremstilles under tilsetning av kjemisk konserveringsmiddel.

Kjøling med is er en utmerket måte å hindre bakterieutviklingen på. Det synes merkelig da jo kryofile og psykofile bakteriers vekstområde ligger rundt om ca.  $0^{\circ}$  C. Når denne istemperaturen er så gunstig, kommer det av at kryofile arter gror uhyre langsomt og at psykofile arter gror meget hurtigere ved ca.  $+ 20$  C enn ved  $+ 1-2$  C. Ved temperaturen  $0^{\circ} - - 1^{\circ}$  C gror de enda langsommere enn ved  $+ 1^{\circ} - 2^{\circ}$  C.

En har da også andre konserveringsmidler som salt, sukker og eddikk. Typisk for dem alle er at de har sin karakteristiske mikrobebelastning som må bli tatt i betraktning når disse stoffer skal anvendes.

Levende mikrober forekommer i naturen i aktiv eller passiv tilstand i mikrobefund som kan bestå av mange typer. Mikrobefundets sammensetning til enhver tid avhenger av mange faktorer, ikke minst av det miljø det dannes i og de temperaturer dette er utsatt for.

Med en råkultur eller blandingskultur i mikrobiologisk mening forstår en et mindre bruddstykke av et slikt miljø oppslemmet i sterilt kaldt vann eller en steril kald næringsbuljong hvis miljøet selv er fattig på næringsmidler for mikrobenes. Melk kan kalles en råkultur som den er, da den inneholder rikelig

av næring for god vekst av mange mikrobearter.

Råkulturen oppbevares så ved en eller annen temperatur, og de mikrober som vedkommende temperatur begunstiger kommer til utvikling. En råkultur kan til å begynne med inneholde så få bakterier at det ikke eller meget vanskelig lar seg gjøre å påvise en eneste celle ved hjelp av mikroskopet. Hvis en går frem som nevnt, er det etter et par dager lett å iaktta at mikrobene har formert seg. Allerede dette skulle berettige navnet an-rikningskultur for den tidligere råkultur. Anrikningskulturer omfatter imidlertid også kulturer som tar sikte på å komme frem til mikrober med spesielle egenskaper. Hvis tilsynelatende en eneste type kommer frem i en anrikningskultur, har en oppnådd en "renkultur", men en kaller den forsiktigvis ikke renkultur for en fra anrikningskulturen gjentatte ganger har kunnet isolere samme renkultur, og denne selv også har vist seg å være fri for andre mikrober og kunne bevare sine egenskaper uforandret. En renkultur må lagres kaldt og tørt og ofte føres over på nytt substrat, hvor ofte fremgår av følgende. Visse arter er meget sensible og det er nødvendig å "pleie" dem hver dag dersom deres spesielle egenskaper skal vedlikeholdes. Andre må pleies i et hvert fall en gang om uken, og den store masse en gang i kvartalet. De som danner sporer må i et hvert fall pleies for kulturen tørker inn.

1. En må alltid vente at råkulturen inneholder mange forskjellige arter. typiske råkulturer som tilsettes næringsstoffer er kloakkvann, vann fra østerspoller og fiskedammer, havvann og drikkevann, smeltende is samt oppløsninger i kaldt sterilt vann av salt og sukker. Melk og oppslemminger av jord, gjødsel, fiskemel, krydder, fiskeslim og tarminnhold fra fisk er selv næringsrike nok. Det må aldri brukes usterilt vann til oppslemmingene.
2. Som regel forandres en råkultur til en anrikningskultur etter 2-3 døgns henstand ved gunstig temperatur. Undertiden kan det ta lengere tid, særlig når en anlegger anrikningskulturer som ikke tar sikte på rikelig utvikling av så mange arter som substratets sammensetning og temperaturen tillater, men på å oppnå utvikling av en spesiell art alene eller sammen med nær beslektede arter som alle har en eller annen egenskap felles. Ved tilsetning av et eller annet kjemisk stoff drepes eller hindres nærværende arter med unntakelse av den eller de typer som en søker etter, og den eller disse kan så bli tilgjengelig fra anrikningskulturen. Bakteriedrepende stoffer kalles baktericide, mikrobehindrende stoffer bakteriostatiske. En kan også anrike mikrober ved å tilsette et kjemisk stoff som er mer gunstig for den søkte mikrobe enn for de andre arter som forekommer. Derved fremmes dens formering i vesentlig grad på bekostning av de andre. Når anrikningskulturen er "moden", lager en først og fremst et preparat for å iaktta de le-

vende mikrobene under mikroskopet. Ved bruk av fasekontrast ser bakterier svarte ut mot en lysere grå bakgrunn. Deretter lager en et farget preparat etter Gram-metoden. En merker seg mikrobens form og størrelse og visse detaljer i dens indre, om den er bevegelig og hvordan cellene er bundet sammen og hvor mange. Kanskje har den allerede anlagt sporer, og en får vite om den er grampositiv eller negativ. En får, nær sagt, i en håndvending mange opplysninger om mikrobene, opplysninger som råkulturer sjelden gir da de som regel inneholder altfor få mikrober.

3. For å komme fra anrikningskulturer til renkulturer må anrikningskulturen podes på faste substrater. Disse består av en eller annen buljong tilsatt agar som stivningsmiddel. Substratene smelter ved  $97-98^{\circ}$  C og stivner ved ca.  $40^{\circ}$  C. Ved hjelp av en steril platinatråd overfører en litt av anrikningskulturen til et kulturrør med smeltet substrat av  $45^{\circ}$  C, trekker den ut av dette og stikker den ned i neste rør med samme substrat. Slik fortsetter en til 6-7 rør er podet. Mens substratene ennå er flytende, helles innholdet i skåler bestemt for øyemedet. En blander best mulig for substratene stivner og det må handles raskt. En kan og bør lage flere serier av nevnte antall rør. Seriene plasseres under forskjellige temperaturforhold.

Etter noen få dager er det mikrobevekst i en del av skålene. En vil legge merke til følgende: Ved for lav eller for høy temperatur er det ingen eller bare ubetydelig vekst. Ved gunstig temperatur kan substratoverflaten som svarer til rørene 1 og 2 være fylt av bakteriemasse, mens rørene 3-7 gir stadig færre og færre kolonier. Det hender at koloniene i skåler med få kolonier har større diameter enn i skåler med mange. Ved en noe for høy temperatur, som allikevel ikke hindrer vekst, gror gjerne koloniene hurtigere, men blir mindre. Ved tilsvarende lav temperatur gror de som regel meget langsomt, men det utvikler seg en langt større bakteriemasse. På skålene kan en nå iaktta kolonier som tydeligvis er ens, selv om størrelsen er noe varierende (en ser bort fra kolonier av samme slag som vokser nede i substratet, de blir sjelden større enn et knappenålshode). En ser også flere kolonityper som avviker fra hinannen i form, størrelse, farge og konsistens.

En gjentar nå mikroskopering og gramfarging og samholder de nye data med dem en fant for anrikningskulturen, ikke minst for å se om en har funnet igjen alle typene i denne. Muligens har noen av dem ikke kunnet gro på agarsubstratet. Et annet substrat kan vise seg gunstigere for disse bakterier.

Før eventuell renkultur foreligger, må de kolonier som er forskjellige, gjennomgå samme behandling som anrikningskulturen. En har en rekke bio-

kjemiske tester som kan avgjøre om en har isolert hittil ukjente mikrober eller om de er kjent før. Testene kan selvsagt også brukes til å kontrollere hvorvidt mikroben beholder sine egenskaper uforandret og til å avgjøre hvor ofte den i så fall må overflyttes på nytt substrat.

### Enzymer.

Fra kjemien er kjent at visse kjemiske stoffer som i overmåde små mengder tilsettes en reaksjonsblanding, kan utløse en reaksjon i denne som ellers ikke ville foregå eller i et hvert fall bare meget langsomt. Disse stoffene kaller en katalysatorer. Når reaksjonen er til ende kan reaksjonsproduktene og katalysatoren adskilles hvoretter den brukes på ny om den bare ikke er blitt "forgiftet".

Mikrobene er i stand til å danne "katalysatorer" i cellekjernen, i mitokondriene og andre smålegemer samt i celledriften. Mens de kjemiske katalysatorer gjerne er anorganiske stoffer, er mikrobenes enzymer, som de kalles, organiske stoffer og vel med få unntakelser eggehvitestoffer med egenskaper langt utenom det vanlige for slike stoffer. Uten disse enzymerne ville enhver kjemisk reaksjon i og utenfor cellen ikke være mulig. De deltar både når stoffer av enkel natur bygges sammen til mer kompliserte og når disse spaltes til enklere eller helt ned til de mest elementære. Takket være slike enzymer kan mikrobecellen bygge opp fett av glyserin og fettsyrer, dekstran og levan kan dannes av sukker, eggehvitestoffer av aminosyrer, ammoniakk kan dannes ved nedbrytning av eggehvitestoffer, trimetylamin av trimetylaminoksyd og ammoniakk og kulldioksyd av urinstoff.

Noen enzymer forblir hvor de er dannet. De kalles endoenzymer. Andre utskilles av mikrobecellen til den væsken som omgir dem. De kalles exoenzymer.

Enzymene er avhengig av forskjellige faktorer, hvorav temperaturen er meget viktig. En har ingen praktisk brukbar metode til å stoppe deres virkninger helt, men en kan ty til en lav temperatur for å hindre virkningen av dem mest mulig. Fisk blir frosset eller nedkjølt. Derved hindrer en også bakteriene i å formere seg. Indirekte oppnår en jo også derved dannelse av en beskjedne enzymmengde.

Det er verd å legge merke til at et bestemt enzym bare kan delta i spaltningen (eller oppbygningen) av et bestemt stoff. Overfor andre stoffer er det helt og holdent uvirksomt. Derfor sier en at enzymet har spesifikk natur.

Mikrober i vann og jord.

Mikrobene i vann og jord lever under vidt forskjellige betingelser. En mikrobe kan være i live i lange perioder uten at den formerer seg. En mikrobe som danner spore, er så å si ubegrenset spiredyktig dersom sporen ikke utsettes for en eller annen radikal påvirkning. Jordmikrober utsettes for store variasjoner i temperatur gjennom sommer og vinter, mens havmikrober har sitt opphold under stabilere betingelser. Jordbakteriene er til forskjell fra havbakteriene ikke utsatt for en høy saltkonsentrasjon, og de har i regelen adgang til luftens oksygen i den utstrekning som er gunstig for deres livsvirksomhet. Havbakteriene derimot finner et miljø med sterkt nedsatt oksygeninnhold samtidig som svært mange av dem lever under trykkforhold som jordbakteriene aldri er utsatt for. Jordmikrober forekommer i sure såvelsom nøytrale basiske jordtyper. Havmikrobene er ubetydelig utsatt for variasjoner i surhetsgrad, da havvannets pH er ca. 8,1 - 8,3 under forutsetning av at pH er i likevekt med luftens karbondioksydkonsentrasjon. I brakkvann kan pH stige til over 8,5 eller synke til under 7, likeledes i sedimentene i fjæren. Det er altså relativt små variasjoner det gjelder. Til sammenligning kan nevnes at en i et hvert fall finner mikrober i jord med pH mellom 3 - 9.

Det er innlysende at den mikrobefloraen som forekommer i havet, må være ganske forskjellig fra den en finner i jord, i ferskvann og i luft. En blandingsflora finner en som rimelig kan være i brakkvann og sedimenter fra elver og bekker, i österspoller og strandsjøer. En sammenligning mellom jord- og havbakterier, hva mikrobeartene angår, vil være på sin plass

<u>Typer</u>	<u>Jord</u>	<u>Havvann</u>	<u>Ferskvann</u>	<u>Mikrobenes Gramreaksjon</u>
Stavbakterier	35 %	76 %	95 %	-
Skruebakterier	--	19 %	--	-
Sporedannende stavbakterier	57 %	1 %	4 %	+
Kuleformede bakterier	4 %	3 %	1 %	+
Gjærsopper, andre bakterier, strålesopper, etc.	4 %	1 %	--	Noen er pos., andre neg.

Der forekommer selvsagt også muggsopper i havet, men i form av sporer som i mangel på oksygen ikke kommer til mer enn tilnærmet normal utvikling på ilanddrevet tang og tare.

Størstedelen av bakteriene i havet er utstyrt med svømmetråder og derfor raskt bevegelige. Denne egenskap er mer sjelden utbredt blant jordbakteriene.

Mens sporedannere florerer i jordsmonnet, er det relativt få av dem i havet. Til gjengjeld kjenner en hittil svært mange forskjellige arter av dem ~~særlig~~ i bunnsedimenter hvor bl.a. Clostridium botulinum, den farlige matvareforgiftningsbacillen forekommer, vesentlig i fjæra.

Skruebakterier, vibrioner og spiriller, regnes som typiske havmikrober. Av de stavbakterier som er av ~~særlig~~ betydning ved bedervelse av fisk og krepsdyr, er typer som tilhører familiene Pseudomonas, Flavobacterium og Achromobacter mest utbredt. Disse forekommer ikke bare i havvannet men også i slimlaget på fiskens gjeller og dens hud allerede før fisken blir vårt bytte. Bakteriene som fisken innfanger fra havvannet, beskadiger den ikke så lenge den er i live.

Hittil har en funnet ganske mange gjærsopper i havvann, en av dem, Debaryomyces synes å dominere.

En kan inndelegere mikrobene i havvannet i slike som permanent forekommer, de er nevnt ovenfor, og i slike som sporadisk kan påvises, tilfeldige bakterier. Disse har sitt ofte kortvarige tilhold i sterkt beferdede strøk og ~~særlig~~ ved kyster hvor jordbakterier har høve til å forene seg med de permanente havbakterier. Det omvendte kan også finne sted. Havvannmikrober kan meget vel finne tilhold under fastlandsforhold. Som eksempel kan nevnes de røde bakterier fra sjøvann som anrikes i salinene og siden under gunstige betingelser utvikler seg på saltet fisk og klippfisk ("rödmidd").

En kan dele inn mikrobefloraen i havet i 1) bunnfloraen, 2) den pelagiske flora og 3) overflatefloraen.

Bunnfloraen er bundet til sedimentene og vil derfor variere etter deres geologiske natur. En må derfor være forberedt på å finne en rikholdigere flora i mudderbunn enn i sandbunn. Dybden og vanntrykket over bunnen spiller også en viss rolle, ikke bare for mengden men også for de forskjellige arters eksistens. Det er vist at et vanntrykk på 600 atmosfærer drepte de fleste av de undersøkte bakterier og at det til og med var dem som gikk til grunne ved tredjedelen av dette trykk. Sporer derimot var meget mer motstandsdyktige. Bunnmaterialet og det nærmest ovenstående vannlag på store dyp vil derfor inneholde utvalgte arter som kan tilpasse seg de der herskende forhold. En har kalt dem barofile mikrober. På mindre dyp vil derfor floraen være langt mer rikholdig.

Den pelagiske flora følger strømmene og kommer derfor i forbindelse såvel med bunnfloraen som overflatefloraen og må derfor stadig skifte karakter. De pelagiske mikrobene er dels fri, dels bundet til planterester og døde/<sup>og</sup>levende dyr som f.eks. plankton. Når dødt materiale når bunnen, tilbringes denne

nye forsyninger av organiske stoffer som tjener som næring for nærværende mikrober.

Overflatefloraen er meget ujevnt fordelt da den innflueres av så mange faktorer. Flo og fjære, forskjellen i lysstyrke ved dag og natt, solens ultrafiolette stråler, vinden, regnet og årstiden. Noen av faktorene virker mer, andre mindre, noen direkte, andre indirekte. Ikke minst den anvendte prøvetakningsmetodikk kan føre til svært varierende resultater. Som veiledning kan imidlertid sies at som regel finner en store mengder mikrober i elveutløp og i havneområder, særlig ved kaiene og ikke minst ved kloakkutløp. Lenger ute i havneområder synker antallet relativt raskt. I ren sjö kan det være vanskelig ved vanlige fremgangsmåter overhodet å påvise mikrober. En har imidlertid metoder som godtgjør at de på ingen måte glimrer ved sitt fravær.

Det er derfor få frittlevende mikrober i havet sammenlignet med dem som er **absorbent** til faste legemer. Om disse legemer er levende eller døde, dyr, planter eller gjenstander av en hver art, spiller ingen rolle.

Hvis mikrobene utelukkende forekom i fri tilstand i havet, ville deres tilgang på næringsstoffer av organisk natur bli höyst begrenset. Som saken ligger an står det rikelige mengder til rådighet for både formering og virksomhet. Virksomheten fører til nedbrytning av alle de kompliserte kjemiske stoffer som forekommer i de døde legemer, hvorfor disse stoffer kommer i frihet og blir disponible for oppbygning av nye generasjoner av planter og dyr.

Det står tilbake å redegjøre for hvordan havbakterier kan forene seg med jordbakterier under helt naturlige forhold. Under stormvær og orkaner dannes de fineste vannpartikler i bölgekammene og føres med vinden tildels kilometervis inn over land. Innesluttet i vandråpene er mikrober og vel også sporer som på denne måten tilføres jordsmonnet. I strandbeltet forekommer en spesiell flora hvis sammensetning av arter delvis avviker fra den innenforliggende jords.

#### Mikrober i luft.

Luftens kvalitet varierer fra tid til annen, fra sted til sted og er avhengig av höyden over havet. Skorsteinsrøyk, gassformige kjemiske produkter fra industrien og mikrober hvirvlet opp og ført med vinden bidrar til nedsettelse av kvaliteten. Det er bare regnskyll som kan bedre denne ved å sile fra faste partikler som røykbestanddelar og mikrober.

Vinden setter små jordpartikler i bevegelse og transporterer dem og

mikrober. Jordpartikler inneholder store mengder av dem, og jo mindre jordpartiklene er, dessto flere mikrober bærer de <sup>relativt</sup> med seg. Med vinden føres de både horisontalt og vertikalt vidt omkring. Når vinden stilner av, synker de da de er tyngre enn luft. Synkehastigheten for de enkelte typer er varierende, men meget liten. Da luften neppe kan sies å være i ro lenge, vil den som atmosfære betraktet aldri bli steril. Rent lokalt kan den dog bli steril, da et kraftig regnskyl eller snöfall bringer mikrobene ned til jordoverflaten hvor de da havner i jord eller sjö.

Ved analyser av luft finner en såvel bakterier som gjær- og muggsopp. Ingen av dem kan formere seg i luft, da luften ikke gir dem annet enn oksygen av alle de stoffer de trenger. Luften inneholder såvel levende som döde celler. Cellene er jo i höy grad utsatt for ultrafiolette stråler fra solen og indirekte fra skyene.

Over det åpne hav og höyt til fjells og inne i skoger er mikrobemengden sterkt redusert.

Mikrobetyper som dominerer innen et lokalt område, er avhengig av dettes egenart. Således er luften over frukthager og vinfelter rik på gjær-sopper, mens mikrober som forårsaker plantesykdommer konsentrerer seg over det smittede område.

I atmosfæren forekommer meget sjelden mikrober som medfører smittsomme sykdommer for dyr og mennesker.

Luften innendörs trenger ventilasjon da mikrobemengden her er meget större. De arter som forekommer i den fri atmosfære blander seg her med andre som skriver seg fra innendörs kilder. Her dominerer stövet som dannes av inntörkede matrester, tekstilfibre og hår. I tillegg til vanlige mikrober brer de patogene arter seg ved hosting og nysing så halsens og nesens mikrober kommer i frihet. De kleber til stövpartiklene hvorved de forblir svevende i luften og derfor innhaleres. Luften forurenses ytterligere under stövtörking og når en rer senger. Stöv i klippfisk- og törrfisktörkerier, te- og krydderlagre, stall og fjösbygninger, möllestöv, lo i tekstilfabrikker og sovesaler holder luften i disse lokaler velforsynt med mikrober av mange slag. Luften i meierier kan til og med inneholde bakteriofager som ödelegger de mikrobekulturer som skal anvendes ved fremstilling av ost.

Mikrober eller deres sporer, resp. konidier, patogene for mennesker og dyr, kan forekomme i oversjöiske importvarer.

Konidier av aspergillus og penicilliumarter synes særlig å anrikes i gartnerier og drivhus, mens konidier av Sporendonema, som forårsaker brunmidd, særlig finnes i fisketörkerier.



### Lysende bakterier.

I havvann forekommer mange organismer som kan utstråle et i og for seg svakt lys som kan bli tydelig nok under gitte betingelser. Planktonarter er som bekjent årsaken til morild, og en kjenner mange lysende fisk.

Også bakterier kan ha denne egenskap, men det er bare et fåtall av dem som egenskapen er knyttet til. Uten større vanskelighet kan en isolere dem på substrater i laboratoriet hvor de da danner kolonier som lyser i mørkt rom. En bør benytte så fersk fisk som mulig, det nytter ikke når fisken står foran begynnende ødeleggelse.

Det hender at en kan være så heldig å se et knippe fisk lyse i stummende mørke. Kokte fiskestykker har samme egenskap. Det foreligger utmerkete fotos av matretter, råfisk og bakteriekolonier tatt ved hjelp av bakterienes eget lys under anvendelse av lang eksponeringstid.

Disse bakteriene som er staver, kokker og skruer, gror i hvite, grå og gule kolonier. Lyset er blått, grønt eller gulgrønt. Det kan også komme tilsyne på ferskvannsfisk saltet med 3 % sjösalt.

Fisk som ennå er i stand til å lyse i mørkt rom, er fersk og sunn. Når lyset ikke mer kommer tilsyne, er det fordi andre bakterier <sup>har</sup> tatt ledelsen. Før disse har formert seg i en viss grad, <sup>likevel</sup> er/ikke fisken skjemt.

### Antibiotika.

Rent generelt kan et hvert stoff som influerer på vekst og formering av bakterier, gjær- og muggsopp defineres som et antibiotikum. Men i gjengs bruk betegner antibiotikum et stoff, av kjent eller ennå ukjent kjemisk sammensetning, som oppstår under dyrs eller planters eller mikrobers livsprosesser og som kan isoleres fra disse kilder i laboratorium og fabrikk.

Mange foreligger allerede som veldefinerte kjemiske stoffer. I første rekke ble de brukt ved bekjempelse av sykdommer på mennesker, senere på dyr. Så kom turen til bekjempelse av mikrober som ødelegger matvarer. En sykdom forårsakes av en enkelt veldefinert mikrobe. Når matvarer ødelegges, er et helt samfund av forskjellige og hovedsakelig ukjente mikrober tilstede, og billedet skifter fra matvare til matvare. Innen dette samfund er det mange arter som overhodet ikke har noensomhelst innflytelse. Som regel er det noen få som må bekjempes. Allikevel er det vanskelig for ikke å si temmelig umulig å finne frem til stoffer som virker på alle mikrober.

Antibiotika står her i en særstilling i det de i det minste kan

brukes ved bekjempelsen av hele grupper av mikrober med visse felles kjennetegn. Av de mange tusener som er fremstillet i løpet av 20 år, er det et meget begrenset antall som har fått aktuell interesse. Penicillin, streptomycin,<sup>neomycin</sup> bacitracin, nisin, aureomycin og terramycin er navn som stadig går igjen. De 4 første er av spesiell medisinsk betydning. De 3 siste har sin anvendelse i næringsmiddelindustrien, nisin i meieriindustrien og de 2 øvrige ikke minst i fiskeriindustrien for å bevare råfisk og fileten **frisk i et utvidet tidsintervall**.

En sier om aureomycin og terramycin at de som antibiotika har et meget bredt spektrum, d.v.s. at de i forhold til andre antibiotika er i stand til hindre vekst og formering av et usedvanlig stort antall mikrobearter. Blandt disse arter innbefattes svært mange bakterier som ødelegger fisk. Råfisken blir enten lagt direkte i antibiotikaholdig is (5 mg/kg) eller først dyppet i en vandig oppløsning av antibiotikum (10 mg/l). Fileter blir for frysing dyppet i tilsvarende oppløsning.

Fiskeskinnet og skjellene absorberer langt større mengder antibiotikum enn kjøttet og etter tilberedning av kokt fisk er det lett å påvise rester av stoffene i skinnet. Bare i få tilfelle har en kunnet påvise spor av dem i kjøttet.

Selv etter en behandling med antibiotika er det en bakteriflora tilbake som enten påvirkes ubetydelig eller slett ikke påvirkes. Denne floraen, selv om den omfatter få arter og lite av hver av dem, er det all grunn til å ta under streng kontroll. Når tiden kommer, er de opp i samme store mengder som bakteriene på ubehandlet fisk, og de innbefatter nok av slike arter som kan ødelegge fisken. I en filetfabrikk må en ved pinlig hygiene sørge for at det ikke dannes et samfunn av antibiotikaupåvirkelige arter på de steder der fisken passerer. Dyppekum og samleband må renses ofte og grundig. Hittil kjenner en bare en eneste mikrobe, den patogene <sup>gjær</sup> Candida som kan spalte aureomycin.

Når bakterier podet i buljong tilsynelatende spalter doser av antibiotika som er for små til å stagnere de samme bakteriene kommer det av at bakteriene under formeringen forårsaker alkalisk reaksjon i substratet og at de <sup>kjemisk</sup> medfører en meget rask/spaltning av stoffet. Til aureomycin-upåvirkelige bakterier regnes bl.a. Escherichia coli, Aerobacter aerogenes, Salmonella-arter og forråtnelsesbakterien Proteus. En har funnet noen bakterier som kan gro i aureomycinholdig substrat ved en konsentrasjon av 300 mg/l.

I disse dage er fremstillet noen nye antibiotika med etter sigende utmerkete egenskaper. De kalles cephalosporiner.

Bedervede næringsmidler som årsak til sykdommer.

Næringsmidler kan under visse omstendigheter bli bedervet av kjemiske stoffer, f.eks. ved tilsetning av gifter, bevisst eller ubevisst (forveksling). En skal her bare komme inn på de forandringer som skjer når patogene bakterier utvikler seg i næringsmidler. Med patogene bakterier menes slike som kan forårsake sykdommer hos dyr og mennesker.

Patogene bakterier kan virke på to måter. Enten ved infeksjon eller ved matvareforgiftning.

Når visse patogene bakterier ved manglende hygiene får adgang til matretter som fremstilles på kjøkkenet, kan bakteriene formere seg ganske grundig i disse. Når de er blitt mange nok, kan de danne giftstoffer, toksiner, i maten. Ved å fortære denne maten blir en utsatt for matforgiftning etterfulgt av sykdom, særlig i magen og tarmkanalen. For en enkelt bakterietypes vedkommende brer sykdommen seg også til åndedretsorganene og kan en sjelden gang føre til døden ved kvelning.

En infeksjon i denne forbindelse betyr at bakterier som riktignok har utviklet seg i maten, men ikke dannet toksiner i denne, er i stand til å trenge inn i levende vev og til og med nå blodbanene hvor blodet kan føre dem til et hvilket som helst organ i legemet. Der hvor de slår seg til ro, vesentlig i mage og tarm, forårsaker de en eller annen typisk sykdom. En overflateinfeksjon kan være så ubetydelig at den resulterer i en køyne. Andre infeksjoner er som nevnt langt mer inngripende.

Hvis et fåtall bakterier trenger inn, vil som regel det levende vev være i stand til å avverge en sykdom. Kanskje vil bare forbigående symptomer melde seg. Når et vesentlig antall bakterier trenger inn, følges symptomene av sykdom som i visse tilfelle kan føre til død.

Felles for alle disse bakterier, såvel infeksjons- som matforgiftningsbakteriene, er at de ikke er i stand til å endre matrettens utseende eller lukt. En kan m.a.o. før måltidet ikke avgjøre om maten er normal eller om den er bedervet. Noen av toksinene er blant de sterkeste gifter vi kjenner.

Det er viktig å merke seg:

1. At infeksjonsbakteriene formerer seg utmerket i matvarer, men de danner ingen giftstoffer i dem. De er farlige fordi de gjennom maten i stort antall kommer ned i vår fordøyelseskanal hvor deres skadevirkninger begynner.
2. At giften allerede foreligger når en spiser mat som matforgiftningsbakterier har hatt fritt spill i.

Som eksempel på infeksjonsbakterier som via mat og dyrefor kan bibringe mennesker og dyr sykdommer, skal nevnes Salmonella, Shigella og Brucella som alle er stavbakterier. De vokser ved 37° C og er Gram +. Bare av salmo-

neller som er utstyrt med flageller, kjenner en f.t. mellom 7 - 800 forskjellige. De drepes ved vanlig pasteurisering. Ofte forekommer de i tarmkanalen på levende dyr. Derfor må det utöves stor forsiktighet under slaktning slik at tarminnholdet ikke renner ut ukontrollert. Andeegg er en viktig smittekilde for salmoneller. Det samme gjelder melk og hestekjøtt og brödmel, fiskemel og sildemel som er utsatt for mus. Museekskremitter kan være sterkt salmonellaholdige og må antas å utgjöre den vesentligste kilde for salmoneller i mel.

Salmonellaartene forårsaker tyfus og paratyfus hos mennesket og en rekke andre sykdommer hos varmblodige dyr. Shigellaartene, som er uten flageller, er ikke alle patogene. De forårsaker dysenteri hos voksne, sommerdiarré hos barn og forskjellige sykdommer hos dyr. Brucella-artene er særlig små stavbakterier på overgangen til kokker. Noen av dem har flageller, andre ikke. De forårsaker sykdommer som smittsom abort hos dyr og undulansfeber (melkefeber) hos mennesker som har nytt Brucella-holdig melk.

Som eksempler på veldefinerte matforgiftningsbakterier i ordets rette betydning, kan anføres antakelig bare to arter, nemlig Clostridium botulinum og Staphylococcus aureus. En kaller dem i det følgende Botulinumbacillen og gule stafylokokker.

Botulinumbacillen er som navnet tilsier, en sporedannende stavmikrobe og Gram +, og i motsetning til stafylokokkene, anaerob. En kjenner hittil 5 typer av den, alle danner toksiner i matvarer. Toksin A er den farligste bakteriegift av alle. Toksin E dannes særlig i <sup>ukokte</sup> fiskeretter.

De aerobe stafylokokker kan foruten å danne toksinet, enterotoksin, i matvarer, også danne andre toksiner som har innflydelse på sår.

Stafylokokkens vanlige tilholdssted er på hud og i neseslim. Den sitter utenpå hårfestet hvorfra den lett trenger inn og kan danne verk. Den utgjör forövrig innholdet i köyner. Folk med verkefinger må ikke få adgang til å stelle med matvarer.

Stafylokokkene er Gram+ og uten flageller.

#### Sykdommer på fisk og skalldyr.

En kjenner ganske mange bakterier og mugg som er patogene for fisk og skalldyr. Disse mikrobene har kunnet isoleres fra syk fisk og skalldyr. Det er imidlertid ikke nok for å legge skylden på dem. Bare de mikrobene som ved podning på frisk fisk har kunnet reproducere sykdomsbilledet har kunnet anerkjennes. Noen få slike skal nevnes her.

Vibrio anguillarum.

Denne skruebakterien opptrer, i et hvert fall i svensk og dansk farvann, på levende ål og forårsaker en sykdom som kalles rödsyke. Den ytrer seg som en inflammasjon og ter seg nærmest som et jevnt fordelt utslett som etter en tid samler seg til bylledannelse på skinnet. Det er lett å isolere renkulturer fra disse byllene. Vibrionene ålen har kanskje blitt smittet med enten i sjøbunnen eller i vannet og da antakelig nær land. Innen et visst tidsrom under sykdommen er det stor sannsynlighet for smitte fra individ til individ.

Bacterium pestis astaci og Aphanomyces astaci.

Disse to mikrober hvorav sistnevnte er muggsopp skal begge være i stand til å forårsake den såkalte krepsepest på ferskvannskrepser som dør allerede en uke etter angrep av disse mikrober.

Aeromonas salmonicida.

Denne er en liten stavbakterie som av og til forårsaker bylledannelser hos lakseslekten. Den angriper fortrinnsvis regnbueørret og annen damkulturørret.

Saprolegnia-arter.

Saprolegnia er muggsopper med sporer som kan bevege seg da de er utstyrt med flageller. Den er en typisk vannmuggsopp som kan komme til utvikling på frisk småfisk og yngel. Den er av og til å se på stingsild som gir inntrykk av å være utstyrt med kraftig skjeggvekst. Soppen gjør stor skade der den får utviklingsmuligheter.

Mycobacterium tuberculosis.

Selv denne bakterie kan formere seg hos fisk, men i en form som ikke medfører sykdom hos varmblodige.

### Mikrobeenzymeres spalting av produkter fra planter.

I havet gror tang og tare. Fra dem fremstilles blandt annet alginsyre og agar. Alginsyrens bruk tør være alminnelig kjent. Agaren, som er hovedsakelig et österlandsk produkt, er det viktige stoff en bruker i det mikrobiologiske laboratorium for å gjøre mikrobennæringssubstrater faste.

En kjenner noen få alginsyre-spaltende bakterier isolert fra havplanter, sjövänn og sedimenter. Den mest typiske av dem kalles *Phytobacterium alginovorum* som under spalting av alginsyre danner en intens lukt av gamle poteter.

Agarspaltende bakterier kan isoleres fra temmelig rent havvänn og tare. I motsetning til andre bakterier, som danner forhøyete kolonier på substratet, synker deres kolonier ned i substratet og etterlater fordypninger i dette samtidig som agaren går i opplösning. De benevnes *Pseudomonas*-arter. Den mest typiske av dem tør være *Pseudomonas Grani* som skal kunne spalte agar fullstendig.

Cellulosespaltende bakterier, *Cytophaga* - arter, forekommer i havvänn og sedimenter. De er langé, smale og böyelige. Sett i mikroskopet ter de seg som "paralleltliggende" formasjoner. På få dager vil en slik kultur bringe et stykke filterpapir i opplösning eller i löpet av lengre tid totalt ödelegge bomullsfbre.

### Chitinspaltende bakterier.

Chitin er skinnliknende stoff som impregnert med kalsiumkarbonat danner skallet på krepsdyr. Det kan meget lett isoleres fra krabbeskall som etter en grundig rengjöring med varmt vänn og säpe og när alle säperester er fjernet, overhelles med fortynnet saltsyre. Kalsiumkarbonat går da i opplösning og chitinet blir tilbake. Det behandles med lut og kokes med alkohol. Det klippes opp i remser som anvendes i substratene när en vil isolere de chitinspaltende bakteriene. Noen av disse er patogene for hummer og krabber og päförer disse en skallsykdom.

### Vänn, is og bakterier.

Vänn står til rådighet som grunnvänn eller overflatevänn. Det er ikke lett å finne noen av disse vänn-typene som uten videre tilfredsstiller

de offentlige krav som i våre dager stilles til vann som skal anerkjennes som drikkevann uten at det som velges må gjennomgå i det minste en enkel rensningsprosess. Vannet skal være lite kalkholdig, m.a.o. blött, fargelöst, klart, være uten lukt, smake behagelig, være fritt for dyrebestand som kan bli årsak til forgiftninger, ikke ha tillöp av spill fra fjös og stall og industri og ikke virke opplösende på metaller. At det må stå til rådighet i nær sagt ubegrensede mengder, er av stor betydning.

Bakteriologisk sett kreves det at dets totale kimtall er lavt og at dette ikke i den varme årstid gir ubehagelige overraskelser. Viktigere enda er fravær av patogene bakterier. De er ikke lett å påvise, og en har ennå ikke tilstrekkelig sikre metoder. Men en vet at patogene bakterier utskilles med avföringen hos dyr og mennesker sammen med enorme mengder av colibakterier som normalt ikke forekommer i naturen. Er der derfor mulig å påvise nevneværdige mengder coliceller i et vann, er det grunn til å formode at også patogene bakterier kan være tilstede. I og for seg kan det jo være ille nok å vite at colibakteriene har funnet veien dit.

Is, som skal brukes i direkte kontakt med matvarer, må selvsagt også være uten lyte i bakteriologisk henseende. Til is som fryses av drikkevann, kunstig is, er der vel neppe noe å bemerke. Is som skjæres på ukontrollerte ferskvannssjöer og særlig is skåret på gjenfrosne trafikkhavner, er det all grunn til å se på med skepsis. En får bare anta at den aldri kommer i direkte beröring med fisk. Isrester som brukes for annen gang (sammenlign med bruk av anvendt salt) byr på den rene hasard.

En har en lettvinnt metode for påvisning av coliforme celler eller enterobakterier. Et substrat som ikke trenger sterilisering og som inneholder visse fargestoffer, melkesukker, etc. samt oksegalle blir fordelt i esmarckskåler hvori substratet får stivne. På overflaten stryker en ut små mengde av det som skal undersøkes f.eks. vann, melk, etc. Etter 20 - 24 timers henstand ved 37 C blir skålene ettersett. Röde kolonier med en <sup>röd</sup> **son**e omkring ansees som representative for coliforme bakterier. Andre bakterier som gror har enten svakt rosa, grå eller hvite kolonier. De aller fleste bakterier kan ikke formere seg på dette substrat. Da også en annen coliform bakterie, *Aerobacter aerogenes* kan opptre som om den var *Escherichia coli*, må ytterligere noen enkle prøver til för det kan avgjöres hvilken av de to som foreligger. Hvis disse viser at <sup>bare</sup> *Aerobacter* er tilstede er vannet i beste orden, bakteriologisk sett.

Ved undersøkelser av is får denne för analysen smelte ved vanlig temperatur.

### Råfiskens mikrobiologi.

Alle faste legemer og gjenstander adsorberer mikrober fra det omgivende miljø. For adsorpsjonen fører mikrobene et latent liv. Etter adsorpsjonen kan situasjonen forandres. Hvis mikrobene adsorberes til levende legemer, f.eks. fisk, får de gunstige utviklingsmuligheter da fisken er omgitt av et næringsrikt slim med alle de stoffer som i et hvert fall bakterier trenger. Slimet utsondres kontinuerlig av kjertler og avstøtes til sjøvannet. Dermed blir det jo en tilsvarende avgang på bakterier, men den kompenseres av adsorpsjonen. Sålenge fisken er i live og holder seg innen en sone med et visst uforandret bakterieinnhold, vil dens bakteriebelastning være noenlunde den samme, og noen formering av betydning skjer neppe. Vandrer fisken over til soner med endret bakterieinnhold, vil dette gjenspeile seg i belastningen. Fanges fisken, blir situasjonen snart en annen, da slimet ikke lenger avstøtes men akkumuleres på fangsten sålenge slimavsondringen fortsetter. Fra dette øyeblikk av har bakteriene næring nok til en vidgående formering. Da disse bakterier er tilpasset lav temperatur, kommer de hurtig til utvikling selvom fisken ises. Ved korrekt bakteriologisk prøvetaking av fisk fanget i rent sjøvann, har en kunnet påvise at den er belastet med ca. 100 - 300 celler / cm<sup>2</sup> overflate fra naturens side. Tilsvarende har en funnet 10 ganger så mye eller mer på fisk oppbevart levende i havnevann ved fiskeanlegg.

Bakterier forekommer i større mengder på gjellene enn i slimet, mens tarmkanalens innhold kan variere. Belastningen der avhenger av fiskens ernæringstilstand. Den kan ha tatt til seg bakterierik føde, men kan også befinne seg i hungertilstand. Laks som ikke nyter føde under gyting, kan ha bakteriefrie tarmer. Fisk som skal gå åten av seg, får etterhånden nedsatt bakteriebelastning.

Fiskens øvrige organer som muskulatur og blod er sterile, altså mikrobefri. I vevet hos den levende fisk som lider av en eller annen sykdom, kan en selvsagt finne bakterier.

Tarmkanalens og slimets bakterieinnhold er ikke identiske. Både artene og deres mengdefordeling er forskjellige, da de jo lever under temmelig forskjellige betingelser.

Fangstmetoden betyr meget for bakteriebelastningen av den fisk som håves inn i båten. Ved trålfangst øker belastningen utover det vanlige da tarminnholdet presses ut på grunn av det vedvarende trykk fisk over mot fisk i trålposen.

Ombord møter fisken en bakterieflora som stort sett preges av jordbakterier og forråtnelsesbakterier fra fastlandsmiljø. Disse følger båten i



dens eget treverk, i isen, i kassene og på redskaper og gjenstander som nyttes under sløyning og vasking for fisken ligger i is. Under sløyningen øker fiskens overflate og gir plass for en rikelig infeksjon.

I løpet av noen få dagers opphold ombord etter fangsten, øker bakteriebelastningen på fisken ytterligere, og dette fortsetter til konsumentene har den i hende.

En kan regne med at den har ca. 1 000 000 - 2 000 000 celler pr.  $\text{cm}^2$  allerede etter 10 - 11 døgn. På dette tidspunkt begynner luktproduserende bakteriers virksomhet å melde seg med all tydelighet og trimetylamindannelsen er i god gjenge. Etter 14 - 15 døgn setter spaltingen av eggehvitestoffene inn. Det gir seg til kjenne ved en stadig økende ammoniakkproduksjon samtidig som lukten tiltar. Et bakterieantall av ca. 100 000 000 celler/ $\text{cm}^2$  og mer er ingen sjeldenhet.

Stoffskifteproduktene, dannet av bakteriene selv, er ofte av en slik natur at bakteriene skades av dem. En ser derfor snart at bakteriebelastningen går tilbake igjen. Jo mer råtten fisken blir, dess færre levedyktige celler inneholder den. På det tidspunkt inneholder fisken svære mengder ammoniakk, så mye trimetylaminn som det overhode kan dannes i den og et utall av mer eller mindre veldefinerte, men illeluktende stoffer.

Når vanlig ising finner sted og vedlikeholdes gjennom hele transportkjeden, gjelder dette noe triste bilde. I praksis forverres det noe, da kjølekjeden i visse tilfelle blir brutt. Temperaturforandringer er det verste fisken kan bli utsatt for. Hvis temperaturen i fisken økes med 7 C, skjer ødeleggelsen presis dobbelt så hurtig. Kunne den senkes til ubetydelig under 0 C, f.eks. til + 0,5 C, ville fisken, om alle forhold ellers var gunstige, vise tydelig bedre holdbarhet.

Et godt grunnlag for å oppnå en øket holdbarhet er å pakke fisk med en minimal bakteriebelastning. En generell regel gjelder nemlig innen all mikrobiologi: Jo større belastningen er fra starten av, dessto hurtigere kommer formeringen igang. Da jord- og forråtnelsesbakterier som nevnt kommer med under prekeveringen, blir/<sup>også</sup> kvaliteten nedsatt på grunn av disse. De kan bare bekjempes ved grundig desinfeksjon og senere vel anvendt hygiene. Desinfeksjonen gjelder kasser (trekasser er vanskeligst å holde bakteriefrie), redskaper, rommet og isen. Hygienen faller tilbake på alle dem som på en eller annen måte kommer i berøring med fisken.

Det er mange slags bakterietyper som kan formere seg på fisken. Ikke alle betyr noe for dens skjebne for den enten aksepteres som føde eller kondemneres som utjenlig. Studier av de forskjellige bakterietyper som til

dens eget treverk, i isen, i kassene og på redskaper og gjenstander som nyttes under sløyning og vasking før fisken ligger i is. Under sløyningen öker fiskens overflate og gir plass for en rikelig infeksjon.

I löpet av noen få dagers opphold ombord etter fangsten, öker bakteriebelastningen på fisken ytterligere, og dette fortsetter til konsumentene har den i hende.

En kan regne med at den har ca. 1 000 000 - 2 000 000 celler pr.  $\text{cm}^2$  allerede etter 10 - 11 dogn. På dette tidspunkt begynner luktproduserende bakteriers virksomhet å melde seg med all tydelighet og trimetylamindannelsen er i god gjenge. Etter 14 - 15 dogn setter spaltingen av eggehvitestoffene inn. Det gir seg til kjenne ved en stadig ökende ammoniakkproduksjon samtidig som lukten tiltar. Et bakterieantall av ca. 100 000 000 celler/ $\text{cm}^2$  og mer er ingen sjeldenhet.

Stoffskifteproduktene, dannet av bakteriene selv, er ofte av en slik natur at bakteriene skades av dem. En ser derfor snart at bakteriebelastningen går tilbake igjen. Jo mer råtten fisken blir, dess færre levedyktige celler inneholder den. På det tidspunkt inneholder fisken svære mengder ammoniakk, så mye trimetylamin som det overhode kan dannes i den og et utall av mer eller mindre veldefinerte, men illeluktende stoffer.

Når vanlig ising finner sted og vedlikeholdes gjennom hele transportkjeden, gjelder dette noe triste billede. I praksis forverres det noe, da kjølekjeden i visse tilfelle blir brutt. Temperaturforandringer er det verste fisken kan bli utsatt for. Hvis temperaturen i fisken ökes med 7 C, skjer ödeleggelsen presis dobbelt så hurtig. Kunne den senkes til ubetydelig under 0 C, f.eks. til  $\div 0,5$  C, ville fisken, om alle forhold ellers var gunstige, vise tydelig bedre holdbarhet.

Et godt grunnlag for å oppnå en öket holdbarhet er å pakke fisk med en minimal bakteriebelastning. En generell regel gjelder nemlig innen all mikrobiologi: Jo større belastningen er fra starten av, dessto hurtigere kommer formeringen igang. Da jord- og forråtnelsesbakterier som nevnt kommer med under prekeveringen, blir/<sup>også</sup> kvaliteten nedsatt på grunn av disse. De kan bare bekjempes ved grundig desinfeksjon og senere vel anvendt hygiene. Desinfeksjonen gjelder kasser (trekasser er vanskeligst å holde bakteriefrie), redskaper, rommet og isen. Hygienen faller tilbake på alle dem som på en eller annen måte kommer i beröring med fisken.

Det er mange slags bakterietyper som kan formere seg på fisken. Ikke alle betyr noe for dens skjebne för den enten aksepteres som föde eller kondemneres som utjenlig. Studier av de forskjellige bakterietyper som til

hvert tidspunkt på en eller annen måte er med på å bringe fisken mot kvalitetsutslettelse, er dessverre ennå for fragmentariske til at en kjenner i detalj alt det som foregår. Men i grove trekk kan en anta at følgende finner sted med fiskenes bakterier etter at fisken er iset ombord. Bakteriene som stort sett alle er vandt til lave temperaturer, har såvel stavform som skrueform og kokkform og tilhører ganske få kategorier selvom der er mange representanter for hver av dem. De kalles 1) Flavobacter, 2) Corynebacterium, 3) Achromobacterium, 4) Bacillus, 5) Pseudomonas, 6) Micrococcus og 7) Vibrio. Dessuten har en funnet gjærsopper, hvorav en dominerer helt og kalles Debaryomyces. Disse lar seg alle lett dyrke i laboratoriekulturer fra fiskeslim. Hvis en gjentar slike dyrkinger gjennom hele lagringstiden, finner en at visse kolonityper forsvinner ut av billedet etter som fisken blir eldre samtidig som det skjer en økning i bakterieantallet. Til å begynne med gror det svært mange fargete kolonier, gule, brune og røde, kanskje også fiolette ved siden av grå og hvite. Etterhvert viser disse seg ikke mer, og skålene er fylt av grå og hvite kolonier, kanskje også slike som fluorescerer. Av de ovenfor nevnte utkonkurreres alle de andre av achromobacter- og pseudomonasartene som vedlikeholder eggehvitespaltingen til fisken er helt ødelagt. Men før de to kategoriene tar overhånd, blir et viktig stoff i praktisk all sjøfisk, trimetylaminoksydet, spaltet til trimetylamin av representanter for Achromobacter og Micrococcus som begge kan danne det nødvendige enzym.

Haiartene pigghå og håbrand inneholder foruten trimetylaminoksyd også stoffet urinstoff i ganske store mengder. Da dette gir opphav til kraftig ammoniakkproduksjon, er det rimelig at bakterier med enzymet urease forekommer på slik fisk. Det er påvist at en sarcina er tilstede, nemlig Sarcina ureae, som har en ganske enorm spaltingsevne.

Ved fangst av kveite kan en ofte være utsatt for at fisken temmelig snart blir gulfarget over hele buken samtidig som en sterk lukt gjør seg gjeldende. Dette skyldes at bakterien Pseudomonas fluorescens tar overhånd.

#### Kokte reker og bakterier.

Ved koking av levende reker i saltlake oppnår en å drepe bakterier på skallet og i vannet mellom kropp og skall. Derimot er det mer tvilsomt om det lykkes på den korte tid som går med, også å drepe alle bakterier i fordøyelseskanalen. Under enhver omstendighet blir bacillesporer som måtte være der, ikke uskadeliggjort. En gammel fremgangsmåte blir dessverre ennå brukt på sine steder, nemlig å helle kaldt sjøvann over rekene. Hensikten er dobbel, en får fjernet alt "smuss" fra kokingen, dette er meget gunstig og en oppnår

en hurtigere avkjøling av rekene. Saken har imidlertid også en annen side. Når en etter meget strev har nedsatt bakteriebelastningen på rekene, synes det høyst ulogisk å infisere dem med det bakterierike vannet som flyter rundt båtene. Ikke bare binder rekene til seg en del vann som holder dem unødige fuktige, men de danner også en utmerket grobunn for de fettspaltende og eggehvitespaltende bakteriene som forekommer i dette sjøvannet. At denne spylemetoden var svært skadelig, ble påvist for 50 - 60 år siden. I dag foreligger tallmessige beviser for dette. Selv om rekene lagres på is etter spyling, dannes det etter få dager store mengder trimetylamen og ammoniakk i dem samtidig som bakteriebelastningen stiger enormt. Det gjør den ikke i ikke-spylte reker når de lagres på samme måten.

På korrekt kokte og uspylte reker dominerer forskjellige kokker, svært mange danner vakkert fargete kolonier på laboratoriesubstrater. I de senere år har pilling og pakking av reker som fryses og lagres ved meget lav temperatur utviklet seg til en populær fremgangsmåte. Betingelsen for prima reker til dette bruk er hurtig koking, umiddelbart fulgt av pilling og pakking under pinlig hygiene. Deretter må frysingen skje straks. Døde reker og "gamle" reker er ikke anvendelige til koking. Disse belaster rekene med bakterier som må unngås. Det samme gjelder også mangel på hygiene, for ikke å snakke om bryting av kjølekjeden.

De frosne reker tines og blandes med majones for smørbrødfremstilling. Når rekene tines, begynner de nevnte bakterier å utvikle seg. Da smørbrødene ikke alltid skal forbrukes umiddelbart, og når bakteriene dessuten kommer i forbindelse med stoffene i majonesen, kan bakteriene vokse frem til et stort antall før maten blir spist. Blant disse bakterier har en all grunn til å frykte matforgiftningsbakterien, *Staphylococcus aureus*. Ved siden av den kan en muligens også måtte regne med infeksjonsbakteriene av *Salmonella*-typen, da disse formerer seg aldeles utmerket i det nevnte medium.

Det er ingen grunn til å skjule at *Staphylococcus aureus* har vært funnet i frosne reker i en rekke tilfeller. En annen sak er at forgiftningstilfeller hittil antakelig ikke har forekommet i større stil. Det skriver seg fra at staphylokokkantalet i rekene vel ikke er særlig høyt. Brukes de tinte reker straks, vil det ikke medføre noen fare. Men oppbevares rekene sammen med andre ingredienser ved en temperatur over 10 C, har en muligheten for hånden.

#### Mikrober og salt.

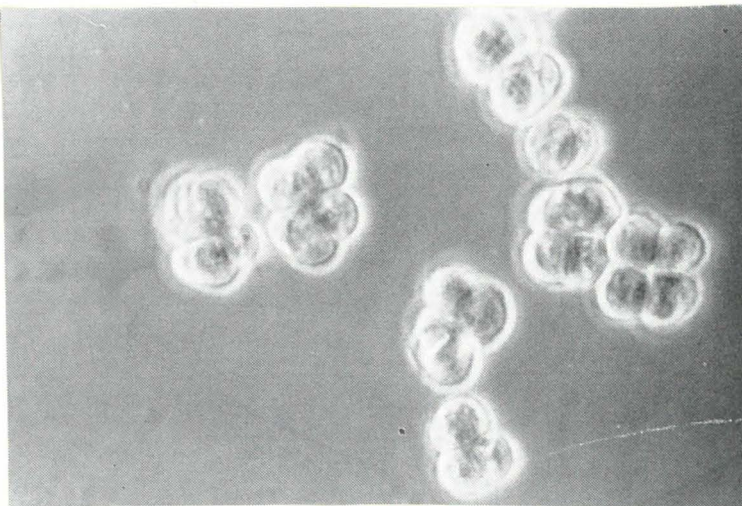
Koksalt utvinnes på forskjellige måter: 1) fra havvann og kalles

sjösalt, marint salt eller salinsalt, 2) i gruver, bergsalt som brytes ut i fast form og 3) også i gruver, manufaktursalt som bringes i dagen i oppløst form, filtreres og bringes til krystallisering.

Alle disse salter kan og blir rensset ytterligere for å gi raffinert salt. Ved å undersøke dettes forhold til mikrobenes vekst og toleranse har en funnet en del interessante resultater. En kan slå fast at alle mikrober begunstiges av en minimal mengde koksalt. Deres toleranse overfor dette stoff er imidlertid meget forskjellig og avhenger helt av konsentrasjonen. Et partiedels prosent koksalt skader neppe noen, mens allerede 1-2 % utelukker vekst av ganske mange arter. De fleste forråtnelsesmikrober klarer ikke å formere seg ved 6-7 %. En matforgiftningsbakterie som staphylokokken har en nylig kunnet dyrke ved 20 %. Noen spesielle bakterier som benevnes, halofile, ikke bare tolererer høye saltkonsentrasjoner, men er direkte avhengige av dem for overhode å kunne formere seg. Blant dem finner en slike som til og med formerer seg i mettet saltlake (26,4 gram NaCl i 100 g lake eller 35,9 g NaCl løst i 100 ml vann). Slike bakterier som kan utvikle seg på saltfisk, klippfisk, saltede kjøttprodukter og på ikke tilstrekkelig rengjorte og desinfiserte gjenstander og kar anvendt under saltingen, kalles populært "rødmidd".

Det meste ferske handelssalt er belastet med mikrober, såvel bakterier som gjær og muggsopp. Sjösaltet utmerker seg ved å inneholde relativt mange baciller, bergsaltet ved innhold av kokker. Det som imidlertid kanskje er mest interessant er at sjösalt næsten alltid i tillegg til dette har en stor belastning av halofile arter som nybrutt bergsalt og manufaktursalt er fri for. Ved lagring som styrtegoods må lagret være grundig desinfisert da saltet ellers smittes med mikrober fra tidligere charger. Dette gjelder spesielt ved fiskebruk hvor mikrobenes ikke lenger forblir latente i saltet men også får adgang til organisk næring. Derfor kan et manufaktursalt og et bergsalt bli infisert på anvendelsesstedet selv om det blir bragt dit i nær sagt steril form.

En kjenner flere typer av "rødmidd". De kan inndeles i kokker, sarciner og stav

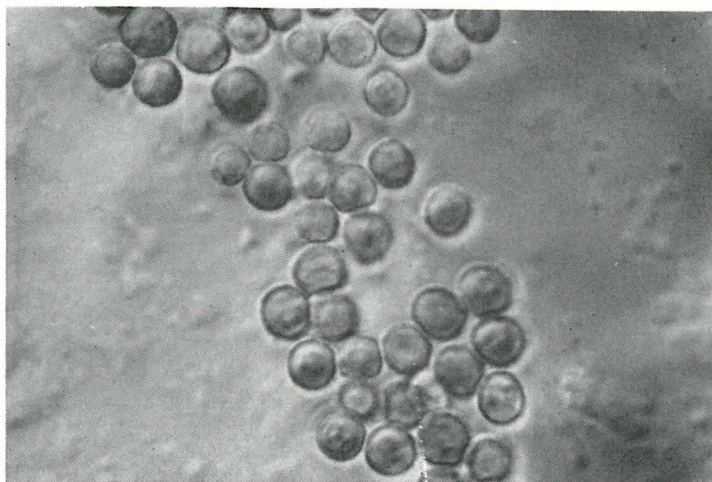


Rødmidd (Sarcina)  
fra klipfisk.

Alle disse gror på saltfisk og klippfisk som røde belegg og på laboratoriesubstrater som kolonier av noe forskjellig størrelse, form og farge som dekker de fleste nyanser innen rosa og rødt, fra den lyseste rosatone til det mørkeste røde. I fasekontrastmikroskopet ser en at cellene opptrer i forskjellig størrelse hos de forskjellige typer. Andre reaksjoner tyder på at en har med mange "rødmidder" å gjøre. Omkring 25 arter tør være beskrevet.

Stavformene byr på særlig interesse. Det er dem som faktisk lar seg dyrke i oppløsninger mettet med koksalt, mens mikrokokkene og sarcinene klarer seg med ca. 20 %. Tilsetter en vann til en slik stavkultur så koksaltkonsentrasjonen synker meget, kan en ikke lenger påvise stavformen i mikroskopet til tegn på at den ødolegges under slike forhold. Mikrokokkene og sarcinene tåler denne endring av saltkonsentrasjonen uten å gå i oppløsning.

Et par muggsopplignende mikrober kan også opptre på klippfisk, den



*Brunmidd fra klippfisk (konidier av sporedannelse).*

ene er den velkjendte "brunmidd" eller "svartmidd", Sporendonema. Den andre en sjelden art, Sarcinomyces, som etter sigende oftere opptrer på færøisk og islandsk klippfisk enn på norsk. Den siste har sikkert ingen økonomisk betydning i motsetning til den førsnevnte. Sporendonema gror i kolonier som både på fisk og i laboratoriet i lengere tid holder seg usynlige for så i løpet av få timer å anta nyanser fra honninggult til nesten svart. I alminnelighet er koloniene brune. Dens "usynlige" stadium kan studeres i mikroskopet og består i tette "pakker" av store celler. Når koloniens farge kommer frem, ser en i mikroskopet mengder av runde, fargete celler arrangert i rad og rekke som hos en streptokokk- eller penicilliumart. Brunmidden bærer med andre ord konidier som lettvindt kan blåses utover. En har funnet at den gror best i nærvær av ca. 13,5 % NaCl, men den gror, om enn langsommere også på klippfisk med dens høye saltinnhold. Dessuten er det ingenting i veien for å få den i vekst om saltinnholdet er ganske ubetydelig. I kjøttindustrien er den en vanlig gjest på skinker og fete salte pølser.

### Lutefisk.

Dette produkt fremstilles ved lang blötning i rennende vann, luting ved en meget høy pH fulgt av ny utvanning for fjerning av lutoverskudd. Herunder forsvinner bakterier i stor utstrekning rent mekanisk, da de løsner fra fiskens overflate. Mange drepes også ved den høye pH luten har. Den ferdige fisk viser en pH på ca. 10 og vel så det, men ikke dessto mindre lar det seg gjøre å dyrke en rekke forskjellige bakterier fra den. Lutefisk er altså ikke et "sterilt" produkt på tross av den kraftige kjemiske behandling.

### Rakefisk.

Hvilken betydning mikrober har for utvikling av en rakefisk av god eller "riktig" kvalitet, er det ikke mulig på dette tidspunkt å si noe avgjørende om. Men faktum er at jo ferre bakterier råfisken er belastet med, dessto mindre lukter det av det ferdige produkt som ikke står tilbake i kvalitetsmessig henseende. Rent generelt tør all lukt av behandlet fisk tilskrives bakterievirksomhet.

### Rökt fisk.

All fisk som skal rökes, gjennomgår først en saltningsprosess om enn sterk tidsbegrenset. Bakteriefloreaen forandres og kokkene tar overhånd. Under rökingen kondenseres stoffer som dels setter smak, dels har konserverende egenskaper, på fiskens overflate og som sammen med saltet gir fisken en begrenset ekstra holdbarhet. De konserverende stoffene dreper visse bakterier, men kan ikke hindre bakterieslimdannelse om ikke fisken lagres ved temperatur helst under + 5C.

### Ödeleggelse av fiskegarn, tauverk, gummi og kork.

Mikrober adsorberes til faste legemer uansett hva disse består av. Et objektglass som vi bruker ved mikroskopering, altså i rengjort og sterilisert tilstand, vil etter opphold i sjövann i löpet av få timer være overtrukket med et lag av temmelig godt fastsittende mikrober. Det kan en lett overbevise seg om i mikroskopet etter farging av belegget med erytrosin.

Ved å legge tråder av tekstiler i sjövann i noen dager, vaske dem grundig med store mengder sterilt vann og derpå oppbevare dem i steril bul-

jong, vil denne etter et par dager bli mer eller mindre uklar. Ved mikroskopering av denne buljongen, viser den seg å inneholde mange forskjellige typer av bakterier.

Mange tekstilfibertyper inneholder cellulose som er å finne i jute, hamp, sisal og bomull. Filtreerpapir er absolutt ren cellulose. En kjenner en del mikrober, bl.a. noen bakterier som produserer et cellulosespaltende enzym. Disse bakterier, Cytophaga, forekommer i sjøvann. Hvis en ved 120° C steriliserer en næringsoppløsning som er tilsatt et stykke filtreerpapir eller et prøvestykke av et ubrukt og upreparert fiskegarn og tilsetter en liten mengde bunnsлам eller litt sjøvann tatt ved en strandkant, vil en etter noen dager se at filtreerpapiret "spises" opp hvor næringsoppløsningen grenser mot luften. Oppløsningen blir uklar og inneholder nå store mengder av den nevnte bakterie. Noe langsommere går det med fiskegarnet, men om en prøver styrken på det etter 14 dager a 3 uker, er det helt ødelagt.

Lin og silke er mer motstandsdyktige overfor bakterieangrep. Ull står i en særklasse blant tekstilene og tåler godt minst en måneds opphold i sjøvann uten å ta særlig skade. Det forlyder nylig at en nå også har funnet mikrober som skal kunne angripe kunstprodukter som nylon og terylen.

Ved impregnering av fiskegarn søker en å dempe bakteriebeskadigelsen så vidt mulig, likeledes ved intens skylling og tørking etter bruk. Fuktige garn og varme dager gir gode betingelser for cellulosebakteriene.

Gummi og gummiprodukter angripes av mikrokokker og baciller fra havvann om enn ikke så lett. Gummi består av umettede organiske stoffer som hurtig oksyderes, hvorved gummiens egenskaper tapes når disse bakterier blir mange nok i sprekker og beskadigede deler av gummien.

Mikrober i havvann kan bringe kork til å spaltes så den tilslutt faller fra hverandre i biter.

Treverk som ikke er impregnert tilstrekkelig og vedlikeholdt, vil i fiskebåter skape triste problemer av stor økonomisk betydning. Forskjellige muggsopper tar overhånd når treverket inneholder over 20 % fuktighet. Oksygen har de rikelig adgang til, og næringsstoffer nok for mikrober hoper det seg opp rikelig av i gamle båter.