[Aus der bakteriol. Abteilung des hygien. Instituts der Universität Zürich.]
(Abteilungsvorstand: Prof. W. Silberschmidt.)

Über den Bakteriengehalt des Fischfleisches.

Von

Samuel Ulrich, med. pract.

Die vorliegende Arbeit wurde durch mehrere Fälle von Fischvergiftung veranlaßt, die im September 1904 in der Stadt Zürich auftraten. Die Angehörigen zweier Familien erkrankten nach Genuß von Fischfleisch, das von verschiedenen Fischarten herrührte. Bei der späteren Untersuchung stellte es sich heraus, daß die Vergiftung sehr wahrscheinlich von einer Sendung Meerhechte ausgegangen war. Wir beabsichtigen nicht auf die klinischen Erscheinungen dieser Krankheitsfälle, von denen zwei tödlich verliefen, näher einzutreten. Diese sind von anderer Seite beschrieben worden.¹ Doch sei bemerkt, daß gastro-enteritische und typhöse Symptome das Krankheitsbild beherrschten. Für die Ätiologie dieser Fischvergiftung ist wichtig, daß die angeschuldigten Fische sich längere Zeit (mehrere Tage) auf dem Transporte befanden und nicht sofort nach dem Kochen, sondern 24, 36 und mehr als 48 Stunden nach der Zubereitung genossen wurden. Der Umstand, daß die Krankheitserscheinungen um so schwerer waren, je später die Patienten von den Fischen gegessen hatten und der weitere Umstand, daß andere Fische, die auf derselben Platte aufbewahrt wurden, sich als ebenso schädlich erwiesen, berechtigten zur Annahme, daß diese Fischvergiftung auf bakterieller Grundlage und zwar auf Vermehrung der Bakterien im zubereiteten, gekochten Fischfleisch beruht.

Aus dem Blute der zwei gestorbenen Personen isolierte Hr. Prof. Wyss einen Mikroorganismus, der von Prof. Silberschmidt mit *B. paratyphi* B

¹ Siehe *Korrespondenzbl. für Schweizer Ärzte*. 1905.

(Schottmüller) identifiziert werden konnte. Die positiv ausgefallene Agglutinationsreaktion mit dem Blute von 4 Patienten spricht für die ätiologische Bedeutung dieses Mikroorganismus.

Die Vergiftung durch Fischfleisch, die als eine Unterabteilung der Fleischvergiftung bezeichnet werden kann, ist seit dem Altertum bekannt, denn das Fischfleisch bildete von jeher ein für den Menschen wichtiges Nahrungsmittel. Es war jedoch erst der neueren Zeit vorbehalten, darauf hinzuweisen, daß alle Erscheinungen, welche mit dem Namen Fleischvergiftung bezeichnet wurden, auf ganz verschiedene Ursachen zurückzuführen und wohl auseinanderzuhalten seien. Wir wollen hier nur jene Gruppe von Fleischvergiftungen im allgemeinen und von Fischfleischvergiftungen im speziellen erwähnen, die durch Bakterien hervorgerufen wurden. Nachdem zuerst durch die Arbeiten von Gärtner und Gaffky und Paak auf die Bedeutung der Mikroorganismen bei Fleischvergiftungen hingewiesen worden war, wurde bald darauf eine Reihe von Vergiftungsfällen publiziert, deren Entstehung die Autoren auf Bakterien zurückführten. Nach B. Fischer werden diese Fleischvergiftungen in Fleischvergiftungen im engeren Sinne und in Wurstvergiftungen (Botulismus) getrennt. Als Erreger der Wurstvergiftung, die unter dem Bilde einer Alkaloidvergiftung verläuft, hat van Ermengen einen toxinbildenden Mikroorganismus, den *B. botulinus* beschrieben. Bei den Fleischvergiftungen im engeren Sinne stehen Krankheitserscheinungen von seiten des Magendarmkanales im Vordergrund. Nach Fischer wurden in diesen Fällen durchweg bewegliche, die Gelatine nicht verflüssigende, nach Gram nicht färbbare Kurzstäbchen beschrieben, die sich in ihrem Habitus mit dem Typhus- und dem Kolibakterium vergleichen lassen.

Wenden wir uns den pathogenen Bakterien des Fischfleisches zu, so können wir hier zwischen Bakterien der Fischseuchen und solchen, die bei Vergiftung von Menschen durch Fischfleisch erhalten wurden, unterscheiden. Als Erreger von epidemischen Krankheiten unter verschiedenen Fischarten finden wir eine Reihe von Mikroorganismen beschrieben, die zur Proteusgruppe gehören oder doch große Ähnlichkeit mit ihr zeigen. So beschrieb Charrin eine Fischseuche unter Karpfen und Barben, als deren Ursache er ein proteusähnliches Stäbchen fand. Ein proteusartiger *Bazillus piscidicus agilis* wurde bei einer Fischseuche in St. Petersburg von Frau Sieber entdeckt. O. Wyss fand bei einer Fischseuche, die im Jahre 1898 im Züricher See zahlreiche Exemplare von *Leuciscus rutilus* tötete, als Erreger einen Mikroorganismus, den er mit *Proteus* identifizierte. Babes und Riegler fanden den von ihnen beschriebenen *Proteus piscidicus versicolor*. Wie weit diese für gewisse Fischarten pathogenen, scheinbar einer Gruppe angehörenden

Mikroorganismen auch für den Menschen beim Genuß des Fischfleisches schädlich werden können, ist bis jetzt nicht mit Sicherheit festgestellt worden. Wiederholt wurden Vergiftungen durch Fischfleisch bei Menschen beobachtet, ohne daß die Ätiologie gründlich aufgeklärt werden konnte. Doch traten auch hier cholera- bzw. typhusartige Krankheitserscheinungen ähnlich wie bei den eigentlichen Fleischvergiftungen auf, so daß die Annahme berechtigt erscheint, daß auch hier Vertreter der Kolityphusgruppe eine Hauptrolle spielen. Da die Bakterien, welche normalerweise im Fischfleisch vorkommen, bis jetzt nur wenig berücksichtigt worden sind, habe ich es übernommen, diese Frage näher zu studieren. Hrn. Prof. W. Silberschmidt, auf dessen Rat hin dies geschah, sei an dieser Stelle für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse mein wärmster Dank ausgesprochen.

Im folgenden sind die Resultate meiner Untersuchungen mitgeteilt. Es wurden geprüft: der Bakteriengehalt verschiedener Fische bei verschiedenen Temperaturen; die Vermehrung der Bakterien im rohen und im gekochten Fischfleisch, das Verhalten pathogener Mikroorganismen im Fischfleisch und dessen Virulenz gegenüber verschiedenen Tierarten.

Das Untersuchungsmaterial.

Als Untersuchungsmaterial wurden sowohl Süßwasser- als auch Meerfische benützt, indessen beschränkte sich die Untersuchung der letzteren nur auf wenige Exemplare von *Solea vulgaris* (Seezunge) und von *Gadus aeglefinus* (Schellfisch). Da es sich nämlich als zweckmäßig erwies, den betreffenden Fisch in möglichst frischem Zustande auf seinen Bakteriengehalt zu prüfen, um Wachstum und Vermehrung der Mikroorganismen besser verfolgen zu können, so wurden bald nur noch Süßwasserfische verwendet. Dieselben wurden auf dem Markte oder in Fischhandlungen gekauft und stammten teils aus dem Züricher See, teils aus den benachbarten Flüssen. Es wurden im ganzen 40 Fische verwendet, unter denen neben den erwähnten Meerfischen folgende Süßwasserarten vertreten waren:

Zander (*Lucioperca sandra*),
Weißfisch (*Leuciscus*),
Salm (*Salmo salar*),
Barbe (*Barbus fluviatilis*),
Nase (*Chondrostoma nasus*),
Karpfen (*Cyprinus carpio*),
Schleie (*Tinca vulgaris*).

¹ Siehe auch die eingangs erwähnte Fischvergiftung.

Mit Ausnahme von zwei Exemplaren, die mir von auswärts zugesandt wurden, erhielt ich sämtliche Fische in frischem Zustande, zum Teil noch lebend, wie sie auf dem Markte dem Käufer angeboten worden waren. Um das Untersuchungsgebiet nicht allzu weit auszudehnen, wurde von einer Verwendung konservierter Fische (Büchsenfische, geräucherte, gesalzene Fische usw.) Umgang genommen.

Der Gang der Untersuchung war für sämtliche im rohen Zustande untersuchten Fische sowie für einen Teil der gekochten im allgemeinen der nämliche.

Der zu untersuchende Fisch wurde in den meisten Fällen gleich am Tage des Ankaufes zum erstenmal auf seinen Bakteriengehalt geprüft. War dies nicht möglich, so wurde er im Eisschranke aufbewahrt und spätestens innerhalb 24 Stunden nach dem Ankauf der Untersuchung unterworfen. Dieselbe beschränkte sich hauptsächlich auf das Fischfleisch, doch wurden anfangs zur Kontrolle und Orientierung Mundhöhle, Kiemen, Umgebung des Darmes untersucht. Denn es lag die Vermutung nahe, daß diese drei Gegenden eine verschiedene Bakterienflora liefern. Es stellte sich jedoch heraus, daß bei den 6 auf diese Weise geprüften Fischen keine Bakterienarten sich vorfanden, die nur auf eines dieser Gebiete lokalisiert gewesen wären. Auch konnte die Herkunft der im Fleische gefundenen Bakterien nicht mit Sicherheit ausschließlich auf eine dieser drei Gegenden zurückgeführt werden. Am üppigsten war die Bakterienflora der Mundhöhle, geringer die der Kiemengegend und am wenigsten zahlreich waren die Bakterien in der Umgebung des Darmes. Da in der Regel bei der Zubereitung der Kopf des Fisches beseitigt und die Darmgegend gereinigt werden, so war dies ein weiterer Grund, von einer ausgedehnten Untersuchung dieser Teile abzusehen und sich hauptsächlich mit dem Auftreten der Mikroorganismen im Fischfleische zu beschäftigen.

Methode der Anlegung der Kulturen. Mit dem Glüheisen wurde ein etwa 2 bis 5^{cm} großer Bezirk an der Oberfläche ausgeglüht, wobei die Schuppen und das sich darunter befindende Gewebe entfernt wurden, bis das Fleisch zutage trat. Nach wiederholtem Ausglühen wurde mit gut ausgekochten Instrumenten Schere, Messer, Pinzette ein Stück Fleisch aus der Tiefe genommen. Dasselbe hatte durchschnittlich ein Gewicht von 2 bis 5^g. Durch die doppelte Ausglühung der oberflächlichen Schichten und durch die mit möglichst sterilen Instrumenten erfolgte Herausnahme eines Stückes aus der Tiefe suchte ich die Mikroorganismen der Fischoberfläche vom Untersuchungsobjekte möglichst fern zu halten. Daß auf und zwischen den Schuppen der betreffenden Fische zahlreiche Mikroben vorkamen, zeigte mir jeweils die mikroskopische

Untersuchung jener Gegend. Das herausgenommene Fleischstück wurde zur Impfung der Nährböden verwendet und zwar so, daß entweder für jeden Nährboden ein besonderes Stück entnommen wurde, oder daß ein größeres Stück auf verschiedene Nährsubstrate verteilt wurde.

Es wurden folgende Kulturen verwendet:

a) Gelatineplatte. Es wurden 4 Gelatineröhrchen verflüssigt, das Fleischstück in das Originalröhrchen gebracht und je drei Ösen in die drei Verdünnungen überimpft. Sämtliche Röhrchen wurden in sterile Petri-Doppelschalen ausgegossen und dieselben bei 22° C. aufbewahrt. In einzelnen Fällen wurden an Stelle der Schalen die Gelatinerollröhrchen verwendet.

b) Agaroberfläche. Der in eine sterile Petrischale ausgegossene und erstarrte Agar wurde mit dem betreffenden Fleisch oberflächlich bestrichen.

c) Bouillon und Zuckerbouillon. In jedes Röhrchen wurde ein Fleischstück getan.

d) Agarkultur für anärobe Bakterien. Der Agar wurde in Röhrchen verflüssigt, etwa 10 Minuten gekocht und je nachdem bei 40° C. oder bei höheren Temperaturen geimpft und in den Brutschrank gestellt. Es wurden meistens 1 Originalröhrchen und 2 Verdünnungen angelegt. Dabei kamen auch Röhrchen zur Verwendung, wie sie Burri für die Züchtung der Anäroben angegeben hat.

Eine Zeitlang wurden neben den erwähnten Nährböden auch Fischgelatine und Fischagar verwendet; da die Resultate mit den auf anderen Nährböden erhaltenen übereinstimmten, wurde auf diese Nährböden verzichtet. Neben der kulturellen fand auch eine mikroskopische Untersuchung des Materials statt. Die eben beschriebene Untersuchungsmethode wurde in den ersten 2 bis 3 Tagen wiederholt, um die Zunahme der Mikroorganismen beachten zu können. Der zu untersuchende Fisch wurde während dieses Zeitraumes im Eisschranke oder bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Bei längerem Aufbewahren und namentlich bei Untersuchungen in der wärmeren Jahreszeit stellte sich die Notwendigkeit ein, an Stelle des erwähnten Fleischstückes das Material mit einer Platinöse oder mit der Spitze des Platindrahtes in die Originalröhrchen zu übertragen, da die Bakterienzahl sehr groß geworden und die Kontrolle der Kulturen durch allzu üppiges Wachstum gehindert wurde. Das Untersuchungsmaterial wurde während der Monate Februar bis Juli 1905 auf seinen Bakteriengehalt geprüft.

Wir können die Versuche in folgender Weise einteilen:

1. Untersuchung des bei niederen Temperaturen aufbewahrten Fischfleisches,

2. Untersuchung des bei höheren Temperaturen aufbewahrten Fischfleisches,
3. Untersuchung von gekochtem Fischfleisch,
4. Infektionsversuche des Fischfleisches.

1. Untersuchung des bei niederen Temperaturen aufbewahrten Fischfleisches. Diese Versuchsreihe wurde während der Monate Februar, März und April 1905 vorgenommen. Die Tagestemperatur in Zürich schwankte in dieser Zeit zwischen -2°C . und 20°C . und betrug durchschnittlich 10°C . Das Untersuchungsmaterial wurde in einem ungeheizten Raume aufbewahrt. Zur Verwendung gelangten 10 verschiedene Fische. Nach den auf den Gelatineplatten zur Entwicklung gekommenen Kolonien können wir zwei Gruppen unterscheiden:

- a) gelatineverflüssigende Kolonien und
- b) gelatinenichtverflüssigende Kolonien.

Unter der Gruppe a) sind hauptsächlich zwei Arten zu erwähnen, die in allen Fischen gefunden werden:

graue, flache Kolonien, rasch einsinkend und verflüssigend mikroskopisch dünne, lebhaft bewegliche Stäbchen enthaltend, nach Gram nicht färbbar, intensive Gestankbildung, *B. vulgare* (*Proteus*);

runde, rasch verflüssigende Kolonien, anfangs von grauer, dann von grau-grüner Farbe, Fluoreszenz, bewegliche Stäbchen, nach Gram nicht färbbar, Milch nicht koagulierend, *B. fluorescens liquefaciens*.

Außer diesen beiden fand sich noch eine dritte Art gelatineverflüssigender Kolonien häufig:

runde, lochförmige Formen, auf schwarzem Grunde gelblich erscheinend, bewegliche Kurzstäbchen, hier und da kettenbildend, nach Gram nicht färbbar.

Außerdem wurden Vertreter der Heubazillengruppe gefunden, die die Gelatine verflüssigten.

Unter den gelatinenichtverflüssigenden Kolonien ist an erster Stelle die Koligruppe zu nennen:

blasse, durchscheinende, blattförmige Kolonien aus beweglichen Kurzstäbchen bestehend, nach Gram nicht färbbar, mit 1 bis 2 endständigen Geißeln. Die Milch gerinnt; in Zuckerbouillon und Agarstich starke Gasbildung; Neutralrotagar entfärbt.

Neben den typischen Kolonien von *Bakterium coli commune* wurden ähnliche Mikroorganismen gefunden, welche die Gelatine nichtverflüssigten und kurze unbewegliche, nach Gram nicht färbbare Stäbchen darstellten, die sich aber durch spärliches Wachstum auszeichneten.

Ferner sind hier noch Mikrokokken und Sarzinen zu erwähnen, welche sich zeitweise auf den Gelatineplatten vorfanden.

Es ist interessant, das Auftreten der beiden Gruppen a) und b) näher ins Auge zu fassen. Die folgende Tabelle soll einen Überblick über das Verhältnis der gelatineverflüssigenden und der gelatinenichtverflüssigenden Kolonien geben, wie ich es bei den Untersuchungen in den Monaten Februar bis April erhielt.

Tabelle I.

Fisch	I. T a g		II. T a g		III. T a g	
	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.
1	+	+	+	++		
2	+	+	+	++		
3	+	++				
4	+	++	+	+++	+	+++
5	+	++	+	++	++	++
6	+	++	++	+++	++	+++
7	+	+++	++	+++		+++
8	+	+	+	++	+	+++
9	++	+++				
10	+	++	++	+++	++	+++

+ bedeutet spärliches Wachstum. ++ bedeutet zahlreiche Kolonien.

+++ bedeutet üppiges Wachstum, Kolonien unzählbar.

Die in Tabelle I zusammengestellten Untersuchungen zeigen ein deutliches Überwiegen der gelatinenichtverflüssigenden Kolonien. Diese waren in den meisten Fällen am 2. Tage auf der Platte nicht mehr zählbar. Die gelatineverflüssigenden Kolonien waren nicht zahlreich, führten aber doch durch das rasche Wachstum eine frühzeitige Verflüssigung der Platten herbei. Mehrere Kolonien der verschiedenen Platten wurden untersucht; die nichtverflüssigenden erwiesen sich kulturell als zur Koligruppe, die verflüssigenden als zur Proteusgruppe gehörend.

2. Untersuchung des bei höherer Temperatur aufbewahrten Fischfleisches. Diese Versuchsreihe hatte den Zweck festzustellen, ob ein qualitativer oder quantitativer Unterschied gegenüber den bei niederen Temperaturen erhaltenen Resultaten zu konstatieren sei und wie sich das Verhältnis der gelatineverflüssigenden Kolonien, zu den die Gelatine nichtverflüssigenden bei Aufbewahrung des Fischfleisches im Sommer gestalte. Zu diesen Versuchen wurden 5 Fische verwendet, die in den Monaten Juni und Juli 1905 auf ihren Bakteriengehalt geprüft wurden. In dieser Zeit betrug die durchschnittliche Temperatur 23° C.

Tabelle II.

Juni-Juli 1905.

Fisch	I. Tag		II. Tag		III. Tag	
	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.
1	+	+++	++	+++	+++	+++
2	+	++	++	+++	++	+++
3	++	+++	+++	+++		
4	++	+++	+++	+++		
5	+	++	++	+++	+++	+++

Aus Tabelle I und II geht hervor, daß die Bakterienflora im Fischfleisch, wenn dies im Winter und im Sommer untersucht wurde, keine qualitativen Unterschiede aufweist. In allen Fällen kamen auf den Gelatineplatten nichtverflüssigende Kolonien der Koligruppe und verflüssigende der Proteusgruppe zur Entwicklung. Die nichtverflüssigenden überwiegen stets an Zahl die verflüssigenden. Ferner zeigen die im Sommer angelegten Platten ein rascheres Wachstum und eine größere Zahl der Kolonien beider Gruppen.

Die in den Tabellen I und II für die Gelatinekulturen angegebenen Resultate entsprechen den auf anderen Nährböden erhaltenen (auf Agar, in Bouillon usw.). Auch da gelangten die Bakterien der Proteus- und Koligruppen vorwiegend zur Entwicklung, während andere Mikroorganismen (Streptokokken, Sarzine, Heubazillen usw.) in weit geringerer Zahl auftraten.

Direkte mikroskopische Untersuchung. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Fischfleisches fand ich in dem nach gewöhnlichen Methoden gefärbten Ausstrichpräparat vereinzelt Mikroorganismen, deren Menge ungefähr am 3. Tage so zugenommen hatte, daß das mikroskopische Gesichtsfeld unzählige Mikroorganismen enthielt. Diese Mikroorganismen entsprachen in der Form den in den Kulturen gefundenen.

Aus 3 bei höherer Temperatur aufbewahrten Fischen wurden anaerobe Bakterien isoliert, welche bei näherer Untersuchung übereinstimmende Eigenschaften aufwiesen:

schlanke, lebhaft bewegliche Stäbchen, nach Gram färbbar, mit endständigen Sporen, streng anaerobes Wachstum in Agar, kein Wachstum in Gelatine, Gasbildung und unangenehmer Geruch, Milch koaguliert und peptonisiert, für Meerschweinchen nicht pathogen.

Dieser Mikroorganismus zeigte kulturell große Ähnlichkeit mit dem *Granulobacillus saccharobutyricus mobilis* (Graßberger und Schattenfroh), unterschied sich aber von diesem durch Peptonisierung der Milch. Neben diesem wurde noch ein anderer Anaerobier gefunden in Form von kurzen breiten Stäbchen. Seine Isolierung ist nicht gelungen.

3. Untersuchung von gekochtem Fischfleisch. Es wurden zu diesen Versuchen Fische verwendet, die frisch gekauft innerhalb 24 Stunden gekocht worden waren. Die Zubereitungsart wurde in folgender Weise vorgenommen: der geschuppte und gereinigte Fisch wurde mit einer aus Butter, Mehl und Wasser bestehenden Sauce gekocht und zwar die ersten 5 Versuchsobjekte durchschnittlich eine halbe Stunde bei 90° C., 2 der letzten bei 100° C. eine Stunde lang. Die Fische wurden nach dem Kochen ohne besondere Vorsichtsmaßregeln in gereinigten Gefäßen bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt. Diese Art der Aufbewahrung sollte derjenigen in der Praxis entsprechen; bekanntlich werden gekochte Fische häufig ein und mehrere Tage aufbewahrt, bevor sie genossen werden (so bei der in der Einleitung erwähnten Fischvergiftung).

Tabelle III.

Bakteriengehalt von gekochtem Fischfleisch.

Bei niedriger Temperatur (durchschnittlich 12° C.).

März-April 1905.

Fisch	I. Tag		II. Tag		III. Tag	
	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.
1	+	+	+	+		
2	0	0	+	+		
3	+	++	+	+++		
4	0	+	+	++	+	+++
5	+	+	+	++	+	+++

Tabelle IV.

Bei höherer Temperatur (durchschnittlich 23° C.).

Juni-Juli 1905.

1	+	+++	++	+++	+++	+++
2	+	+++	+	+++	++	+++
3	++	+++	++	+++	+++	+++

Bei dieser Versuchsreihe gelangten wiederum die nichtverflüssigenden Kolonien auf den Gelatineplatten in größerer Menge zur Entwicklung als die verflüssigenden. Dieses auch beim rohen Fleische gefundene Resultat trat beim gekochten noch deutlicher zutage, da hier die Zahl der verflüssigenden Kolonien geringer war als die im rohen Fischfleisch. Auch hier konnten Vertreter der Koligruppe in den nichtverflüssigenden, Vertreter der Proteusgruppe in den verflüssigenden Kolonien nachgewiesen werden. Daß das gekochte Fleisch für diese Mikroorganismen,

namentlich für die Koligruppe, einen günstigen Nährboden darstellt, geht hauptsächlich aus den in den Sommermonaten vorgenommenen Versuchen hervor. Die Zahl der Bakterien war schon nach einem Tage eine sehr große. Die mit einer Platinöse des Fischfleisches beschickte Platte zeigte nach 24 Stunden schon unzählige Kolonien.

Ein qualitativer Unterschied zwischen den Bakterien des rohen und denen des gekochten Fischfleisches war nicht zu konstatieren.

Es sei hier noch besonders darauf hingewiesen, daß beim gekochten Fleisch die Fäulniserscheinungen (übler Geruch, Auflösung des Fleisches) später eintraten als bei den unter gleichen Bedingungen aufbewahrten rohen Fischen. Da die koliähnlichen Mikroorganismen im gekochten Fischfleisch überaus zahlreich waren, so läßt sich diese Erscheinung durch die geringere Entwicklung der Proteusgruppe im gekochten Fische erklären.

Zwei weitere Versuche sollten feststellen, ob das Wachstum der Bakterien im pasteurisierten Fischfleisch sich wie das im rohen oder wie das im gekochten verhalte. Ein rohes, ein gekochtes und ein 2 Stunden auf 50° erhitztes wurden auf ihren Bakteriengehalt geprüft. Die aus dem pasteurisierten Stücke geimpften Gelatineplatten stimmten mit denen des rohen Stückes überein, d. h. sie wiesen eine größere Zahl von verflüssigenden Kolonien auf als diejenigen des gekochten Stückes.

4. Infektionsversuche mit *Bacterium paratyphi* (Fisch) und mit *B. vulgare*. Eine erste Versuchsreihe diente dazu, festzustellen, ob die Infektion des Fischfleisches mit *B. paratyphi* (Fisch) einen Einfluß auf die Entwicklung der im Fischfleisch vorhandenen Bakterien ausübe und ob zwischen infiziertem und nicht infiziertem Fischfleisch in der Bakterienflora ein Unterschied zu konstatieren sei. Das Resultat dieser Versuchsreihe ist in Tabelle V mitgeteilt.

Tabelle V.

Mai 1905. Durchschnittliche Temperatur 18° C.

Fisch- fleisch		Aufbewahrt bei	I. T a g		II. T a g	
			verflüssig.	nicht verfl.	verflüssig.	nicht verfl.
gekocht	mit Bac. paratyph. inf.	Zimmertemp.	+	+++	+	+++
"	"	28°	+	+++	+	+++
"	nicht infiziert	Zimmertemp.	++	+++	++	+++
"		28°	++	++	++	+++

Diese Versuche zeigen, daß ein wesentlicher Unterschied in der Bakterienflora des nicht infizierten und des mit *B. paratyphi* infizierten Fischfleisches nicht zu konstatieren ist. In allen Fällen wurden sehr zahlreiche, nicht verflüssigende und weniger zahlreiche verflüssigende Kolonien gefunden. Vielleicht ging durch die üppige Entwicklung des *B. paratyphi* die Zahl der verflüssigenden Kolonien im infizierten Fleische etwas zurück, ein völliges Verschwinden der *Proteus*-Gruppe konnte nicht nachgewiesen werden. Aus den nicht verflüssigenden Kolonien der Gelatineplatten der infizierten Stücke konnte das *B. paratyphi* leicht isoliert werden, während bei dem mit nicht infiziertem Fleisch beschickten Platten nur typische Kolibazillen (Milchgerinnung) gefunden wurden.

Aus diesen Versuchen ist zu entnehmen, daß das gekochte Fischfleisch einen sehr guten Nährboden für Mikroorganismen darstellt und daß Bakterien, die zufällig in gekochtes Fischfleisch gelangt sind, daselbst günstige Entwicklungsbedingungen finden. Die Einwanderung von Bakterien der *Kolityphus*-Gruppe kann durch verschiedene Umstände, Zubereitung der Fischplatte, Verunreinigung in der Küche, langes Aufbewahren usw. begünstigt werden.

Die erwähnten Infektionsversuche wurden mit einer nichtverflüssigenden Bakterienart vorgenommen. Es schien wünschenswert, dieselben mit einem verflüssigenden, den Fäulnisbakterien entsprechenden Mikroorganismus anzustellen. Aus diesem Grunde wurde in einer weiteren Versuchsreihe je ein rohes pasteurisiertes und gekochtes Stück Fischfleisch mit *B. vulgare* und mit *B. paratyphi* infiziert. Drei weitere Stücke dienten zur Kontrolle. Alle Stücke wurden in Sauce resp. Wasser bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die drei mit *Proteus* infizierten Stücke waren schon nach wenigen Tagen durch einen unangenehmen Geruch ausgezeichnet und nach einer Woche in einen übelriechenden Brei aufgelöst. Dagegen ließen sich die mit *B. paratyphi* infizierten Stücke von den Kontrollstücken nicht unterscheiden. Dieser Versuch scheint insofern interessant, als er uns den Unterschied in der Wirkung der gewöhnlichen Fäulnisbakterien und der *Koliparatyphus*-Gruppe deutlich illustriert. Die letztere bedingt keine leicht wahrnehmbare Veränderungen, während *Proteus* in kurzer Zeit durch den unangenehmen Geruch wahrnehmbar ist.

Tierversuche.

Zu diesen Versuchen wurden Mäuse, Ratten und Meerschweinchen verwendet. Als Material diente in Wasser aufbewahrtes rohes und in Sauce aufbewahrtes gekochtes Fischfleisch. Die Art und Weise der Zu-

bereitung und Aufbewahrung entsprach der bei früheren Versuchen beschriebenen.

Die folgenden Versuchsreihen bezweckten namentlich, die Virulenz des infizierten rohen Fischfleisches und diejenige des infizierten gekochten Fischfleisches zu prüfen und zu vergleichen.

In einer ersten Versuchsreihe (I) wurde mit *B. paratyphi* infiziertes Fischfleisch Mäusen verfüttert. Die Fütterung ergab insofern ein positives Resultat, als alle 4 Mäuse zugrunde gegangen sind. Ein Unterschied in der Wirkung des rohen und des gekochten Materials war hier nicht zu konstatieren. Ähnliche Fütterungsversuche mit weißen Ratten verliefen alle negativ. Von dieser Art von Versuchen an Mäusen wurde abgesehen, da diese Tiere sich als zu empfindlich erwiesen.

Bei den weiteren Versuchen wurde die Injektionsmethode angewendet, d. h. es wurde Brühe von gekochten, bzw. wässriger Aufguß von rohem Fischfleisch dem Tiere subkutan injiziert.

In der zweiten Versuchsreihe (II), in welcher alle 4 Meerschweinchen infiziertes Material erhielten, gingen alle Tiere zugrunde. Es stellte sich dabei heraus, daß die mit Brühe von gekochtem Fisch infizierten Tiere schon nach einem bzw. 2 Tagen, die mit wässrigem Aufguß von rohem Fleisch infizierten erst nach 3 bzw. 6 Tagen starben.

In weiteren in derselben Weise vorgenommenen Versuchen, bei denen auch nicht infiziertes Material zur Verwendung gelangte, stellte sich heraus, daß auch die Brühe von nicht infiziertem gekochtem Fisch für Meerschweinchen (III, 4), Mäuse (IV, 4 u. 5) und Ratten (VI, 4) pathogen war. Immerhin berechtigen die letzteren 4 Versuchsreihen zu der Annahme, daß die mit *Paratyphus* infizierten Fleischstücke für genannte Tierarten virulenter waren als die nicht infizierten.

Ferner geht aus der Mehrzahl der 6 Versuchsreihen deutlich hervor, daß die Brühe des gekochten Fischfleisches virulenter ist als der wässrige Aufguß des rohen.

Bei der Sektion der Tiere wurde das Herzblut jeweils bakteriologisch untersucht. In der Regel wurde bei Tieren, die absichtlich infiziertes Material erhalten hatten, das *B. paratyphi* gefunden, bei den anderen Tieren, Vertreter der Koligruppe, die sich von ersterem leicht unterscheiden ließen. (Milchgerinnung.)

Interessant ist in diesen Versuchen der Nachweis der Virulenz des gekochten, in der gewöhnlichen Weise aufbewahrten, nicht absichtlich infizierten Fischfleisches. Kulturell waren fast regelmäßig Kolibakterien nachgewiesen worden; diese Mikroorganismen erwiesen sich auch als virulent. Der Unterschied in der Virulenz von absichtlich infiziertem und nicht infiziertem Fischfleisch war nur ein quantitativer.

Versuch Nr. I. (Fütterungsversuch.)

Die Tiere wurden mit rohem oder gekochtem Fischfleisch gefüttert, welches 5 Tage zuvor mit dem *B. paratyphi* (Fisch) infiziert und bei Zimmertemperatur bzw. bei 28° C. aufbewahrt worden war.

11. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Maus 1	gekochtes Fischfleisch	mit <i>B. paratyphi</i> infiziert	28° C.	1 Tag
„ 2	rohes „	„ „	Zimmertemp	2 Tagen
„ 3	gekochtes „	„ „	„	5 „
„ 4	rohes „	„ „	28° C.	6 „

Versuch Nr. II.

Subkutane Injektion von $\frac{1}{10}$ cem Brühe bzw. wässrigem Aufguß von infiziertem gekochtem bzw. rohem Fischfleisch.

Die Injektion wurde 5 Tage nach der Infektion vorgenommen.

11. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Meerschw. 1	Brühe von gekochtem Fisch	mit <i>B. paratyphi</i> infiziert	28° C.	1 Tag
„ 2	„	„	Zimmertemp.	2 Tagen
„ 3	wässriger Aufguß von rohem Fisch	„	„	3 „
„ 4	„	„	28° C.	6 „

Versuch Nr. III.

Subkutane Injektion von $\frac{1}{2}$ cem Brühe bzw. wässrigem Aufguß von infiziertem oder nicht infiziertem gekochtem bzw. rohem Fischfleisch.

Die Injektion wurde 2 Tage nach der Infektion vorgenommen.

18. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Meerschw. 1	Brühe von gekochtem Fisch	mit <i>B. paratyphi</i> infiziert	28° C.	1 Tag
„ 2	„	nicht infiziert	28° C.	1 „
„ 3	wässriger Aufguß von rohem Fisch	mit <i>B. paratyphi</i> infiziert	Zimmertemp.	2 Tagen
„ 4	Brühe von gekochtem Fisch	nicht infiziert	„	2 „
„ 5	„	mit <i>B. paratyphi</i> infiziert	„	3 „

Versuch Nr. IV.

Subkutane Injektion von $\frac{1}{20}$ ccm Brühe bzw. wässrigem Aufguß von infiziertem oder nicht infiziertem gekochtem bzw. rohem Fischfleisch.
Die Injektion wurde 2 Tage nach der Infektion vorgenommen.
23. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Maus 1	Brühe von gekochtem Fisch	mit B. paratyphi infiziert	Zimmertemp.	1 Tag
„ 2	wässriger Aufguß von rohem Fisch	„ „	„	2 Tagen
„ 3	Brühe von gekochtem Fisch	„ „	28° C.	3 „
„ 4	„	nicht infiziert	28° C.	4 „
„ 5	„	„ „	Zimmertemp.	4 „

Versuch Nr. V.

Subkutane Injektion von 1 ccm Brühe bzw. wässrigem Aufguß von infiziertem oder nicht infiziertem gekochtem bzw. rohem Fischfleisch.
Die Injektion wurde 4 Tage nach der Infektion vorgenommen.
23. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Ratte 1	Brühe von gekochtem Fisch	mit B. paratyphi infiziert	Zimmertemp.	2 Tagen
„ 2	wässriger Aufguß von rohem Fisch	„ „	„	3 „
„ 3	Brühe von gekochtem Fisch	„ „	28° C.	4 „
„ 4	„	nicht infiziert	Zimmertemp.	} blieb am Leben
„ 5	„	„ „	„	

Versuch Nr. VI.

Subkutane Injektion von 1 ccm Brühe bzw. wässrigem Aufguß von infiziertem oder nicht infiziertem gekochtem bzw. rohem Fischfleisch.
Die Injektion wurde 6 Tage nach der Infektion vorgenommen.
30. Mai 1905.

Versuchstier	Verwendetes Material		Aufbewahrt bei	Gestorben nach
Ratte 1	Brühe von gekochtem Fisch	mit B. paratyphi infiziert	Zimmertemp.	1 Tag
„ 2	„	„ „	28° C.	2 Tagen
„ 3	wässriger Aufguß von rohem Fisch	„ „	28° C.	3 „
„ 4	Brühe v. gek. Fisch	nicht infiziert	Zimmertemp.	3 „
„ 5	wässr. Aufg. v. roh. F.	„ „	„	} blieb am Leben
„ 6	„ „	mit B. paratyphi infiziert	„	

Unser Untersuchungsmaterial bestand, wie anfangs erwähnt, aus Exemplaren verschiedener Fischarten, hauptsächlich aus Süßwasserfischen. Wir fanden bei keinem der 40 untersuchten Fische eine spezielle Bakterienflora. In allen rohen oder gekochten Fischen wurden hauptsächlich Bakterien der Koli- und Proteusgruppe gefunden, die an Zahl und Größe die anderen Mikroorganismen weit übertrafen. In allen frischen oder längere Zeit aufbewahrten Fischen war die Gruppe der Kolibakterien zahlreicher vertreten als die Proteusgruppe; besonders wichtig waren die Versuche mit gekochtem Fisch, wo dies Verhältnis am deutlichsten zutage trat. Das auf gewöhnliche Weise gekochte Fleisch erwies sich als nicht steril; es ist im Gegenteil ein günstiger Nährboden für Mikroorganismen, namentlich für die Koligruppe. Schon bei gewöhnlicher Temperatur ist die Zahl der Bakterien eine beträchtliche, so daß eine Platinöse Fischfleisch genügt, um eine große Anzahl Kolonien zu erhalten. Wird das gekochte Fleisch bei höherer Temperatur (23 bzw. 27° C.) aufbewahrt, so sind nach 24 Stunden die Kolibakterien schon in so großer Zahl vorhanden, daß das mit der Spitze des Platindrahtes entnommene Material auf die Gelatineplatte übertragen, unzählbare Kolonien zur Entwicklung bringt. Trotz der Menge und des raschen Wachstums dieser Kolibakterien wurde bei unseren Untersuchungen das Fischfleisch in Aussehen und Geruch nicht wesentlich verändert. Anders verhält es sich, wenn, wie wir dies künstlich versuchten, Proteus dem gekochten Fisch beigemischt wird. Es findet auch hier eine üppige Entwicklung statt, gleichzeitig wird aber das Fleisch unter typischen Fäulniserscheinungen sehr stark verändert. Unter natürlichen Verhältnissen sind, soweit unsere Versuche ein Urteil gestatten, die Vertreter der Koligruppe in überwiegender Mehrzahl und scheinen der raschen Vermehrung von Proteus und der Zersetzung des Fleisches bis zu einem gewissen Grade hinderlich zu sein. Ein eigentlicher Antagonismus dieser beiden Bakteriengruppen konnte nicht konstatiert werden. Was die Versuche mit einem pathogenen Mikroorganismus der Kolityphusgruppe, dem *B. paratyphi* (Fisch) betrifft, so fand dieses Bakterium, absichtlich in gekochtes Fischfleisch daselbst einen günstigen Nährboden, auf welchem es sich rasch vermehrte.

Anärobe Bakterien wurden von uns sowohl bei der direkten mikroskopischen Untersuchung des Fischfleisches als auch in den Kulturen nur in geringer Zahl beobachtet, doch wollen wir die Möglichkeit nicht ausschließen, daß auch anaerobe Mikroorganismen unter gewissen Bedingungen sich im Fischfleisch üppig entwickeln können.

Unsere Tierversuche gestatten eine bestimmte Schlußfolgerung über die Bedingungen, unter welchen die Schädlichkeit des Fischfleisches

auftritt, nicht. Die an weißen Mäusen und Ratten vorgenommenen Fütterungsversuche führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. Die gefütterten Mäuse starben alle, während die Ratten am Leben blieben. Die Injektionsversuche an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen ergaben uns einige interessante Resultate. Wurde Fischbrühe oder ein Aufguß von rohem Fisch diesen Tieren subkutan injiziert, so trat fast regelmäßig der Tod ein. Bei der Sektion wurden die Kolibakterien im Herzblut nachgewiesen, so daß die Annahme berechtigt ist, daß diese Bakterien die Pathogenität des Fleisches bedingt haben. Die Tiere starben nicht alle in gleicher Zeit nach der Injektion; das gekochte Fischfleisch und dessen Brühe erwiesen sich virulenter, als das rohe Fischfleisch und dessen Aufguß. Wurde statt gewöhnlichem nicht absichtlich infiziertem Material mit *Paratyphus* beschicktes injiziert, so war der Erfolg ein gleicher; die Versuchstiere gingen zugrunde. Bei der Sektion wurde in diesem Falle im Herzblut das *B. paratyphi* gefunden, das sich leicht von den Kolibakterien unterscheiden ließ. (Milchgerinnung.) Ein deutlicher Unterschied in der Pathogenität des absichtlich infizierten und des nicht infizierten Fischfleisches ließ sich nicht feststellen.

Wie können wir uns nun das Zustandekommen einer Fischvergiftung erklären?

Nach dem in der Einleitung Gesagten ist eine große Ähnlichkeit zwischen den Krankheitserscheinungen der gewöhnlichen Fleischvergiftungen und den Fischvergiftungen. Die meisten Autoren nehmen an, daß der Genuß vom Fleische kranker Tiere in erster Linie solche Symptome veranlaßt. Immerhin sind eine Reihe von Fällen bekannt, wo nach Genuß von in Zersetzung übergehendem Fleisch gesunder Tiere dasselbe Krankheitsbild auftrat. Dies gilt wohl auch für die Fischvergiftungen; daß das Fleisch von einem kranken Tiere herrühren muß, scheint nicht für alle Fälle erforderlich. Auch in dem Falle, der diese Untersuchung veranlaßte, liegt kein Grund zu einer solchen Annahme vor. Immerhin ist anzunehmen, daß das Fleisch kranker Fische für die Entwicklung pathogener Mikroorganismen einen günstigeren Nährboden darstellt als dasjenige gesunder. Aus unseren Untersuchungen geht aber deutlich hervor, daß auch das Fleisch gesunder Fische für die Entwicklung der Bakterien sehr geeignet ist und daß ihre Vermehrung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur schon eine sehr beträchtliche ist. Nach diesen Überlegungen können wir uns das Auftreten einer Fischvergiftung folgendermaßen erklären:

Die Fische zeigen im rohen Zustande namentlich bei hoher Sommer-temperatur schon einen ziemlich großen Bakteriengehalt; durch das ge-

wöhnliche Kochen werden nicht alle Mikroorganismen abgetötet. Wird der Fisch längere Zeit aufbewahrt, entwickeln sich dieselben weiter und ihre Zahl wird durch neu hinzutretende noch vermehrt. Die Menge der in einem solchem Fische vorhandenen Mikroorganismen ist eine enorme. Namentlich zahlreich sind die Vertreter der Koli- und Proteusgruppe. Wir wissen, daß der Genuß großer Mengen dieser Bakterienarten im Fleische zu schweren Magendarmstörungen führen kann. Wenn wir auch nicht mit aller Sicherheit der Koligruppe die alleinige Bedeutung für diese Erkrankungen zuschreiben und die Möglichkeit einer Mischinfektion nicht ausschließen wollen, so erscheint uns doch die Koligruppe vor allem in Betracht zu kommen. Unsere Versuche ergaben nämlich, daß die Proteusinfektion schon nach kurzer Zeit wahrnehmbare Veränderungen des Fleisches (Fäulnisgeruch, Zersetzung) bedingt, was bei Koli nicht der Fall ist; zudem waren die Kolibakterien bei allen Untersuchungen stets in größerer Menge vertreten als Proteus.

Schlußfolgerungen.

1. Die Zahl der Bakterien in rohem Fischfleische ist schon bei gewöhnlicher Temperatur eine beträchtliche. Namentlich sind zwei Gruppen vertreten:

- eine die Gelatine nicht verflüssigende (Koligruppe),
- eine die Gelatine verflüssigende (Proteusgruppe).

An Zahl und Wachstum herrschen die Kolibakterien vor.

2. Wird ein Fisch frisch gekauft und auf die gewöhnliche Weise zubereitet, so ist nach der Zubereitung sein Fleisch nicht steril. Es stellt einen günstigen Nährboden für die Mikroorganismen dar. Die Vermehrung derselben kann namentlich bei höherer Temperatur eine enorme werden. Auch im gekochten Fleische herrschen die beiden unter 1. erwähnten Gruppen vor, doch steht hier die Proteusgruppe an Zahl und Wachstum noch weiter hinter den Kolibakterien zurück.

3. Nach Fütterung konnte kein deutlicher Unterschied in der Virulenz des rohen und des gekochten Fischfleisches konstatiert werden. Nach subkutaner Injektion gingen mit Brühe von gekochtem Fisch infizierte Mäuse, Ratten, Meerschweinchen rascher zugrunde als solche, welche mit wässerigem Aufguß von rohem Fisch infiziert waren.

4. Wurde das *B. paratyphi* (Fisch) in gekochtes Fischfleisch gebracht, so entwickelte es sich üppig. Tierversuche ergaben keinen deutlichen

Unterschied in der Virulenz des mit *B. paratyphi* infizierten und des nicht infizierten Fischfleisches.

5. Auch *Proteus* vermehrt sich rasch im gekochten Fleisch und bedingt früh eintretende Fäulniserscheinungen (unangenehmer Geruch, Zersetzung).

6. Aus unseren Versuchen geht die praktisch wichtige Beobachtung hervor, daß sich die Mikroorganismen in gekochtem Fischfleisch namentlich bei höheren Temperaturen in großer Menge entwickeln und daß es nicht unbedenklich erscheint, Fischfleisch im Sommer später als 24 Stunden nach dem Kochen zu genießen.

Literatur-Verzeichnis.

- Horschelmann, Zwei Fälle von Fleischvergiftung. *Petersb. med. Zeitschrift*. 1866. Bd. X. Hft. 4 u. 5.
- F. Münchmeyer, Vergiftung durch Rogen von *Cyprinus Barbus*. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1875.
- F. Hermann, Vergiftung durch gesalzene und gedörrte Fische. *Petersb. med. Wochenschrift*. 1878.
- J. Schreiber, Über Fischvergiftung. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1884. Nr. 11 und 12.
- Alexander, Über Fischvergiftung. *Breslauer Zeitschrift*. 1880. Nr. 3.
- v. Sobbe, Ein bemerkenswerter Fall von Fischvergiftung. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1889. Nr. 2.
- M. Arustamon, Über die Natur des Fischgiftes. *Therapeut. Monatsschrift*. Juni 1892.
- Fischl u. Enoch, Ein Beitrag zur Lehre von den Fischgiften. *Fortschritte der Medicin*. 1892. Bd. X.
- Charrin, L'infection chez les poissons. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1893.
- Sieber-Schumow, Contribution à l'étude des poissons venimeux. Sur le bacillus piscidicus agilis. *Arch. des sciences biol. d. St. Petersburg*. 1894. — Siehe auch *Centralblatt für Bakteriologie*. 1895. Bd. XVIII.
- Newsholme, *Brit. med. Journ.* 1896. Vol. II. p. 639.
- O. Wyss, Über eine Fischseuche durch *Bacterium vulgare*. *Diese Zeitschrift*. 1898. Bd. XXVII.
- B. Fischer, Zur Ätiologie der sogen. Fleischvergiftungen. *Ebenda*. 1902. Bd. XXXIX.
- Seidel, Über Fischvergiftung. *Ebenda*. 1902.
- van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. Kolle-Wassermanns *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. 1903.
- Babes und Riegler, Über eine Fischepidemie bei Bukarest. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1903. Bd. XXXIII.
- A. Marxer, *Beitrag z. Frage d. Bakteriengehaltes d. Fleisches*. Straßburg 1903.
- H. Trautmann, Die Bazillen der Fleischvergiftung u. des Paratyphus. *Diese Zeitschrift*. 1903. Bd. XLV.
- R. Kobert, *Über Giftfische und Fischgifte*. Stuttgart 1905.
- A. Stoll, Über sieben Fälle von Fischvergiftung. *Korrespondenzbl. f. Schweizer Ärzte*. 1905. Nr. 5. S. 137. — Siehe auch Diskussion über diese Fälle. *Ebenda*. S. 146.
- Vivaldi u. Rodella, Die Austerninfektionen. *Hygien. Rundschau*. 1905. Nr. 4.