

2. Literaturübersicht

2.1. Stamm Myxozoa

Myxozoa sind mehrzellige Parasiten sowohl wirbelloser Wirte als auch hauptsächlich im Wasser lebender Wirbeltiere (CANNING und OKAMURA, 2004). Das Phylum Myxozoa umfasst mikroskopisch kleine oder bis zu einigen Millimetern große, heterotrophe Organismen, die komplizierte multizelluläre Sporen bilden. Die Sporen weisen typische nesselkapselähnlichen Strukturen auf, die als Polkapseln bezeichnet werden (LOM, 1990). Myxozoa sind obligat parasitär. Sie befallen entweder die Körperoberfläche (Kiemen, äußere Haut) oder innere Organe. Es können alle Organe und Gewebe befallen werden, jedoch ist bei den meisten Arten ein gewisser Gewebetropismus ausgeprägt. Myxozoa kommen sowohl in mariner Umwelt als auch in Süßwasserhabitaten vor. Einige Spezies sind bedeutende Pathogene für Speise- Sport-, Teich- und Aquarienfische (MITCHELL, 1977). Sie durchlaufen sowohl einen Wirts- als auch einen Generationswechsel, was zu einem sehr komplexen Entwicklungszyklus führt, der bisher nur für 25 Arten sicher aufgeklärt ist. Allgemein wird angenommen, dass diese 25 Arten den generellen Lebenszyklus der meisten Spezies widerspiegeln, wobei eine Myxosporea- Phase im Vertebratenwirt und eine Actinosporea- Phase im Invertebratenwirt abläuft.

Der Stamm Myxozoa enthält die beiden Klassen **Myxosporea** und **Malacosporea**. Erstere enthalten alle besser bekannten Gattungen, die zwischen Fischen und Anneliden als Wirten wechseln. Letztere enthalten die Gattungen *Buddenbrockia* und *Tetracapsuloides*, die bei Bryozoa (Moostierchen) parasitieren. *Tetracapsuloides* infiziert, ausgehend von den Moostierchen, Fische (Salmoniden) und verursacht eine verlustreiche und wirtschaftlich bedeutsame Nierenerkrankung (die PKD= proliferative kidney disease). *Buddenbrockia* besitzt eine wurmähnliche Gestalt, die von vier longitudinal verlaufenden Muskelsträngen gestützt wird, so dass eine Ähnlichkeit mit einer darmlosen Nematode bilateralen Ursprungs entsteht. Die Körperwand wird aus zwei Zelllagen gebildet (CANNING und OKAMURA, 2004).

Bislang wurden etwa 1350 Myxozoa- Spezies beschrieben, die 52 Gattungen zugeordnet werden (KENT *et al.*, 2001). Die weiteren Ausführungen konzentrieren sich auf die Klasse Myxosporea.

2.2. Biologie der Klasse Myxosporea

2.2.1. Historie

1838 wurden die Myxosporidien von dem deutschen Wissenschaftler J. Müller entdeckt, der sie „Psorosperma“ nannte (aus LOM, 1990). Der Begriff „Myxosporidia“ wurde 1880 von BÜTSCHLI geprägt, der als erster das Trophozystenstadium und die Trophozystenstruktur beschrieb. Er schloss sie in die Klasse Sporozoa (das heutige Phylum Apicomplexa) ein. Im Jahre 1882 beschrieb er die erste Myxidium-Spezies, *Myxidium lieberkuehni* (BÜTSCHLI, 1882).

Ende des 19. Jahrhunderts konnte mehrfach die Sporenentwicklung durch Endogonie in Plasmodien bei verschiedenen Spezies beobachtet werden und es zeichnete sich ab, dass verschiedene Zellen zur Sporenformation beitragen. Die mehrzellige Natur der Sporen ließ ŠTOLC, 1899 vermuten, dass Myxozoa in Wahrheit Vielzeller sind, obwohl sie bisher als Einzeller klassifiziert wurden.

Bis weit über die Hälfte des 20. Jahrhunderts hinaus waren Myxosporidien und Microsporidien gemeinsam den Cnidosporidia Doflein, 1901 zugeordnet und wurden somit mit den Sporozoa als verwandt angesehen. 1910 wurde den Cnidosporidia die neue Organismengruppe Actinomyxidia (heute Actinosporea), die 1899 von dem tschechischen Wissenschaftler ŠTOLC entdeckt wurde, hinzugefügt. In den nun folgenden Jahren ging man aufgrund des Vorhandenseins ejektiler Organellen und amöboider Zellen in den Sporen weiterhin davon aus, dass Myxosporea, Actinosporea und Microsporea eng verwandt sind.

Laut CANNING und OKAMURA (2004) wurde 1938 durch WEILL die Aufmerksamkeit wieder auf die Mehrzelligkeit der Myxozoa-Sporen gelenkt, indem er einen Vergleich zwischen Myxozoa-Polkapseln und Cnidaria-Nesselkapseln anstellte. Die bemerkenswerte Ähnlichkeit von Polkapseln und Nesselkapseln während ihrer Entwicklung und in der reifen Struktur ließ einen Ursprung der Myxozoa bei den Cnidaria (Nesseltiere) vermuten.

1970 etablierte GRASSÈ das eigenständige Phylum Myxozoa. Die Microsporea werden seit 1977 als ein eigenes Phylum der Protozoa gesehen.

Bis zur bahnbrechenden Entdeckung von MARKIW und WOLF (1984), die erkannten, dass der Lebenszyklus von *Myxobolus cerebralis* den Wechsel einer Myxosporea-Form im Wirtsfisch mit einer Actinosporea-Form in *Tubifex tubifex* (Schlammröhrenwurm) enthält, wurde das Phylum Myxozoa in die beiden Klassen Myxosporea und Actinosporea unterteilt (LEVINE *et al.*, 1980,

LOM und NOBLE, 1984). In den folgenden Jahren beinhaltete das Phylum Myxozoa lediglich die Klasse Myxosporia (KENT *et al.*, 1994). Im Jahre 2000 wurde durch CANNING *et al.* die neue Klasse Malacosporea mit der einzigen Ordnung Malacovalvulida und der einzigen Familie Saccosporidae beschrieben und taxonomisch etabliert.

2.2.2. Taxonomie

Der Stamm Myxozoa gehört ins Tierreich (Regnum Animalia) und dort in das Unterreich Vielzeller (Subregnum Metazoa). Er wird der Unterabteilung Hohltiere (Coelenterata) zugeordnet.

Die weitere Taxonomie ist hier dargestellt nach CANNING und OKAMURA (2004) mit Anmerkungen aus LEVINE *et al.* (1980), LOM (1984) und KENT (2001).

Phylum: Myxozoa Grassé, 1970

Sporen multizellulärer Herkunft mit ein oder mehr Polkapseln und Sporoplasma, alle parasitisch

Klasse: MYXOSPOREA Bütschli, 1881

Spore mit einem oder zwei Sporoplasmen und 1-7 (meist zwei) Polkapseln und Schalenklappen, jede Polkapsel mit aufgewundenem Polarfilament, gewöhnlich zwei, jedoch bis zu sechs Sporenklappen, Trophozitenstadium gut entwickelt, häufig amöboide Gestalt, coelozoisch oder histozoisch

Ordnung: Bivalvulida Shulmann, 1959

zwei Klappen, zwei Polkapseln (selten 1-4)

Unterordnung: Sphaeromyxina Lom et Noble, 1984

mit kurzem, sehr breitem, bortenähnlichen Polarfilament, das in der Polkapsel nicht spiralig aufgewunden ist, zwei Polkapseln an entgegengesetzten Enden der Spore

Familie: Sphaeromyxidae Lom, 1984

Gattung: *Sphaeromyxa* Thélohan, 1892

Unterordnung: Variisporina Lom et Noble, 1984

Polkapseln nehmen verschiedene Positionen in der Spore ein, marin und Süßwasser, meist coelozoisch

Familie Myxiidae Thélohan, 1892

Spindelförmige oder ellipsoide Sporen mit zwei Polkapseln (bei *Coccomyxa* eine reduziert), die an entgegengesetzten Enden der Spore lokalisiert sind, wo sie terminal oder leicht lateral entladen, die Naht ist longitudinal gelegen

Gattungen: *Myxidium* Bütschli, 1882, *Zschokkella* Auerbach, 1910, *Coccomyxa* Leger et Hess, 1907

Familie Ortholineidae Lom, 1984

Gattungen: *Ortholinea* Shulman, 1962, *Neomyxobolus* Chen et Hsieh, 1960

Familie Sinuolineidae Shulman, 1959

Gattungen: *Sinuolinea* Davis, 1917, *Davisia*, Laird, 1953, *Myxoproteus*, Doflein, 1898, *Bipteria* Kovaleva, Zubchenko et Krasin, 1983, *Shulmania*, Kovalenka, Zubchenko et Krasin, 1983

Familie Fabesporidae Naidenova et Zaika, 1969

Gattung: *Fabespora* Naidenova et Zaika, 1969

Familie Ceratomyxidae Doflein, 1899

Gattungen: *Leptotheca* Doflein, 1892, *Ceratomyxa* Thélohan, 1892

Familie Sphaerosporidae Davis, 1917

Gattungen: *Sphaerospora* Thélohan, 1892, *Wardia* Kudo, 1919, *Palliatius* Shulman, Kovaleva et Dubina, 1979, *Myxobilatus* Davis, 1944, *Hoferellus* Berg, 1892

Familie Chloromyxidae Thélohan, 1982

Gattungen: *Chloromyxum* Mingazzini, 1890, *Caudomyxum* Bauer, 1948, *Agarella* Dunkerly, 1915

Familie Auerbachiidae Evokinova, 1973

Gattungen: *Auerbachia* Meglitsch, 1968, *Globospora* Lom, Noble et Laird, 1975

Familie Alatosporidae Shulman, Kovaleva et Dubina, 1979

Gattungen: *Alatospora* Shulman, Kovaleva et Dubina, 1979, *Pseudoalatospora* Kovaleva et Gaievskaya, 1983

Familie Parvikapsulidae Shulman, 1953

Gattung: *Parvicapsula* Shulman, 1953, *Neoparvicapsula* Kovaleva et Gaievskaya, 1981

Unterordnung: Platysporina Kudo, 1919

Sporen mit zwei Polkapseln an einem Pol in der Nahtebene, Sporen bilateral symmetrisch, marin und Süßwasser, meist histozoisch bei Süßwasserfischen mit großen polysporen Trophozoiten

Familie Myxobolidae Thélohan, 1982

Sporen parallel zur Nahtlinie abgeflacht, die Naht bildet einen erhöhten Rücken, und kann in lange Projektionen ausgezogen sein, eine der zwei (selten vier) Polkapseln kann kleiner sein, Glykogenreserven im Sporoplasma in Form einer iodophilen Vakuole

Gattungen: *Myxobolus* Bütschli, 1882 (= *Myxosoma* Thélohan, 1892), *Thelohanellus* Kudo, 1933, *Lomosporus* Sushma et Khera, 1988, *Unicauda* Davis, 1944, *Dicauda* Hoffman et Walker, 1978, *Henneguya* Thélohan, 1892, *Spirosuturia* Chen et Hsieh, 1987, *Phlogospora* Qadri, 1962, *Trigonosporus* Hoshina, 1952, *Neohenneguya* Tripathi, 1953

Ordnung: Multivalvulida Shulman, 1959

Radial symmetrische Sporen mit drei bis sieben Klappen, meist ähnliche Anzahl von Polkapseln, die gemeinsam am Apex der Spore gruppiert sind, meist histozoisch, meist marin

Familie Trilosporidae Shulman, 1959

Gattungen: *Trilospora* Noble, 1939, *Unicapsula* Davis, 1924

Familie Kudoidae Meglitsch, 1960

Gattung: *Kudoa* Meglitsch, 1947

Familie Pentacapsulidae Naidenova et Zaika, 1970

Gattung: *Pentacapsula* Naidenova et Zaika, 1970

Familie Hexacapsulidae Shulman, 1969

Gattung: *Hexacapsula* Arai et Matsumoto, 1953

Familie Septemcapsulidae Hsieh et Chen, 1984

Gattung: *Septemcapsula* Hsieh et Chen, 1984

Klasse: MALACOSPOREA Canning, Curry, Feist, Longshaw und Okamura, 2000

Süßwasser, weiche Klappen, Parasiten der Bryozoa

Ordnung: Malacovalvulida Canning, Curry, Feist, Longshaw und Okamura, 2000

Familie Saccosporidae Canning, Okamura et Curry, 1996

Gattungen: *Buddenbrockia* Schröder, 1910, *Tetracapsuloides* Canning, Tops, Curry, Wood et Okamura, 2002

2.2.3. Vorkommen

a) Wirte

Über Myxosporea wird v.a. im Zusammenhang mit kommerziell wichtigen Wirtsfischen berichtet, aber auch Wirbellose und zahlreiche höhere Wirbeltiere wurden als Wirte beschrieben.

Unter den wirbellosen Wirten wurden Angehörige der Stämme Anneliden (Ringelwürmer), Plathelminthes (Plattwürmer) und Sipunculida (Spritzwürmer) beschrieben. In diesen Invertebraten Wirten sind überwiegend die Actinosporea- Formen der Myxosporea zu finden.

Der erste beschriebene Invertebrat, bei dem eine Verbindung zwischen dem in ihm parasitierenden Actinosporeum mit dem fisch- parasitierendem Myxosporeum hergestellt werden konnte, war *Tubifex tubifex*, ein Oligochaet (MARKIW und WOLF, 1984). 1997 fanden BARTHOLOMEW *et al.* heraus, dass der Süßwasserpolychaet *Manayunkia speciosa* als Zwischenwirt in den Lebenszyklus von *Ceratomyxa shasta*, einem Parasiten der Salmoniden, involviert ist. KENT *et al.* (2001) listen 25 wirbellose Wirte auf, bei denen es sich ebenfalls hauptsächlich um aquatische

Süßwasser- Anneliden handelt und bei denen die Verbindung zum fischinfizierenden Myxosporea- Stadium bekannt ist.

Es gibt eine Vielzahl weiterer mariner Anneliden, die Actinosporea- Stadien beherbergen, denen aber noch keine Myxosporea- Form zugeordnet werden konnte (CANNING und OKAMURA, 2004).

Zweimal wurden mit typischen Myxosporea- Sporen infizierte Trematoden (Saugwürmer) in Fischen gefunden, wobei die sie beherbergenden Fische nicht mit Myxosporea infiziert waren (OVERSTREET, 1976, SIAU *et al.*, 1981).

Actinosporea- Stadien wurden außerdem bei zahlreichen Sipunculiden beschrieben. Die entsprechenden Myxosporea- Stadien in den Wirbeltierwirten sind allerdings bisher noch nicht bekannt (LOM, 1990).

Die häufigsten Wirbeltier- Wirte sind Knochenfische. Es gibt aber auch Berichte über Myxosporea bei Amphibien, Schildkröten, Maulwürfen und Menschen.

Die wichtigsten durch Myxosporea hervorgerufenen Krankheiten bei Fischen sind die Drehkrankheit der Salmoniden (*Myxobolus cerebralis*), die Beulenkrankheit der Barben (*Myxobolus pfeifferi*), die Schwimmblasenentzündung der Karpfenbrut und die Nierensphaerosporose der Karpfen (*Sphaerospora renicola*) sowie die durch *Ceratomyxa shasta* hervorgerufene Darm- Erkrankung der Salmoniden. Es ergeben sich große ökonomische Verluste durch die Muskelinfektion mariner Nahrungsfische mit *Kudoa* sp., *Hexacapsula* sp., *Henneguya* sp. und *Myxobolus* sp. bei verschiedenen Lachsen und Weißfischen, da durch die Infektion eine Liquidifizierung des Fleisches hervorgerufen wird. Die Folge davon sind unansehnliches Aussehen und veränderter Geschmack, was zur Verwerfung des betroffenen Fangs führt.

1889 wurde von LUTZ eine Myxosporidie, *Sphaeromyxa immersa*, in der Gallenblase der Aga-Kröte, *Bufo marinus*, entdeckt. 1919 waren KUDO bereits acht Myxosporidienspezies bei Amphibien bekannt. Im Jahre 1940 fanden KUDO und SPRANGUE sowie unabhängig davon CHAKRAVARTY Myxosporea- Arten bei Kröten bzw. bei verschiedenen Froschspezies. Schon einige Jahre zuvor beschrieb CARINI (1932) eine andere Myxosporea- Art bei verschiedenen brasilianischen Amphibien. Weitere Beschreibungen finden sich bei DESSER, LOM und DY-

KOVA (1986), UPTON *et al.* (1992), UPTON *et al.* (1995), HILL *et al.* (1997), BROWNE *et al.* (2002) sowie MUTSCHMANN (1999 und 2004).

Lange Zeit ging man davon aus, dass nur poikilotherme Vertebraten für eine Myxosporea- Infektion empfänglich wären. Doch im Jahre 2000 berichteten FRIEDRICH *et al.* von einem Myxozoa- ähnlichen Parasiten im Gehirn von Maulwürfen, *Talpa europaea*. Interessant dabei ist, dass der Lebenszyklus mit einem vollständig terrestrischen Vertebraten wie dem Maulwurf einen terrestrischen Invertebraten wie etwa den Regenwurm enthalten müsste, wenn der Infektionsweg nach den bisherigen Erkenntnissen erfolgt.

LOWENSTINE *et al.* (2002) berichteten über sechs Fälle von infizierten Enten in Zoologischen Gärten, wobei Entwicklungsstadien und reife Myxosporea- typische Sporen in Entzündungsherden der Gallengänge und nach Freisetzung aus rupturierten Gallengängen im Leberparenchym gefunden wurden. Ein hypothetischer Lebenszyklus, der sowohl die Enten als auch aquatische Invertebraten als Wirte umfasst, würde mit den wenigen bisher bekannten Mustern der Myxosporea- Lebenszyklen übereinstimmen.

Es wurde sogar mehrfach von Sporen in Stuhlproben von Durchfallpatienten berichtet (McCELLAND *et al.*, 1997, BOREHAM *et al.*, 1998, LEBDAD and WILLCOX, 1998, MONACADA *et al.*, 2001, HESSEN und ZAMZAME, 2004), wobei Infektionswege und Pathogenität für den Menschen ein völlig unbearbeitetes Gebiet darstellen. Es wird davon ausgegangen, dass Bauchschmerzen und/ oder Durchfall, weswegen die Patienten untersucht wurden, andere Ursachen haben und die nachgewiesenen Sporen von verzehrtem Fisch stammen und den Darmtrakt unverändert passieren. Der von MONCADA *et al.* beschriebene Patient war mit HIV infiziert und litt unter einem 18monatigem Durchfall. Myxobolus- ähnliche Sporen wurden zusammen mit dem Kokzidium *Isoospora belli* gefunden, das als Ursache des Durchfalls angesehen wurde. Zwei Monate später wurden die Sporen erneut nachgewiesen. Die Persistenz der Sporen lies die Autoren vermuten, dass es sich um eine echte Infektion handelte, wobei die Quelle der Infektion unbekannt blieb. Es sei denn, die Infektion kam direkt vom Fisch und eine Infektion von Wirbeltieren kann über Myxosporea- Sporen erfolgen. Das widerspricht damit allerdings den (wenigen) bisher bekannten Lebenszyklen.

LOM (1990) fand über 1000 Myxosporea- Spezies, die Knochenfische infizieren, 37 in Elasmobranchii (Plattenkiemern), drei in Agnatha (Kieferlose) zwei in Holostei (Knochenganoiden) und je eine Spezies in Dipnoi (Lungenfische) bzw. Chondrostei (Altfische). 1990 waren dem Autor 17 Myxosporea- Spezies bei Amphibien, acht bei Reptilien und drei bei Invertebraten bekannt. Die Actinosporea- Stadien wurden in zahlreichen marinen Oligochaeta und Sipunculida gefunden.

Nach LOM (1990) scheinen einige Spezies streng wirtsspezifisch zu sein. So infizieren z.B. *Sphaerospora* spp. die Nieren von Karpfenfischen, wohingegen andere Myxosporea- Spezies wie z.B. *Myxobolus cerebralis* sich polyxen verhalten und viele verschiedene Fischarten infizieren.

b) Habitate

Myxosporea kommen weltweit sowohl in mariner Umwelt als auch in Süßwasserhabitaten vor, einige sogar in terrestrischer Umwelt (in Reptilien, im Maulwurf).

c) Vorkommen im Wirt

Nach dem Vorkommen im Wirt werden traditionell zwei große Gruppen unterschieden: die coelozoischen und die histozoischen Myxosporea. Erstere befallen Hohlorgane wie Gallenblase oder Harntrakt und heften sich dort an die Wand oder flotieren frei in den Lumina. Sie kommen jedoch auch ausnahmsweise an anderen Stellen wie Epicard oder Blutgefäßen vor. Häufig ist ein intrazellulärer Parasitismus in den Epithelzellen zu beobachten.

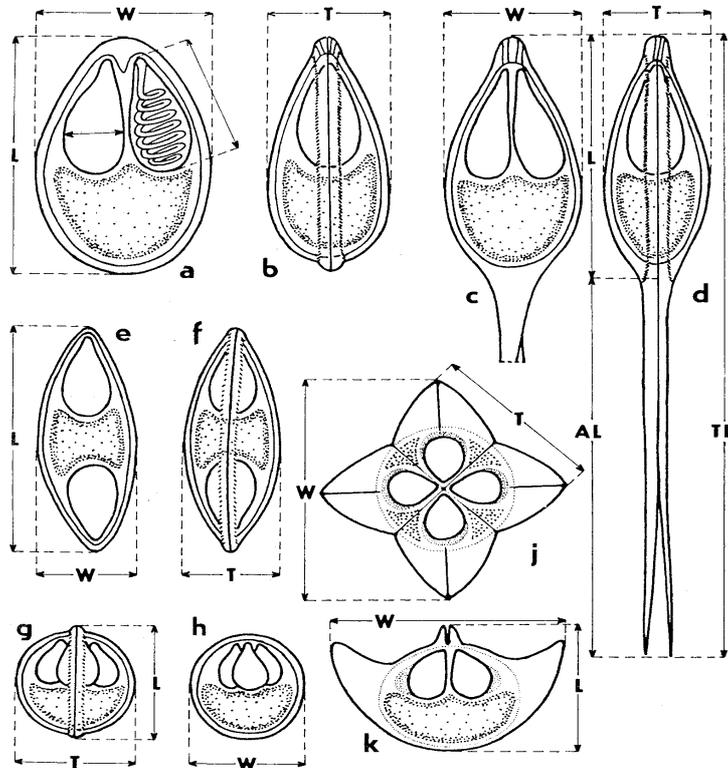
Histozoische Myxosporea leben intrazellulär in verschiedenen Geweben und werden gemeinhin als stärker pathogen für den Wirt betrachtet.

2.2.4. Morphologie

Die Morphologie der verschiedenen Lebensstadien der Myxozoa unterscheidet sich beträchtlich und wird deshalb nacheinander besprochen. Die Myxosporea- Form ist im Vertebraten zu finden, während die Actinosporea- Form in Invertebraten vorkommt. Die hier dargelegten Ausführungen basieren hauptsächlich auf denen von LOM (1990).

a) Myxosporea- Sporen

Abbildung 1 Myxosporea- Sporenmorphologie, aus LOM und ARTHUR, 1989, je in Seiten- und Frontalansicht: a+ b *Myxobolus*, c+d *Henneguya*, e+f *Myxidium*, g+h *Chloromyxum*, j+k *Kudoa*



Myxozoa- Sporen unterscheiden sich grundsätzlich von den umweltresistenten Stadien (Zysten oder Sporen) der Einzeller. Bei den Protozoa ist die Zysten- oder Sporenwand eine nichtlebende schützende Hülle, die um die lebende Zelle sezerniert wird. Dagegen wird bei den Myxozoa-Sporen das infektiöse Stadium (Sporoplasma) von verschiedenen lebenden Zellen umhüllt, die eine protektive Rolle spielen. Die Plurizellularität zeigt sich im Vorhandensein morphologisch und funktionell unterschiedlicher Zellen, die Mitochondrien und andere eukaryotische Organellen enthalten.

Die Sporenform ist sehr variabel, jedoch sind die charakteristischen Bestandteile der Myxosporea- Spore stets vorhanden: die Polkapseln, die Schalenklappen und das Sporoplasma.

Myxosporea- Sporen besitzen eine bis sieben nesselkapselähnliche Polkapseln, die an verschiedenen Polen der Spore oder an einem einzigen Sporenpol lokalisiert sein können. Sie enthalten je ein spiralig aufgewundenes Polarfilament, welches schnell ausgestoßen werden kann. Damit wird eine Verankerungsfunktion erfüllt. Das Polarfilament ist eine hohle Tube, die an einem Ende ge-

geschlossen ist und über die gesamte Länge etwa den gleichen Durchmesser aufweist. Nach dem Ausstülpen ist das Polarfilament klebrig und dient wahrscheinlich dazu, ein schlüpfendes Sporoplasma an der Zelloberfläche des Wirtes zu fixieren. Die Filamente sind innerhalb der Polkapsel in engen oder losen Windungen aufgewickelt, wobei Zahl und Orientierung für die Speziesklassifikation wichtig sind. Eine Ausnahme zum bisher gesagten bildet das kurze Filament von *Sphaeromyxa*, das nicht in regulären Windungen in der Kapsel arrangiert ist und das an der Basis breit und flach ist und zum Ende hin zugespitzt erscheint.

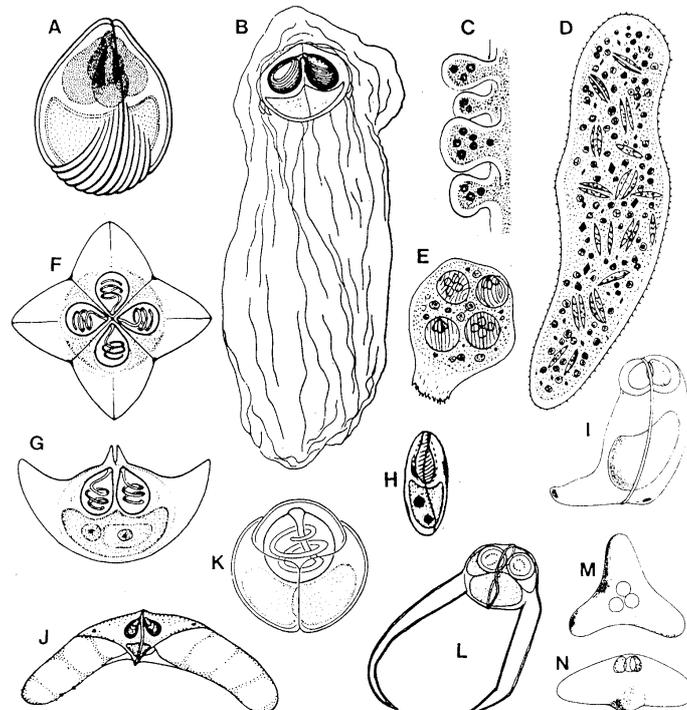
Polkapseln haben kugelige, pyriforme oder ellipsoide Gestalt. Die Kapselwand besteht aus zwei Schichten: einer inneren, elektronentransparenten und einer äußeren Proteinschicht. Die innere Polkapselschicht verschiedener Vertreter der Gattungen *Myxobolus*, *Henneguya* und *Thelohanelus* ist chitinhaltig und daher alkaliresistent (LUKES *et al.*, 1993). Beide Schichten gehen in die Polarfilamentwand über. Die Mündung der Kapsel hat Kontakt mit einer deckelartigen Struktur welche sie abdeckt und den Kanal für die Entladung des Filaments durch die Schalenklappe verschließt. Die deckelartige Struktur könnte als Stopper fungieren, wenn durch seine Verdauung im Darmtrakt des Wirtes die Filamententladung ausgelöst wird. Die Ausstoßung wird möglicherweise durch einen vorgebildeten Druck ausgelöst. Die nötige Energie wird vermutlich während der Kapsulogenese gespeichert, so wie bei den Nesselkapseln der Hohltiere (Coelenterata). Bei der Entladung wird das Filament umgewendet und bleibt an der Spitze der Kapsel befestigt. Nach der Entladung nehmen die Kapseln an Größe beträchtlich ab. Da der Rückgang von Ca^{2+} -Ionen eine Rolle bei der Entladung spielt, kann vermutet werden, dass kontraktile Proteine an dem Ausstoßungsmechanismus teilnehmen. Die Entladung kann artifiziell durch verschiedene Chemikalien ausgelöst werden, z.B. durch gesättigten wässrigen Harnstoff.

Die Sporenwand wird aus ein bis sieben Klappen gebildet. Diese bestehen aus lebenden Zellen und halten durch Zellverbindungen entlang einer oder mehrerer Nahtlinien zusammen. Die Klappen haben eine glatte oder gezahnte Oberfläche und können zu verschiedenen Vorsprüngen ausgezogen sein, einen Kaudalanhang aus einer sezernierten Substanz tragen oder mit einer Schleimhülle umgeben sein. Alle diese Strukturen dienen dazu, die Sporen besser im Wasser flutieren zu lassen und so eine weite Verteilung sicherzustellen. Eine Ausnahme von dieser passiven Fortbewegung bildet *Fabespora vermicola*. Diese ist mithilfe fibrillärer Strukturen, die an den Schalenklappen befestigt sind, zur aktiven Sporenbewegung fähig.

Innerhalb der Spore befindet sich das eigentliche infektiöse Agens, das Sporoplasma, welches amöboide Gestalt besitzt. Dabei handelt es sich entweder um eine einzige, zweikernige Zelle oder um zwei einzellige Sporoplasmen, die entweder Seite an Seite oder eine umhüllt von der anderen vorliegen. Das Cytoplasma ist gekennzeichnet durch die Präsenz von kleinen dense bodies und einer kleineren oder größeren Zahl von β -glykogen Partikeln, die manchmal zu einer Form runder Einschlüsse (iodinophile Vakuole, Glykogenvakuole) konzentriert sind.

Die Sporenformen unterscheiden sich ganz beträchtlich bei verschiedenen Spezies (vgl. Abb. 2). Eine sehr gute Übersicht über die Vielfalt der Sporenmorphologie findet sich in KUDO (1919) und in SHULMAN (1990). Die Sporen der hier interessierenden Gattung *Myxidium* sind spindelförmig und besitzen je eine Polkapsel an jedem Ende, während *Henneguya*- Sporen gut entwickelte, doppelte oder einzelne Kaudalfortsätze besitzen und die beiden Polkapseln an einem Sporende lokalisiert sind (siehe Abb. 1). Zschokella- Sporen ähneln denen von *Myxidium*. Die sphärischen Polarkapseln entladen jedoch im Unterschied zu diesen nicht an den Sporenpolen. Die Sporenmorphologie innerhalb einer Spezies kann sehr variabel sein (SHULMAN, 1990).

Abbildung 2 Morphologie von Sporen und Trophozoiten, aus LOM, 1990, **Sporen:** A- *Chloromyxum*, B- *Palliatus*, F, G- *Kudoa*, H- *Coccomyxa*, I, *Parvicapsula*, J- *Alatospora*, K- *Unicapsula*, L- *Davisia*, M+N- *Trilospora*, **Trophozoite:** C+D- *Myxidium lieberkuhni*, E- *Chloromyxum*



b) Myxosporea- Trophozoiten

Myxosporea- Trophozoite variieren stark in Größe (15 µm- viele Millimeter), Erscheinung und Anzahl der produzierten Sporen (mono-, di- oder polyspore Trophozoiten). Eine Differenzierung in unterschiedliche somatische und generative Zellen ist möglich. Außerdem können häufig hyalines Ekto- und granuläres Endoplasma unterschieden werden.

Myxosporea- Zellen enthalten fast alle Organellen tierischer Zellen (z.B. Mitochondrien, Golgi-Apparate, freie Ribosomen, rauhes endoplasmatisches Retikulum, glattes endoplasmatisches Retikulum, Phagosomen, Lipidtropfen). Ihnen fehlen nur die Zentriolen. Ein typisches Organell sind Sporoplasmosomen. Pinozytotische Vesikel konnten bei der histozoischen Gattung *Henneguya* und den coelozoischen Gattungen *Sphaeromyxa* und *Myxidium* nachgewiesen werden. Die äußere Trophozoitenoberfläche kann Mikrovilli aufweisen. Im Ektoplasma können charakteristische Bündel von Mikrotuben, die mit der Oberfläche der Kerne der generativen Zellen assoziiert sind, vorkommen.

Bei SHULMAN (1990) ist eine umfangreiche Übersicht über die mannigfaltige Morphologie der Myxosporea zu finden. Nach diesem Autor besteht kein deutlicher Unterschied zwischen coelozoischen und histozoischen Plasmodien, da die äußere Form von der Lokalisation des Parasiten und der Wirtsreaktion abhängig ist.

Die meisten coelozoischen Spezies haben kleine Trophozoiten bis etwa 26 µm. Der Trophoziten- Körper kann zu verschiedenen Vorsprüngen und Auswüchsen ausgezogen sein. Diese Vorsprünge verhalten sich oft wie Pseudopodien. Große Plasmodien haben eine gut differenzierte ektoplasmatische Schicht und eine zu Mikrovilli aufgefaltete Zellmembran. Sie enthalten eine größere Anzahl germinativer Zellen, die frei im Cytoplasma flotieren. Diese germinativen Zellen differenzieren sich einerseits in sporogonische Zellen, welche zu Sporen werden und andererseits in Zellen, die sie umhüllen und Pericyten genannt werden. Die Existenz einer dritten Art von Zellen, die Lobozyten genannt werden und eine Straßenkehrerfunktion im Plasmodium erfüllen, wurde von GRASSÈ und LAVETTE (1978) beschrieben. Die Entwicklung der Sporoblasten verläuft nicht synchron. Daher können alle Entwicklungsstadien zur gleichen Zeit gefunden werden. Junge Trophozoiten coelozoischer Spezies können durch die Wände von Hohlorganen dringen und frei im Lumeninhalt flotieren. Die frei flotierenden Stadien bringen aktive pseudopodienartige Bewegungen hervor (MITCHELL, 1977).

Histozoische Trophozoiten sind gewöhnlich große, immobile, kompakte, polyspore Plasmodien. Sie verfügen über eine abgerundete Gestalt und werden häufig durch Wirts- Bindegewebe eingeschlossen. Dadurch können sie für Zysten gehalten werden. Die Transformation generativer Zellen in Sporoblasten und Sporen ist synchronisiert und so bleibt möglicherweise von dem Plasmodium nichts übrig außer den Sporen.

Sehr viel seltener können kleine Pseudoplasmodien über das Gewebe verteilt sein, was den Zustand der „diffusen Infiltration“ darstellt.

Die dritte, ebenfalls seltenere, Daseinsform histozoischer Myxozoa stellt der intrazelluläre Parasitismus dar. Vor allem jüngere Trophozoite sind in dieser Erscheinungsform in Muskelfasern anzutreffen.

c) Actinosporea- Sporen

Die Actinosporea Sporen (siehe Abb. 3) sind nach dem gleichen Grundplan wie die Myxosporea-Sporen gebaut. Die dreistrahlig symmetrischen Sporen sind immer in Gruppen von acht Stück in einer zwei- bis vierzelligen Hülle zusammengepackt. Dieser Komplex wird als Pansporoblast (Pansporozyste) bezeichnet. Die Pansporoblastenhülle, als Episporie bezeichnet, besteht aus drei modifizierten Klappenzellen (Episporalzellen). In den meisten Genera tragen die Episporalzellen extrem lange Anhänge, welche im Pansporoblast im Wirt zusammengepackt und gefaltet sind, aber osmotisch entfaltet werden, sobald sie ins Wasser entlassen werden. Dies führt dazu, dass die Sporen eine ankerähnliche Gestalt annehmen. Die Anhänge sorgen dafür, dass die Spore über lange Zeit schwimmt und die Sporen so über große Gebiete verteilt werden können.

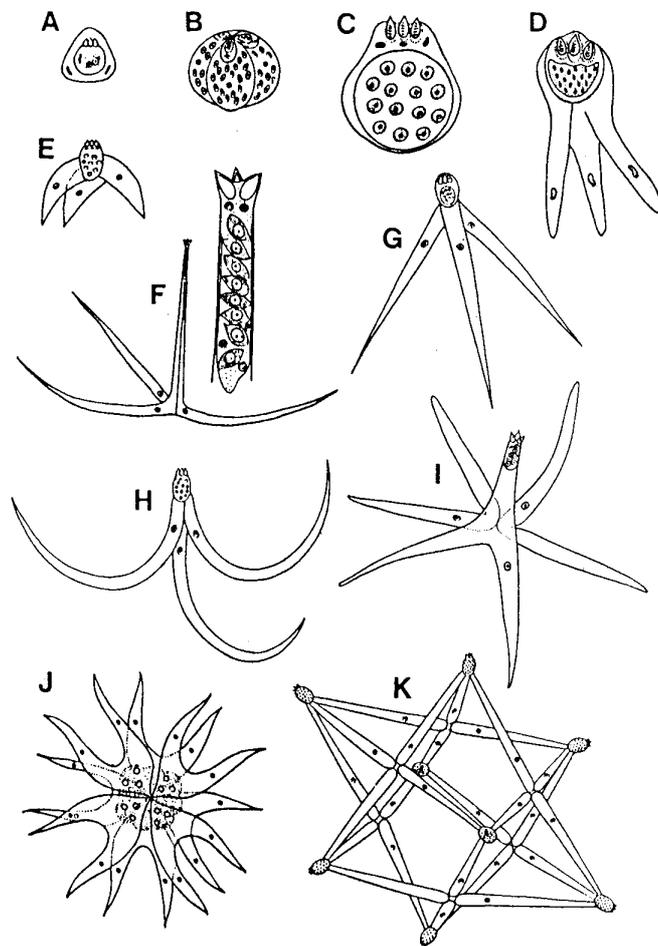
Bei einigen Gattungen greifen die Sporen eines Pansporoblasten mit ihren Anhängen ineinander (*Antonactinomyxon*) und bilden ein Netzwerk mit verbesserter Schwimffähigkeit.

Die Polkapselstruktur entspricht derjenigen der Myxosporea. Drei vorne gelegene Polkapseln werden von Schalenzellen bedeckt, welche eine Lücke für den Filamentausstoß freilassen. Das Sporoplasma ist in einer Kavität zwischen den episporalen Zellen untergebracht. Es kann sich um ein zweikerniges Sporoplasma (*Tetractinomyxon*), ein bis zu 128 einkerniges Sporoplasma oder ein plasmodiales Sporoplasma handeln. Bei *Synactinomyxon* enthält das Sporoplasma zahlreiche innere Zellen, jede gepaart mit einem Plasmodiumkern. Sporoplasmen entstehen innerhalb einer Abdeckung von ein bis zwei spezialisierten Zellen, Endosporenzellen genannt, welche in einigen Genera in den reifen Sporen persistieren.

Eine sehr ausführliche Übersicht über die Ultrastruktur der Actinosporea findet sich in LOM und DYKOVÀ (1997).

Die Actinosporea- Sporen sind kurzlebig, grazil und planktonisch, während die zu Boden sinkenden Myxosporea- Sporen langlebig sind und harten Umweltbedingungen (Frost, Darmpassage) widerstehen (EL- MATBOULI und HOFFMANN, 1998).

Abbildung 3 Morphologie der Actinosporea- Sporen, aus LOM, 1990, A- *Tetractinomyxon*, B- *Sphaeromyxon*, C- *Neoactinomyxon*, D- *Gyenotia*, E- *Aurantiactinomyxon*, F- *Triactinomyxon*, G- *Echinactinomyxon*, H- *Raabeia*, I- *Hexaactinomyxon*, J- *Synactinomyxon*, K- *Antonactinomyxon*



d) Actinosporea- Trophoziten

Actinosporea- Trophozoite sind mit den Myxosporea- Trophozoiten vergleichbar, finden sich allerdings im Gegensatz zu diesen in Invertebraten und haben einen weniger komplexen Bau als diese (LOM und DYKOVÀ, 1997, EL- MATBOULI und HOFFMANN, 1998, MOLNÀR *et al.*, 1999a, MOLNÀR *et al.*, 1999b, ESZTERBAUER *et al.*, 2000; KALLERT *et al.*, 2005).

2.2.5. Reproduktionszyklus

1984 fanden WOLF und MARIW heraus, dass ein Triactinomyxon (Actinosporea) ein Lebenszyklusstadium von *Myxobolus cerebralis* (Myxosporea) ist. Ähnliche Lebenszyklen wurden für weitere 25 Spezies, welche u.a. den Gattungen *Myxidium* und *Henneguya* angehören, ermittelt (BENAJIBA und MARQUES, 1993, KENT *et al.*, 2001).

Bisher wurden von über 25 Süßwasser- Myxozoa die Lebenszyklen aufgeklärt. Über die Übertragung mariner Myxozoa ist allerdings noch nichts bekannt (YOKOYAMA, 2003). Die kompletten Details der Myxozoa- Entwicklung wurden bislang nur für *Myxobolus cerebralis* aufgeklärt und werden daher anhand dieses Beispiels erläutert (siehe Abb. 4).

Myxobolus cerebralis hat einen Lebenszyklus mit zwei Wirten, und in jedem Wirt findet eine Phase der Sporogonie statt.

Tubifex tubifex ist der Endwirt für *Myxobolus cerebralis* und die Regenbogenforelle ist der Zwischenwirt, da sexuelle Entwicklungsstadien nur im Oligochaeten vorkommen (EL- MATBOULI und HOFFMANN, 1998).

Die Exposition der Salmoniden mit *Myxobolus cerebralis* findet entweder durch (Haut-) Kontakt mit Triactinomyxonsporen oder durch Indigestion infizierter *Tubifex tubifex* statt (WOLF und MARKIW, 1984, EL- MATBOULI und HOFFMANN, 1989, EL- MATBOULI *et al.*, 1995). Beim Eindringen über die Haut häufen sich schon fünf Minuten nach der Exposition die Triactinomyxonsporen an den Öffnungen der mukösen Zellen über der gesamten Epidermis, der Maulhöhle und der respiratorischen Epithelzellen der Kiemen an. Die Triactinomyxonsporen stoßen ihre Polarfilamente aus und injizieren sie direkt in die Öffnungen der Schleimzellen oder in die umgebenden Epithelzellen, um sich zu verankern und dem Sporoplasma die Penetration in die Epidermis zu ermöglichen. Fünf bis fünfzehn Minuten nach Exposition bilden sich kompakte Sporoplasma- Aggregate zwischen den Epithelzellen, die von einer lytischen Zone umgeben sind.

a) Die Myxosporea- Entwicklung im Wirtsfisch (nach EL- MATBOULI *et al.*, 1995)

Präsporogonische/ Extrasporogonische Phase

Während der ersten 60 min. nach Penetration wandert das Sporoplasma interzellulär in Epidermis und Kiemenepithel. Dann zersetzt sich die Sporoplasma- umhüllende Zelle und jede der inneren Sporoplasmazellen penetriert eine Wirtsepidermis- oder –kiemenepithelzelle. Diese nun intrazellulär gelegenen Zellen machen eine endogene Zellteilung durch, um so eine innere Sekundärzelle innerhalb einer umhüllenden Primärzelle zu produzieren. Sekundärzellen proliferieren durch schnelle, synchrone Mitosen wobei der Wirtszellkern zwischen den großen Parasitenaggregaten und der Wirtzellmembran komprimiert wird. Die Sekundärzellen machen dann eine Kernteilung durch. Einer der entstehenden Tochterkerne wird von Vesikeln des endoplasmatischen Retikulums umhüllt, um die Zellmembran der Tertiärzelle zu bilden. So entstehen neue Zell- Dubletten mit einer Hüllzelle und einer inneren Zelle. Diese Zell- Dubletten zerreißen die Membran der ursprünglichen Primärzelle und dringen in das Wirtszellzytoplasma ein. An diesem Punkt scheint es so, als ob einige der Zell- Dubletten im Wirtszellzytoplasma zerstört werden. Wenn die Zell- Dubletten frei im Wirtszellzytoplasma sind, durchbohren sie die Wirtszellmembran und dringen in den extrazellulären Raum ein. Die nun extrazellulär gelegenen Zell- Dubletten penetrieren entweder benachbarte Epithelzellen oder wandern tiefer in Dermis- und Subcutis- Schichten. Dort penetrieren sie neue Wirtszellen, wobei der eben beschriebene Kreislauf erneut beginnt. Zwei Tage nach Exposition können die Aggregate der Zell- Dubletten in der Subkutis gefunden werden. Während die Zahl der Parasitenstadien in der Subkutis bis zum vierten Tag nach Exposition abnimmt, nimmt sie im Nervengewebe deutlich zu. Ab Tag 6-14 können die meisten parasitischen Stadien im Wirbelkanal gefunden werden, von Tag 16-24 werden die meisten im Gehirn nachgewiesen. Diese Stadien wiederholen den proliferativen Zyklus in Subcutis und Nervengewebe, allerdings interzellulär.

Eine fehlende Gewebsreaktion des Nervensystems kann mit mangelndem Kontakt mit Blut oder immunkompetenten Zellen erklärt werden (El- MATBOULI *et al.*, 1995).

Einige Myxozoa (z.B. *Sphaerospora* sp.) zeigen massive präsporogonische Replikation in anderen Geweben als jenen, in denen die Sporulation abläuft. Diese Tatsache wies auf eine „extrasporogonische Entwicklung“ hin, welche in einigen pathogenen *Sphaerospora* Spezies vorkommt, wo die massive Proliferation dieser Stadien ernste Gewebeschäden verursachen kann (LOM und DYKOVÁ, 1992).

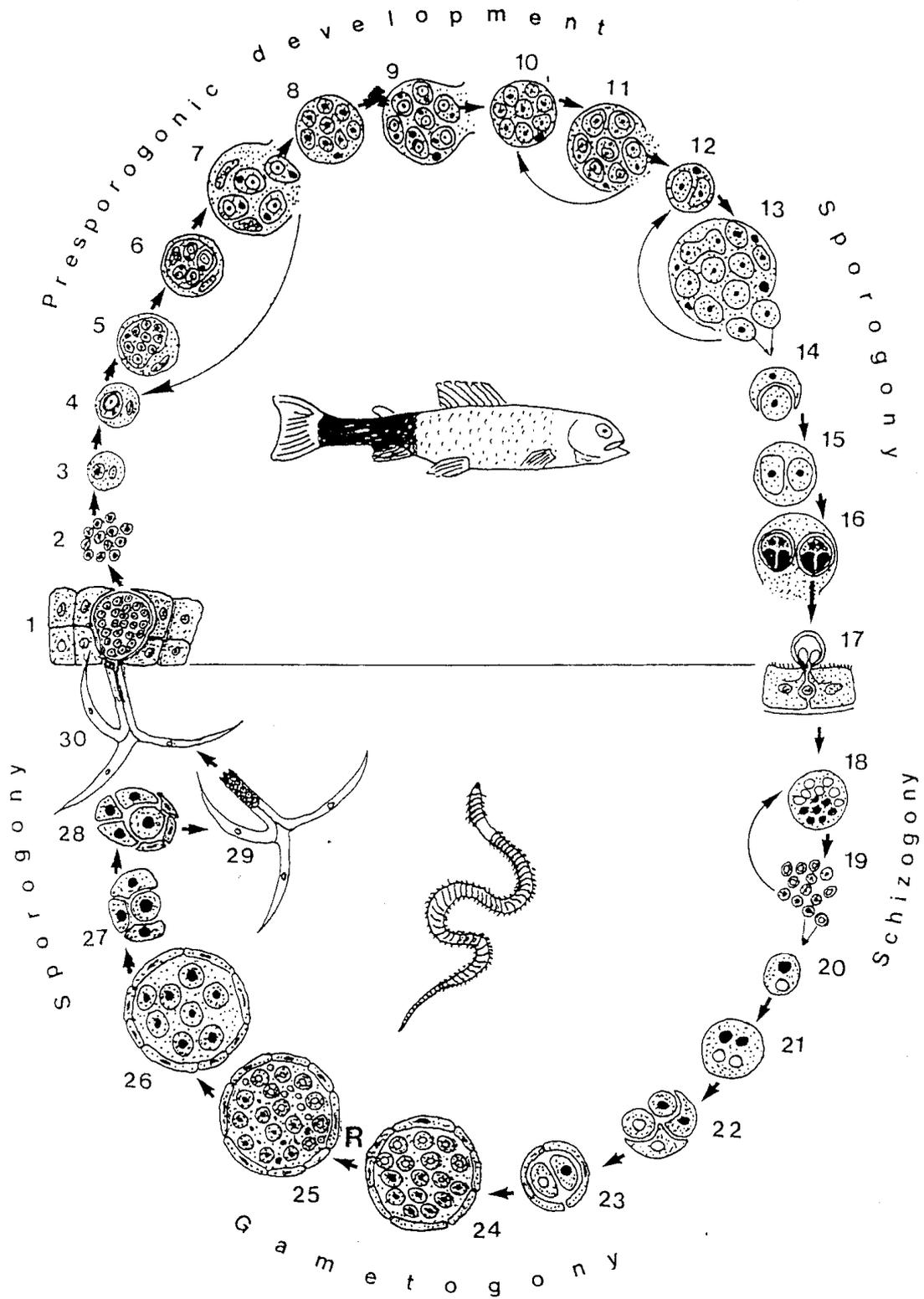
Sporogonische Phase

Am Ort der Sporulation (z.B. Knorpel bei *Myxobolus cerebralis*) entwickelt sich ein Plasmodium. Die Primärzelle wächst und ihr Kern teilt sich, um zahlreiche vegetative Kerne zu bilden, während die umhüllte Sekundärzelle sich teilt und viele sogenannte generative Zellen bildet.

Nach den Beobachtungen von EL-MATBOULI *et al.* (1995) findet nach der Desintegration der Hüllzelle des Plasmodiums entweder die Wiederholung des Zyklus durch jede umhüllte Zelle statt, um zahlreiche Plasmodien zu bilden. Oder es erfolgt die Vereinigung mit einer anderen generativen Zelle. Eine wird zur Pericyte, welche die andere umhüllt. Die innere Zelle bildet die sporogonische Zelle. Diese Einheiten generieren Pansporoblasten mit zwei Sporen (bei *Myxobolus cerebralis*).

Bei jeder Spore umschließen valvugene Zellen (die zu den Sporenklappen werden) die kapsulogenen Zellen (die zu Polkapseln werden) und ein zweikerniges Sporoplasma oder zwei einkernige Sporoplasmen. Myxosporea-Sporen werden schließlich aus dem Wirtsfisch entlassen und sind infektiös für Anneliden.

Abbildung 4 Lebenszyklus von *Myxobolus cerebralis*, aus KENT et al., 2000



b) Die Actinosporea- Entwicklung in Anneliden

Die folgende Beschreibung basiert auf derjenigen von EL- MATBOULI und HOFFMANN (1998).

Schizogonie- proliferative Phase

Der Übergang zur Actinosporea- Entwicklung des Lebenszyklus findet statt, wenn die vom Wirtsfisch entlassenen Stadien von Anneliden (z.B. *Tubifex tubifex*) gefressen werden. Im Darm-lumen des Wurms stoßen die Sporen ihre Polarfilamente aus, durch welche sie am Darmepithel anhaften. Die Sporenklappen öffnen sich entlang der Nahtlinie und das zweikernige Sporoplasma dringt zwischen den Darmepithelzellen ein. Die zum Polarfilamentausstoß führenden Faktoren sind noch unbekannt.

Anschließend machen die beiden diploiden Kerne des Sporoplasmas multiple Teilungen durch und produzieren so mehrkernige Zellen. Diese mehrkernigen Stadien teilen sich durch Plasmotomie, um zahlreiche einkernige Zellen zu produzieren, welche interzellulär durch das Darmepithel des Wurmes wandern. Einige dieser Zellen machen weitere Kern- und Zellteilungen (Schizogonie) durch und bilden zusätzliche einkernige und mehrkernige Zellen. Andere verschmelzen in Plasmotomie und bilden zweikernige Stadien. Diese Phasen finden in einem Zeitraum von über einem Jahr statt.

Gametogonie

Die Kerne der zweikernigen Stadien teilen sich (Karyogamie) und bilden ein vierkerniges Stadium, welches dann eine Plasmotomie durchläuft und so einen frühen Pansporoblasten (Pansporocyst) mit vier Zellen bildet. Im frühen Pansporoblasten befinden sich zwei umhüllende somatische Zellen und zwei generative Zellen, die als α und β bezeichnet werden. Drei mitotische Teilungen der beiden generativen Zellen liefern 16 diploide Gametozysten (8α und 8β), welche dann eine meiotische Teilung durchmachen, um 16 haploide Gametozysten und 16 Polkörper zu produzieren. Jede Gametozyste aus der α - Linie vereint sich mit einer aus der β - Linie um acht Zygoten zu bilden. Synchron dazu teilen sich die beiden somatischen Zellen zweimal mitotisch um acht Hüllzellen zu produzieren

Basierend auf dem Lebenszyklus von *Myxobolus cerebralis* ist dies die einzige Phase des Lebenszykluses, in welcher sexuelle Stadien vorkommen.

Sporogonie

Am Ende der Gametogamie werden die acht Zygoten in jedem Pansporoblasten von acht somatischen Zellen umhüllt. Jede Zygote macht dann zwei mitotische Teilungen durch und bildet ein vier- Zellstadium. Drei Zellen sind peripher gelegen und teilen sich, um drei kapulogene und drei valvugene Zellen zu produzieren, während die vierte zentral gelegene Zelle zahlreiche mitotische Teilungen durchmacht, um das Sporoplasma der Actinosporea- Spore mit seinen zahlreichen inneren Zellen zu bilden. Im späten Sporoblastenstadium entwickeln sich zwei Zellkomplexe separat voneinander: der erste umfasst valvugene und kapsulogene Zellen, der zweite eine Endospore mit dem Sporoplasma- Keim. Beide Komplexe sind nur durch eine schmale Brücke miteinander verbunden. Nachträglich werden kapsulogene Zellen und Sporoplasma in einer Schale aus drei Klappen eingeschlossen. Hinter dem Sporoplasma dehnen die valvogenen Zellen eingefaltete Membranen aus, die sich in die Schalenklappen des Stieles und in die drei Projektionen der Triactinomyxon- Spore umwandeln. Dieses Endstadium, in dem der Pansporoblast 8 (4 bei *Tetraspora*) gefaltete Actinosporea- Sporen enthält, erscheint 90 Tage nach Exposition mit *Myxobolus cerebralis*. Actinosporea- Sporen werden aus dem Wurm freigesetzt und bleiben bis zu 2 Wochen sichtbar (XIAO und DESSER, 2000).

c) Direkte Übertragung

Die direkte Fisch- zu – Fisch- Übertragung ohne eine Actinosporea- Entwicklung kann in einigen Spezies vorkommen. DIAMANT (1997) zeigte, dass *Myxidium leei*, ein histozoischer Parasit des Darmepithels verschiedener mariner Fische direkt von Fisch zu Fisch übertragen werden kann. Dabei wendete er drei unterschiedliche Methoden an: 1) die Verfütterung infizierten Darmmaterials, 2) die gemeinsame Haltung Gesunder mit infizierten Fischen in einem Tank und 3) die Exposition mit dem Abflusswasser eines Tankes, der infizierte Fische enthielt.

Da diese Studien in Lebensgemeinschaften durchgeführt wurden, besteht die Möglichkeit der Infektion durch übertragene Trophozoiten. Deshalb kann es sein, dass Myxosporen dieser Spezies ebenfalls die Entwicklung in einem zweiten Wirt brauchen, um ihren Lebenszyklus zu vollenden. SWEARER und ROBERTSON (1999) berichteten, dass *Kudoa ovivora*, welcher die Eier des Blaukopffjunkers, *Thalassoma bifasciatum* (Lippfisch), infiziert, direkt von Fisch zu Fisch übertragen werden könnte. In dieser Studie wurden Fische benutzt, die aus der Natur entnommen

wurden, und es wird eine definiertere Laborübertragungsstudie benötigt, um diese Beobachtung zu bestätigen.

YASUDA *et al.* (2002) berichten von erfolgreichen direkten Übertragungsversuchen mit *Myxidium fugu* und *Myxidium* sp. TP. Sie nutzten die gleichen Methoden wie DIAMANT (1997). Die Autoren kommen zu der Ansicht, dass die direkte Übertragung mariner Myxosporea, wie *M. leei*, *M. fugu* und *M.* sp. TP ohne Actinosporea- Entwicklung im Invertebraten ablaufen kann, schließen jedoch nicht aus, dass die genannten Spezies natürliche Lebenszyklen mit Invertebratenwirt aufweisen. Sie gehen davon aus, dass nur die Trophozoiten für Fische infektiös sind, während die Sporen nur Invertebraten infizieren.

Wenn die Trophozoiten für die Infektion der Fische verantwortlich sind, müssen sie die Passage durch Magen und Dünndarm überleben, um die Dickdarmmukosa zu erreichen. Beim Experiment mit dem Abfluss- Wasser müssen die Trophozoiten zusätzlich die Exposition mit dem Meerwasser überleben. Die direkte Übertragung schließt die Möglichkeit eines fakultativen Actinosporea- Stadiums nicht aus, sondern könnte eine evolutionäre Abkürzung darstellen (CANNING und OKAMURA, 2004).

2.2.6. Parasit- Wirt- Interaktion

Bei einer großen Anzahl von Myxosporea besteht sowohl Wirts- als auch Gewebespezifität (z.B. *Myxobolus cerebralis* bei Salmoniden). Andererseits sind verschiedene Spezies dafür bekannt eine große Anzahl von Wirten und Geweben zu infizieren.

Bei Fischen wird, relativ zur Anzahl der vorkommenden Myxosporea- Spezies gesehen, nur durch eine geringe Anzahl von ihnen eine ernsthafte Krankheit verursacht. Dies kann jedoch an dem mangelndem Wissen über Myxosporea liegen.

Wenn überhaupt, ist mit einer minimalen Wirtsantwort auf sich entwickelnde histozoische Trophozoiten zu rechnen, die darin besteht, eine bindegewebige Kapsel zu bilden. Erst im finalen Stadium der Infektion mit histozoischen Myxosporea, wenn die „Zyste“ reife Sporen enthält, setzt eine Entzündungsreaktion ein. Diese besteht darin, die Zysten zu granulomatösem Gewebe umzuwandeln (DYKOVÁ und LOM, 1978).

Kleine histozoische Pseudoplasmodien von *Ceratomyxa shasta* und verschiedener Spezies der Gattung *Sphaerospora* können durch massive Infiltration eines oder mehrerer Organe eine hyperplastische Veränderung des Gewebes, Blutungen und Nekrosen hervorrufen (LOM, 1970).

Einige Spezies der Gattungen *Kudoa* und *Hexacapsula* führen zu einer enzymatischen Auflösung des Muskelgewebes, so dass sich Fleisch mariner Fische, die stark mit Trophozoiten infiziert sind, post mortem in eine geleeartige oder milchige Substanz umwandelt.

Coelozoische Spezies scheinen meist harmloser zu sein. Durch die Befestigung der Trophozoiten mithilfe von Pseudopodien an der Gallenblasenwand können jedoch Gallenverfärbung, erhöhte Viskosität der Galle, Verdickung der Gallenblasenwand, Gallengangsobstruktion und Gallenblasendilatation ausgelöst werden (LOM, 1990).

DUNCAN *et al.* berichteten 2004 erstmals davon, dass *Chloromyxum* sp. beim asiatischen Nasenzipfelkrötenfrosch (*Megaphrys nasuta*) zum Tode geführt hatte. Die beobachteten Nierenveränderungen wurden als unterschiedliche Grade tubulärer Dilatation und Nekrose sowie tubulointerstitieller Nephritis, welche mit den vegetativen Stadien assoziiert war, beschrieben.

2.3. Myxosporea bei Schildkröten

Es gibt ausgesprochen wenig Literatur über Myxosporea bei Reptilien (LAVERAN, 1897, BOSANQUET, 1910; KUDO, 1919, CHAKRAVARTY, 1940, JOHNSON, 1969 a, b, MUTSCHMANN; 2003 a, b, HELKE und POYNTON, 2005). Dabei handelt es sich leider fast ausschließlich um Erregerbeschreibungen bei Einzeltieren.

1999 wurde in einer Veröffentlichung der AFIP Wendsday Slide Conference erwähnt, dass 90% von 60 untersuchten juvenilen *Podocnemis unifilis* (Terekay- Klappenschildkröte) eine Myxosporea- Infektion der Nieren aufwiesen (NICHOLS, 1999).

2.3.1. Spezies

Bei Reptilien beschriebene Gattungen sind *Myxidium*, *Henneguya* (WILL, 1975) und *Zschokkella* (CHAKRAVARTY, 1940). Die Wirte sind ausschließlich im Süßwasser lebende Schildkröten.

Abbildung 5 vegetative Stadien (622-624) und Sporen (625-627) von *Myxidium americanum*, aus KUDO, 1919

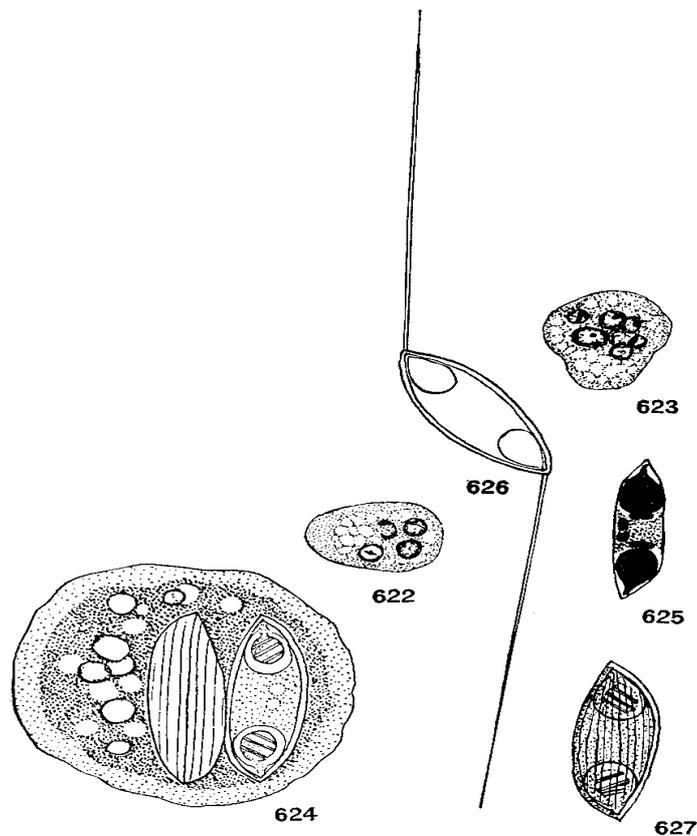


Abbildung 6 *Myxidium chelonarum*- Spore, aus JOHNSON, 1969

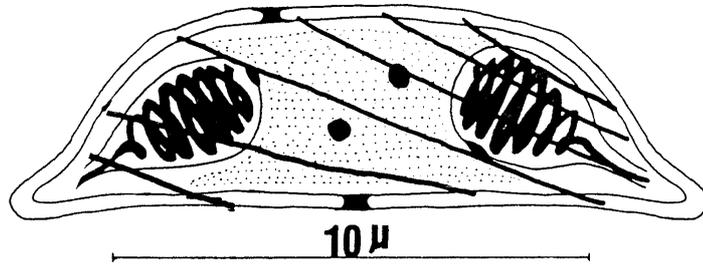


Abbildung 7 *Myxidium mackiei*- Sporen, aus BOSANQUET, 1910

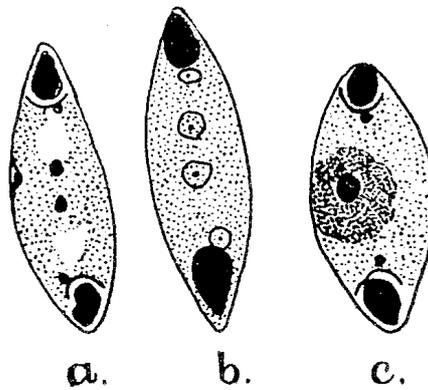


Abbildung 8 *Myxidium danilewskyi*- Sporen, aus KUDO, 1919

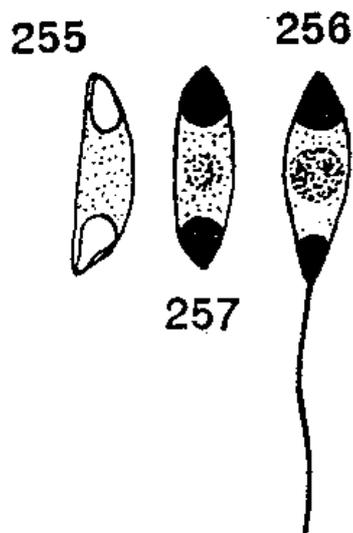


Tabelle 1 Bisher bei Schildkröten beschriebene Myxosporea- Spezies (modifiziert nach JAYASRI und HOFFMANN, 1982)

G - Galle

LN - Lumen der Nierentubuli

GB - Gallenblase

NT - Nierentubuli

Spezies	Her- kunft	Wirt	In- fektio- on- sort	Vegetative Form	Sporenform	Spo- ren- länge in μm	Spo- ren- breite in μm	Polkap- sellänge in μm	Win- dun- gen	Strei- fen	Autor
<i>Henne- guya sp.</i>		„tropische Wasser- schildkrö- ten“	GB	?	?						WILL, 1975
<i>Myxidi- um ameri- canum</i>	Nord- ame- rika	<i>Trionyx spinifera</i>	LN	jung: mehrkernig, unre- gelmäßige Form älter: sphärisch Differenzierung in Ekto- und Endoplasma möglich Größe: 12- 25 μm 2 Sporen pro Panspo- roblast	spindelförmig mit zwei zugespitzten Enden, die in entgegengesetzte Rich- tungen gezogen sind, Nahtlinie gerade, im Querschnitt kreisförmig, dünne Schale, sphärische Polkapseln, Sporoplasma fein granuliert mit 2 Ker- nen	15-16	5,5-6	4, Polkap- selbreite: 3,5	3	8-10, längs	KUDO, 1919
<i>Myxidi-</i>	Nord-	<i>Chelydra</i>	G	grün, rund, flach, leicht	boot- bananen- oder spin-	12,5-	3-5	2,5- 5	5-7	4-6,	JOHN-

<i>um chelonarum</i>	amerika	<i>serpentina, Chrysemys picta, Deirochelys reticularia, Graptemys pulchra, Kinosternon sonoriense, Pseudemys scripta, Sternotherus odoratus</i>	GB	amöboid, hyalines Ektoplasma, granuläres Endoplasma, 11- 180 µm im Durchmesser, 2 Sporen pro Pansporoblast	spindelförmig, mit stumpfen Enden, Nahtlinie undeutlich, Polkapseln fast sphärisch und zugespitzt in Richtung distales Sporende, Klappen- und Kapselkerne undeutlich, Sporoplasma fein granuliert mit 2 Kernen	16	Sporentiefe: 4-7	Polkapselbreite: 2-3	quer	SON, 1969 a, b
<i>Myxidium danielowskyi</i>	Frankreich	<i>Emys orbicularis</i>	NT	grünliche Farbe, verlängerte Form, granuläres Endoplasma, dünne Schicht Ektoplasma, 2 Sporen pro Pansporoblast	verlängert pyriform, leicht gebogen verlängert spindelförmig, Sporoplasma granulär mit einem Kern	10-12	3-4			LAVERRAN, 1897
<i>Myxidium mackiei</i>	Indien	<i>Trionyx gangeticus</i>	NT	keine Unterscheidung zwischen Ekto- und Endoplasma, zwei Kernarten: vesikuläre und soli-	spindelförmig mit eher zugespitzten Enden, relativ kleine Polkapseln, Sporoplasma mit ein oder	12-16 (17)	3,5- 5 oder breiter		Schale fein ge-	BOSANQUET, 1910

				de, Sporen paarweise gebildet, max. Größe: 160 mal 27 µm	zwei Kernen enthält zwei große Vakuolen					streift	
<i>Myxidium mackiei</i>	Indien	<i>Lissemys punctata andersonii</i>	LN NT	fein granuliertes Ektoplasma, heterogenes Endoplasma, polyspor	Seite an Seite zu Paaren arrangiert, spindelförmig mit zugespitzten Enden, birnenförmige Polkapseln	12,9-17,6	2,9-4,7	3,4- 4,1	4-5	+	HELKE und POYNTON, 2005
<i>Zschokkella lissemysi</i>	Indien	<i>Lissemys punctata</i>	GB	junge: keine Unterscheidung zwischen Ekto- und Endoplasma, Zytoplasma vakuolär, sphärischer Kern, Größe 12,36-14,42 µm Länge mal 8,24- 9,33 µm Breite	semizirkulär, eines der Enden leicht zugespitzt, Sporoplasma mit 2 Kernen, dehnt sich in Frontalsicht wie Regenschirm über Polkapseln aus	18,5-22,6	14,4-16,4	7,2-9,2		+	CHAKRAVARTY, 1940
Unbekannte Spezies	Italien	<i>Lacerta</i> sp.	Ovar	?	?						MINGAZZINI, 1890

Myxidium danilewskyi (siehe Abb. 8)

1897 beschrieb LAVERAN erstmals Myxosporea in der Niere der europäischen Sumpfschildkröte, *Emys orbicularis*, und damit das erste Mal bei Reptilien.

Die **Sporen** dieser Spezies, *Myxidium danilewskyi*, werden als fusiforme oder schiffchenförmige Elemente, die an den Enden spitz zulaufen, einzeln oder zu zweit liegen und etwa 10 µm messen, beschrieben. An den beiden Enden der Spore fand der Autor lichtbrechende Körperchen, die Polkapseln.

Das Färbeverhalten beschreibt er wie folgt: Durch Eosin und Methylenblau wird die Hülle rosa gefärbt, die Polkapseln hellblau und der Zwischenraum violett. Mit Thionin werden die Polkapseln dunkelviolet oder rot, der Mittelteil blass violett. Durch Zusatz von Salpetersäure gelang die Freisetzung der Filamente.

An histologischen Nierenschnitten beobachtete er, dass die Sporen entweder frei in den Tubuli oder eingeschlossen in „protoplasmatischen körnigen Massen von unregelmäßiger Form“ in Richtung der Tubuli liegen, wobei letzteres „offensichtlich die Myxosporidien sind, in denen sich die Sporen entwickeln“.

Sporen in großer Zahl in den Nieren rufen nach seinen Beobachtungen Spuren einer Nephritis hervor. Die Sporen konnten auch in der Kloake infizierter Schildkröten nachgewiesen werden. Zuletzt erwähnt er noch, dass er Myxosporidien immer in Verbindung mit Hämosporidien (heute Hämogregarinen) fand.

KUDO (1919) ergänzte diese Beschreibung folgendermaßen: Der Körper der **vegetativen Form** ist von grünlicher Farbe und hat eine verlängerte Form, die im Querschnitt zirkulär erscheint. Die vegetative Form füllt die Nierentubuli aus und passt sich deren Form an. Das Endoplasma ist granulär und das Ektoplasma bedeckt die ganze Körperoberfläche als dünne Schicht. In jedem Pansporoblasten entwickeln sich zwei Sporen (disporogen).

Die Sporendimensionen werden von KUDO (1919) mit 12 µm Länge mal 3- 4 µm Breite angegeben. Das Sporoplasma erscheint granulär mit einem Kern.

Myxidium mackiei (siehe Abb. 7)

Im Jahre 1910 folgte die nächste Beschreibung von Myxosporea bei der Ganges- Weichschildkröte, *Trionyx gangeticus*, durch BOSANQUET. Dieser erhielt die histologischen Schnitte der Schildkrötennieren von J.P. Mackie. Daraufhin wurde diese Spezies nach ihm *Myxidium mackiei* benannt.

Die **Sporen** werden folgendermaßen beschrieben: Länge fast konstant bei 14µm, Breite 4µm, die Extreme liegen bei 12- 16 µm (17µm) Länge mal 3,5- 5 µm Breite. Die Sporenhülle ist fein gestreift und die Enden der Sporen werden als zu einem stumpfen Punkt zugespitzt beschrieben, wobei sich an jedem Sporende eine tief gefärbte Polkapsel befindet. Im Protoplasma der Spore bemerkte er häufig zwei große Vakuolen, jede nahe einer Polkapsel. Eine Reaktion des Wirtsgewebes wurde nicht beobachtet.

Das größte Myxidium- Individuum (heute: **vegetative Form**) wird mit 160 µm Länge mal 27µm Breite angegeben und eine Unterscheidung zwischen Ekto- und Endoplasma war dem Autor nicht möglich. In den Fällen, in denen fast das ganze Tier in Sporen umgewandelt war, gab es den Anschein einer Kutikula oder Zystenwand. Im Protoplasma konnten zwei Kernarten unterschieden werden: zum einen vesikuläre und zum anderen kleinere mit solidem Aussehen. Die gebildeten Sporen formten im Myxidium häufig simultane Paare. Die vegetative Form ist polyspor.

Zur Sporenentwicklung erläutert der Autor, dass er aufgrund des beschränkten Materials nur wenige Stadien beobachten konnte. Ein Teil des Protoplasmas, BOSANQUET nimmt an, dass es sich um einen Disporoblasten handelt, erscheint aufgerundet und enthält bis zu zehn Kerne, obwohl der Autor vermutet, dass 12 die komplette Anzahl im Disporoblasten wäre, da dieser sich in den Endsporoblast teilt, welcher gewöhnlich 6 Kerne zu enthalten scheint. Die Kernanzahl scheint aber nicht konstant zu sein. Er beobachtete, dass von den sechs Kernen des Sporoblasten zwei die Klappen bilden, sich zwei an die Polkapseln heften und zwei im Protoplasma der Spore (Amöboidkeim) bleiben und zu einem Kern fusionieren können, d.h. das Sporoplasma enthält einen oder zwei Kerne.

Im Jahre 2005 erfolgte eine erneute Beschreibung von *M. mackiei* durch HELKE und POYNTON, die zwei adulte *Lissemys punctata andersonii* (indische Klappen- Weichschildkröte) untersuchten und in deren Nierentubuli Plasmodien und Sporen nachweisen konnten.

Die Beschreibung der **Spore** wird darum ergänzt, dass die Polkapseln birnenförmig sind und die darin aufgewundenen Polarfilamente vier bis fünf Windungen zeigen. Es konnten zum Teil die typischen beiden Vakuolen in der Longitudinalachse der Spore zwischen kapsulogenem und sporogenem Kern gefunden werden. Die Sporendimensionen stimmen ebenfalls weitgehend mit den von BOSANQUET genannten überein und werden durch die Maße der Polkapseln mit 3,4- 4,1 µm Länge mal 2,1- 2,4 µm Breite vervollkommnet.

Eine Unterscheidung zwischen fein granuliertem Ektoplasma (2- 10µm Weite) und heterogenem Endoplasma war bei der **vegetativen Form** möglich. Das Plasmodium hat eine glatte Oberfläche und die Autorinnen vermuten, dass es durch physische Präsenz oder Druck am Renalepithel haftet. Sie geben eine sehr detaillierte Beschreibungen der Ultrastruktur der vegetativen Form ab, auf die hier nur verwiesen werden soll.

Die Plasmodien von *M. mackiei* verstopften etwa 5-10 % der Nierentubuli und führten zu einer Veränderung der luminalen Oberfläche des Wirtsepithels in Form von Mikrovillverlusten. Weitere pathologische Befunde, die auf den Befall mit *Myxidium mackiei* zurückzuführen sind, konnten nicht festgestellt werden.

Myxidium americanum (siehe Abb. 5)

Myxidium americanum wurde erstmals von KUDO (1919) beschrieben, der diese Spezies in den Nierentubuli eines einzigen Exemplars von *Trionyx spinifer spinifer* (Dornrand- Weichschildkröte) aus den USA fand. Intrazelluläre Stadien konnten nicht beobachtet werden.

Die **Spore** ist spindelförmig und weist zwei zugespitzte Enden auf, die in unterschiedliche Richtungen gezogen sind. Im Querschnitt erscheinen die Sporen zirkulär. Die Schale ist dünn und in Längsrichtung fein gestreift mit acht bis zehn Streifen pro Klappe, die Nahtlinie verläuft gerade. In den nahezu sphärischen Polkapseln ist das aufgewundene Polarfilament mit seinen drei Windungen sichtbar. Mithilfe von Natriumhydrat- Lösung kann das Polarfilament frischer Sporen zum Ausstoßen gebracht werden. Die Richtung des ausgestoßenen Polarfilaments bildet mit der Hauptachse der Spore einen 45° Winkel und die beiden Filamente verlaufen dann parallel zueinander. Der Autor beschreibt das Sporoplasma als fein granuliert mit zwei kleinen ringförmigen Kernen, die in der Färbung sichtbar werden, da die peripheren Lagen stärker angefärbt werden als der zentrale Anteil. Die Sporendimensionen werden angegeben mit 15- 16 µm Länge mal 5,5- 6 µm Breite, Polkapsel 4µm mal 3,5 µm, Länge des Polarfilamentes 25- 32 µm.

Die **vegetative Form** lässt sich wie folgt beschreiben: Der junge Trophozoit in den Nierentubuli ist mehrkernig und weist eine unregelmäßige Gestalt auf, die auf amöboide Bewegungen schließen lässt. Die älteren Formen mit reifen Sporen haben eine eher sphärische Gestalt mit einer ausgeprägten Außenlinie. Es wird eine klare Differenzierung des Protoplasmas in Ektoplasma und Endoplasma beschrieben. Die Trophozoitengröße variiert von 12 bis 25 µm im Durchmesser. Ein Pansporoblast produziert zwei Sporen.

Abschließend beschreibt KUDO (1919) die Besonderheiten bei *M. americanum* und *M. danilewskyi*, die sich durch vegetative Form, Sporengestalt, -größe und -struktur sowie verschiedene Wirte unterscheiden. Die Unterschiede zwischen *M. americanum* und *M. mackiei* bestehen in verschiedenartiger Morphologie von Sporen und Trophozoiten, obwohl die Sporendimensionen sehr ähnlich sind.

Zschokkella lissemysi

Die 1940 von CHAKRAVARTY beschriebene Spezies *Zschokkella lissemysi* gehört einer anderen Gattung an, als die bisher beschriebenen Arten.

Der Autor fand diese Spezies in der Gallenblase von *Lissemys punctata*, der indischen Klappen-Weichschildkröte.

Die **Sporen** (siehe Abb. 9) erscheinen in Frontalansicht semizirkulär, während eines der Enden leicht zugespitzt ist, so dass sie manchmal eiförmig erscheinen. In Seitenansicht sind sie ovoidal. Auf der flachen Oberfläche der Spore und zwischen den Polkapseln befindet sich ein Deckel. Die Klappen sind dick und gestreift, wobei die Streifen parallel verlaufen. Die Nahtlinie konnte nicht erkannt werden. Als sphärisch und gleich groß werden die Polkapseln beschrieben, in denen die Filamente sichtbar sind. Jede Kapsel ist mit einem Gang ausgestattet, welcher sich nach exterior zur Deckelseite hin öffnet und durch welchen das Filament ausgestoßen wird. Das Sporoplasma besetzt den ganzen Raum der Spore zwischen den Polkapseln und dehnt sich in Frontalansicht dorsal wie ein Regenschirm über die Kapseln aus. In gefärbten Präparaten werden zwei Kerne gefunden. An die beiden Kapseln sind zwei kapsulogene Kerne angeheftet. Es wurden folgende Sporendimensionen beschrieben: Länge: 18,5- 22,5 µm Länge mal 14,4- 16,4 µm Breite, Polkapseln 7,2- 9,2 µm im Durchmesser, Sporenwand 2,06 µm dick, Polarfilament 100 µm lang.

Von der **vegetativen Form** konnten nur junge Trophozoiten beobachtet werden, die sich als amöboide einzellige Formen darstellten bei denen Endoplasma und Ektoplasma nicht zu un-

terscheiden waren. Das Zytoplasma erscheint vakuolär. Der Kern ist sphärisch mit zentral angeordnetem Karyosom und misst 2 µm im Durchmesser. Als Maße für die Trophozoitin wurden 12,36- 14,42 µm in der Länge und 8,24- 9,33 µm in der Breite angegeben.

Abschließend beschreibt der Autor, dass sich diese Sporen von denen aller bis dahin bekannten *Zschokkella*- Sporen in Position der Polkapseln und im Vorhandensein eines Deckels auf der ventralen Sporenwand unterscheiden.

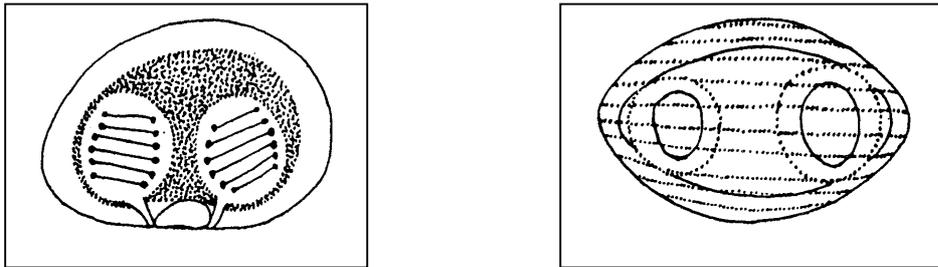


Abbildung 9 Vorderansicht und Seitenansicht der Sporen von *Zschokkella lissemysi*, aus CHAKRA-VARTY, 1940

Myxidium chelonarum (siehe Abb. 6)

Myxidium chelonarum wurde erstmals von JOHNSON (1969 a und b) aus der Gallenblase bzw. den Gallengängen von *Pseudemys scripta scripta* (Buchstaben- Schmuckschildkröte) in den USA beschrieben. Dieses *Myxidium* wurde in weiteren 13 Spezies und Subspezies der insgesamt 21 untersuchten nordamerikanischen Schildkrötenarten gefunden. Alle infizierten Schildkröten waren adult.

Die **Spore** weist eine boot-, bananen- oder spindelförmige Gestalt mit stumpfen Enden auf. Sie zeigt pro Klappe vier bis sechs Streifen, die quer über die lange Achse der Spore verlaufen und hat eine undeutliche Nahtlinie und undeutliche Klappen- und Kapselkerne. Es gibt gewöhnlich zwei Polkapseln, oft jedoch auch drei und seltener eine, vier oder fünf Stück. In den fast sphärischen Polkapseln befindet sich jeweils ein Polarfilament, welches fünf bis sieben Windungen aufweist und durchschnittlich 25- 45 µm lang ist. Die Polkapseln sind in Richtung des distalen Endes der Spore zugespitzt. Im fein granuliertem Sporoplasma, dessen Enden die Basis der Polkapsel umgeben, sind zwei Kerne sichtbar. Die Sporenmaße werden mit 12,5- 16 µm (14 µm) Länge mal 3-5 µm (4 µm) Breite mal 4-7 µm (5,5 µm) Tiefe angegeben. Die Polkapseln sind 2,5- 5 µm (4 µm) lang mal 2-3 µm (3 µm) breit.

Die **vegetative Form** ist grün. Kleine Formen werden als sphärisch, größere als rund und flach, mit leicht amöboider Bewegung und gelegentlichen kurzen Pseudopodien beschrieben. Eine Unterscheidung in hyalines Ektoplasma und granuläres Endoplasma ist möglich. Im Durchmesser weisen die polysporen Trophozoiten eine Größe von 11- 180 μm auf. Pro Pansporoblast werden zwei Sporen gebildet, wobei die jungen Formen bispor und reife Formen polyspor sind.

Der Autor konnte *Myxidium chelonarum* auch in den Gallenblasen der folgenden Schildkrötenspezies nachweisen:

Chelydra s. serpentina (Schnapp- Schildkröte),

Kinosternon sonoriense Le Conte (Sonora- Klapp- Schildkröte),

Sternotherus odoratus Latrille (gewöhnliche Moschus- Schildkröte),

Graptemys pulchra Bauer (Schmuck- Höcker- Schildkröte),

Graptemys pseudogeographica pseudogeographica Gray (falsche Landkarten- Schildkröte),

Pseudemys nelsoni Carr (Florida- Zier- Schildkröte auch Florida- Rotbauchschmuck- Schildkröte),

Pseudemys scripta elegans Wied (Rotwangenschmuck- Schildkröte),

Kreuzungen *P. s. scripta* X *P. s. elegans*,

Pseudemys floridana floridana Le Conte (Florida- Schmuck- Schildkröte),

Pseudemys concinna hieroglyphica Holbrook (Hieroglyphenschmuck- Schildkröte) und

Deirochelys reticularia (Langhalsschmuck- Schildkröte).

Empfänglichkeitsstudien, die an acht Vertebraten mittels oraler Eingabe der Sporen durchgeführt wurden, verliefen negativ.

Die Unterschiede zu *M. americanum* bestehen in verschiedener Lokalisation im Wirt (Harnsystem), Trophozoitenform und -größe (unregelmäßige Form, Größe 12-25 μm), Sporengestalt (spindelförmig), Nahtlinie (gerade), Streifenanzahl pro Klappe (8-10), Windungen des Polarfilamentes (3), Länge des Polarfilamentes (25-32 μm), und Sporendimension (15-16 μm mal 5,5- 6 μm).

Der Urin verschiedener Schildkröten wurde untersucht und war in den meisten Fällen frei von Parasiten. Sporen von *M. chelonarum* wurden zusammen mit Eiern von Kratzern (*Acanthocephalus* sp.) und Faeces nur im Urin derjenigen Schildkröten gefunden, welche den Parasiten in der Gallenblase beherbergten. Sporen oder Trophozoiten wurden nicht in den Nieren nachgewiesen.

Henneguya

WILL (1975) erwähnt, dass „tropische Wasserschildkröten“ häufig Myxosporidien der Gattungen *Myxidium* und *Henneguya* in der Gallenblase beherbergen. Leider gibt er keine weiteren Informationen.

Die oben genannte Aussage findet sich auch bei REICHENBACH- KLINKE (1977), COOPER und JACKSON (1982) sowie ISENBÜGEL (1985).

2.3.2. Diagnose

Eine Verdachtsdiagnose aufgrund klinischer Befunde bei Schildkröten ist nicht möglich, da bislang keine eindeutigen klinischen Symptome bei Schildkröten beschrieben wurden.

In der Sektion kann der Verdacht auf eine Myxosporidien- Infektion durch sichtbare Trophozoit- en erregt werden.

Sichere Diagnosen sind daher nur durch labordiagnostische Methoden zu stellen.

a) Mikroskopie

Die älteste Form der Diagnostik ist die Lichtmikroskopie. Um eine Spezies zu diagnostizieren, benötigt man neben den Angaben zum Wirt (Spezies, infiziertes Lebensstadium, Prävalenz der Infektion) auch Angaben zum vegetativen Stadium und zu den Sporen.

Man achtet beim vegetativen Stadium auf Organlokalisierung, Vorliegen einer histozoischen oder coelozoischen Spezies, Gestalt, Größe, Struktur (Endo- und Ektoplasma differenzierbar, Bewegung) und Zahl der produzierten Sporen. Zusätzlich werden eventuelle histopathologische Beobachtungen notiert. Die Sporen sollen frisch und unfixiert beurteilt werden. Sie werden untersucht auf Gestalt und Struktur, Vorhandensein von Fortsätzen, Nahtlinien- Ecken, Sporen- Projektionen, Membranhüllen, Schleimhüllen, Rillen, Rippen und/oder Streifen. Des Weiteren wird bei den Polkapseln auf deren Gestalt, Position in der Spore und Größenrelation der Polkapseln untereinander geachtet. Zahl und Arrangement der Windungen im aufgewundenen Polarfilament, Position und Zahl des Sporoplasmas sowie Vorhandensein und Gestalt einer iodiphilen Vakuole gelten ebenfalls als taxonomische Kriterien (LOM und ARTHUR, 1989).

Für einzelne der genannten Kriterien sind weiterführende Untersuchungen nötig, wie z.B. rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen, um die Oberfläche genau beurteilen zu können.

Um das Vorhandensein von Schleimhüllen um die Spore nachzuweisen, wird die Sporensuspension mit normaler Zeichentusche auf einem Objektträger vermischt und mikroskopiert. Mithilfe von Lugolscher Lösung wird die iodophile Vakuole rötlichbraun angefärbt (MITCHELL, 1977).

Die histopathologische Untersuchung dient dem Nachweis von Trophozoiten und pathologischen Veränderungen des Wirtsgewebes. Da sich reife Sporen mit Standardfarbstoffen nicht gut anfärben, wird auf Giemsa, Toluidinblau (Sporen blau, Polkapseln am dunkelsten) oder Thionin (Sporen purpur bis violett) zurückgegriffen. Bei Kern- und Bindegewebsfärbungen variieren die Ergebnisse beträchtlich, was auf unterschiedliches Alter oder Reife der Sporen zurückzuführen sein könnte (MITCHELL, 1977).

Eine Konzentrierung der Sporen kann bei geringer Infektionsintensität nötig werden. Dazu wird zunächst das Wirtsgewebe zerkleinert und homogenisiert. Dem schließen sich Filtrierung (Saugfilter mit grobem Filterpapier oder Sehtuch) und Zentrifugierung (15 000 rpm) an. Das Sediment kann dann direkt mikroskopiert werden. Eine andere Möglichkeit besteht darin, das Sediment für die quantitative Diagnostik mit einer bekannten Menge destillierten Wassers zu resuspendieren und die Sporenzählung in einem Hämocytometer vorzunehmen (MITCHELL, 1977).

Die traditionelle Diagnose durch mikroskopischen Nachweis wird aufgrund des komplexen Entwicklungszyklus der Myxosporea erschwert, da der Parasit im Wirt vom Ort des Eindringens zum Zielgewebe wandert und während dieser Phase dramatische morphologische Veränderungen durchmacht.

Für die bei Schildkröten vorkommenden Myxosporea-Spezies stehen die im folgenden genannten Methoden nicht zur Verfügung und werden daher hier nur kurz erwähnt.

b) Antikörper und Lectine

Es wurden sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper gegen verschiedene Myxozoa hergestellt, die für die Diagnostik genutzt werden können (BARTHOLOMEW *et al.* 1989, MARKIW, 1989, MARÌN DE MATEO *et al.*, 1996).

Auch lectinbasierende Assays werden benutzt, zeigen aber signifikante Unterschiede in den Bindungsmustern (MARÌN DE MATEO *et al.*, 1997).

Der Nachteil sowohl der Antikörper als auch der Lectine für die klinische Diagnose liegt einerseits in stadienspezifischen Affinitäten und andererseits in Kreuzreaktivität mit Wirtsgewebe und anderen Parasiten (BARTHOLOMEW *et al.* 1989, MARÌN DE MATEO *et al.*, 1996).

c) DNA

Assays, die auf PCR (polymerase chain reaction) beruhen, wurden für *Ceratomyxa shasta*, *Myxobolus cerebralis*, *Kudoa amamiensis* und PKX entwickelt (Vgl. KENT *et al.*, 2001). Non-lethale PCR-Tests mit Sammelkotproben als Untersuchungsmaterial sind bei *Ceratomyxa shasta* möglich (FOX *et al.* 2000).

Außerdem gibt es in-situ-Hybridisierungen, die Spezifität und Sensitivität der DNA-Untersuchungstechniken mit der Möglichkeit kombiniert, den Parasiten in seinem biologischen Kontext zu untersuchen (Vgl. KENT, *et al.* 2001).

2.3.3. Erkrankungen

Es gibt fast keine Bemerkungen über Erkrankungen bei Schildkröten, die durch Myxosporea ausgelöst wurden.

Myxidium danilewskyi scheint bei höherer Befallsintensität Nephritis bei der Europäischen Sumpfschildkröte, *Emys orbicularis*, zu verursachen (LAVERAN, 1897).

Im Falle der *Myxidium mackiei*-Infektion der Niere von *Trionyx gangeticus* bemerkte BOSANQUET (1910), dass der Parasit keine Gewebsreaktion hervorzurufen scheint. HELKE und POYNTON (2005) stellten fest, dass der gleiche Parasit bei der indischen Klappenweichtier-Schildkröte (*Lissemys punctata*) nur wenig Veränderungen in den Nieren verursacht. 5- 10% der Lumina der proximalen gewundenen Tubuli waren zum Teil komplett durch Plasmodien verstopft. In der Nachbarschaft des Parasiten fanden die Autoren, dass die Mikrovilli der renalen Epithelzellen abgeschoren, komprimiert oder sogar von einem Teil bzw. der gesamten luminalen Oberfläche ausgelöscht waren.

WILL (1975) diskutiert Myxosporea als mögliche Ursache entzündlicher Lebererkrankungen der Schildkröten.

1999 wurde in einer Veröffentlichung der AFIP Wendsday Slide Conference erwähnt (NICHOLS, 1999), dass 90 % von 60 untersuchten juvenilen *Podocnemis unifilis* (Terekay-Klappenschildkröte) eine Myxosporea-Infektion der Nieren aufwiesen. Die pathologisch-anatomische Untersuchung der 60 Schildkröten ergab deutlich geschwollene und blasse Nieren, die sich als Folge einer Myxosporea-Infektion mit einer unbekanntem Gattung darstellte. In der Laboruntersuchung des Urins wurden Entwicklungsstadien von Protozoen mit sporenähnlichen Körpern festgestellt. Histologisch konnte in der Mehrheit der Fälle eine chronische interstitielle Nephritis, welche sich ins Parenchym ausdehnt, diagnostiziert werden. Häufig wurden heterophile Granulozyten gesehen. Die Tubuli enthielten Zelltrümmer und abgeschil-

ferte Zellen. Weiterhin wurden Tubulusektasie und Hyperplasie der Tubulusepithelzellen diagnostiziert. In anderen Fällen konnte nur eine moderate Entzündung festgestellt werden. Sporonten und Pansporoblasten fanden sich in Epithelzellen, während reifende Pansporoblasten durch ihr Wachstum zur Ruptur der Epithelzelle führen und somit in den Lumina der Nierentubuli zu finden waren. Auch unreife und reife Sporen waren sichtbar.

MUTSCHMANN (2003 a) erwähnt, dass ein starker Myxosporea- Befall bei Schildkröten klinisch mit Inappetenz, lokalen oder generalisierten Ödemen, gestörter Leber- und Nierenfunktion sowie verminderter Vitalität einhergeht. Spontane Todesfälle aufgrund von Hepatitiden oder Nierenerkrankungen werden ebenfalls beschrieben.

2.3.4. Therapie

Über eine Therapie bei Schildkröten ist nichts bekannt. Deshalb können hier nur jene therapeutischen Erfahrungen wiedergegeben werden, die aufgrund Myxosporea- bedingter Fischkrankheiten gewonnen wurden.

a) Antibiotika

Fumagillin ist ein Antibiotikum aus dem Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* und der wohl am besten untersuchte Wirkstoff gegen Myxozoa (MÖLNAR *et al.*, 1987, HEDRICK *et al.*, 1988, YOKOYAMA *et al.*, 1990, EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1991, SITJÀ- BOBADILLA und ALVAREZ- PELLITERO, 1992, RIGOS *et al.*, 2000, YOKOYAMA *et al.*, 1999, ATHANASSOPOULOU *et al.*, 2004).

Fumagillin erwies sich bei oraler Applikation als wirksam gegen experimentell übertragene *Sphaerospora renicola* beim gemeinen Karpfen (*Cyprinus carpio*) in einer Dosierung von 0,1% des Futters (MÖLNAR *et al.* 1987). In der gleichen Untersuchung konnte kein Effekt gegen den Muskelparasiten *Myxobolus cyprini* bzw. den Knorpelparasiten *Thelohanellus nikolskii* beobachtet werden.

HEDRICK *et al.* (1988) verabreichten 0,5 bzw. 1g Fumagillin pro kg Futter, wobei täglich etwa 1% der Körpermasse der Fische angeboten wurden. Die experimentell infizierten Königslachse, *Oncorhynchus tshawytscha*, konnten mithilfe von Fumagillin vor der Proliferativen Nierenerkrankung (PKD- proliferative kidney disease) geschützt werden. Als Nebenwirkungen werden in der höheren Dosierung neben Inappetenz eine Abnahme der hämatopoetischen Zellen des Niereninterstitiums und eine Vakuolisierung der Nierentubulusepitelien beschrieben.

YOKOYAMA *et al.* (1999) therapierten Kois (*Cyprinus carpio* L.) mit einer experimentellen *Thelohannellus hovorkai*- Infektion erfolgreich mithilfe von 0,1 % Fumagillin per Os (10 mg/kg Fisch und Tag). Die Autoren stellen fest, dass die Behandlung am effektivsten ist, je kürzer der zeitliche Abstand zur Exposition ist.

Bei den Untersuchungen von ATHANASSOPOULOU *et al.* (2004) erwiesen sich orale Dosen unter 6 mg/kg Fumagillin als gut wirksam gegen natürliche *Polysporoplasma sparisi*- Infektionen der Goldbrasse (*Sparus aurata*) und zugleich als nebenwirkungsarm. In Dosen über 6mg/kg über 6 Wochen konnten im interstiellen Nierengewebe leichte Entzündungen festgestellt werden, die sich bei weiterer Erhöhung der Dosis (25 mg/kg) bis zur Nekrose von interstitiellem Gewebe, der Degeneration der Tubulusepithelzellen sowie Blutung und Stauung der Leber verstärkten.

Fumagillin erwies sich ebenfalls als wirksam gegen *Hoferellus carasssi* beim Goldfisch, *Carassius auratus* (YOKOYAMA *et al.*, 1990), *Myxobolus cerebralis* bei der Regenbogenforelle, *Oncorhynchus mykiss* (EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1991) und *Sphaerospora testicularis* beim Wolfsbarsch, *Dicentrarchus labrax* (SITJÀ- BOBADILLA und ALVAREZ-PELLITERO, 1992).

Die Fumagillin- Wirkung scheint auf die frühen Entwicklungsstadien beschränkt zu sein (MÒLNAR *et al.*, 1987, EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1991, SITJÀ- BOBADILLA und ALVAREZ- PELLITERO, 1992). EL-MATBOULI und HOFFMANN (1991) stellten fest, dass Fumagillin an den Sporen von *Myxobolus cerebralis* zu deutlichen morphologischen Veränderungen führt.

Nebenwirkungen reichen von Inappetenz und geringerer Gewichtszunahme, über eine Abnahme der hämatopoetischen Zellen bis zum Tode (HEDRICK *et al.* 1988, SITJÀ- BOBADILLA und ALVAREZ- PELLITERO, 1992, ATHANASSOPOULOU *et al.* 2004).

Toltrazuril ist ein symmetrisches Triazinon. SCHMAHL *et al.* (1991) wendeten Toltrazuril als Medizinalbad gegen Entwicklungsstadien des Kiemenparasiten *Henneguya* sp. beim Elefantenrüsselfisch, *Gnathonemus petersii*, an. Mittels Toltrazuril- Therapie wurden die Mitochondrien zerstört, die Ribosomenzahl nahm ab und der perinukleäre Raum und das raue endoplasmatische Retikulum vergrößerten sich.

Toltrazuril erwies sich in der Studie von ATHANASSOPOULOU *et al.* (2004) bei oraler Anwendung als ineffektiv gegen *Polysporoplasma sparisi* und zudem als toxisch (starke Ödeme des Darmepithels, in Kombination mit Propylenglykol zusätzlich Entzündung, Nekrose und Blutungen des Nierengewebes).

HOE 092 V ist ein asymmetrisches Triazin- Derivat und wurde in Form von Medizinalbädern gegen den Hautparasiten *Henneguya laterocapsulata* angewendet (SCHMAHL *et al.*, 1993). Die Dosierung betrug 2,5 bis 10 µg/ml für 3 Stunden. HOE 092 V verursacht ähnliche, allerdings weniger stark ausgeprägte Veränderungen wie Toltrazuril und bewirkt starke Schäden an ein- und mehrzelligen Entwicklungsstadien. Eine Aussage über die Verträglichkeit beim Wirt konnte allerdings aufgrund der Versuchsanordnung nicht getroffen werden.

Salinomycin gehört zu den ionophoren Polyethern und wirkt als Chelator, vor allem für Natrium. Dadurch führt es zu einer intrazellulären Dysbalance der Konzentration monovalenter Ionen.

Es wurde erfolgreich angewendet gegen den Kiemenparasiten *Henneguya* sp. Beim Elefantenrüsselfisch, *Gnathonemus petersii* (DOHLE *et al.*, 2002). Die Autoren verabreichten Salinomycin (0,075g/1000g Futter) über 3, 6 bzw. 9 Tage per Os, indem sie die Futtertiere (*Daphnia* spp.) für 60 min. in eine hergestellte Medizinalfutter- Suspension verbrachten und dann sofort verfütterten. Die berechnete orale Dosis betrug 18,5 µg/kg Körpergewicht/Tag. Anhand von Untersuchungen der Ultrastruktur konnte festgestellt werden, dass Salinomycin irreversible Schäden an den Entwicklungsstadien verursacht und der Grad der Schädigung dabei positiv mit der Dauer der Applikation korreliert. Salinomycin verursacht ein Schrumpfen des ganzen Plasmodiums mit Separation des Plasmodiums vom Wirtsgewebe, Vakuolenbildung im Ektoplasma, Missbildungen der Polkapseln und geht bis zur kompletten Zerstörung der Pansporoblasten. Es konnte eine sehr gute Toleranz bei den Wirtsfischen beobachtet werden. In Kombination mit Amprolium erwies es sich ebenfalls als sehr gut wirksam gegen *Polysproplasma sparis* in *Sparis aurata* (ATHANASSOPOULOU *et al.* 2004).

b) andere

Quinin ist eines der ältesten Chemotherapeutika und wird in der Humanmedizin noch heute gegen Malaria eingesetzt. Es wirkt als Protoplasma- Gift und scheint die Nukleinsäure- Synthese durch Interaktion mit der DNA zu hemmen. DOHLE *et al.* (2002) untersuchten Quinin auf seine Wirksamkeit gegen *Henneguya* spp. bei oraler Gabe (5g/1000g Futter) an *Gnathonemus petersii* (Elefantenrüsselfisch). Bei oraler Aufnahme von 1,25 mg/kg Körpergewicht/Tag zusammen mit den Futtertieren konnten nach neun Tagen keine generativen Zellen mehr beobachtet werden. Quinin verursacht, genau wie Salinomycin, eine Separation der Trophozoitenmembran vom Wirtsgewebe. Auch Quinin wurde von den Wirten sehr gut getragen.

Clamoxyquin und **Proguanil** erwiesen sich bei oraler Applikation als wirksam gegen *Myxobolus cerebralis* der Regenbogenforelle (ALDERMANN, 1986). Im gleichen Versuch waren Acetarsol, Bialamicol und Cycloguanil unwirksam.

Proguanil wirkt als Hemmer der Folsäure- Utilisation und wurde in einer Dosierung von 200 µg/g verabreicht. Unter Proguanil- Therapie wurden sowohl die Häufigkeiten der pathologischen Veränderungen als auch die Sporenhäufigkeit um > 75% reduziert. Es konnten keine negativen Auswirkungen auf das Wachstum der untersuchten Forellen beobachtet werden.

Clamoxyquin ist ein 8- Hydroxyquinolin und zeigte bei einer Dosierung von 100 µg/g deutlichere Effekte auf die Sporulation jedoch weniger starke Effekte auf die Häufigkeit des Auftretens pathologischer Veränderungen und der Schwere dieser Veränderungen, als Proguanil.

Amprolium ist ein Thiamin- Strukturanalogon und wirkt daher als kompetitiver Inhibitor der Thiamin- Utilisation.

In Kombination mit Salinomycin in einer Dosierung von 60g Salinomycin pro Tonne Biomasse plus 100g Amprolium pro Tonne Biomasse bei oraler Applikation stellten ATHANASSOPOULOU *et al.* (2004) die beste Wirksamkeit der sechs von ihnen untersuchten Wirkstoffe fest. Diese Kombination erwies sich als die effektivste Behandlung gegen *Polysporoplasma sparis*- Infektionen in *Sparis aurata*, war nicht toxisch und bewirkte eine signifikante Reduktion der Prävalenz der Infektion. Die Autoren beobachteten an den Tagen 30-40 unter der oben genannten Therapie eine intensive interstitielle Entzündungs- Reaktionen um die zerstörten Glomeruli, die bei der unbehandelten Kontrollgruppe nicht zu beobachten war. Diese Läsionen erschienen gegen Ende der Untersuchungen als begrenzte Areale von Entzündungszellen, um dann ab Tag 60 gänzlich zu fehlen. Die Parasiten konnten nicht mehr beobachtet werden.

Oregano- Essenz- Öl wurde erstmals von ATHANASSOPOULOU *et al.* (2004) auf Wirksamkeit gegen Myxosporea untersucht und konnte die Prävalenz von *Polysporoplasma sparis*- Infektionen signifikant reduzieren. Die wirksame Dosierung betrug 12 ml/5 kg Körpergewicht.

2.3.5. Prophylaxe

Durch die noch heute ungelösten Fragen bezüglich der Lebensweise der Myxozoa erweist es sich als schwierig, eine effektive Strategie für die Kontrolle der Myxozoa zu entwickeln. In industriellen Fischzuchten gehen prophylaktische Bestrebungen in Richtung der Züchtung resistenter Fischstämme und beschränkt sich ansonsten auf die Kontrolle der Oligochaeten-Populationen (YOKOYAMA, 2003).

Es ist davon auszugehen, dass Myxosporea- Erkrankungen häufig aus kumulativen Hyperinfektionen resultieren (MITCHELL, 1977). Daher ist als erste prophylaktische Maßnahme die Optimierung der Haltungsbedingungen anzusehen, um dem Immunsystem des Wirtes eine optimale Funktion zu ermöglichen. Hierunter zählen neben artspezifischer optimaler Luft- und Wassertemperatur, ausreichender UV- Lichtbestrahlung, hygienischen Bedingungen im Terrarium, genügend Versteckmöglichkeiten (Stressreduktion) und überlegter Besetzung des Terrariums mit verträglichen Arten/ Geschlechtern vor allen Dingen eine artgerechter Fütterung. Zudem sollte ein Verfüttern möglicher Zwischenwirte vermieden werden.

Eine Desinfektion von Brutanlagen für Fische kann mit Kalziumcyanid (2000-5000 kg/ha) ein- bis zweimal jährlich mit anschließendem 3-4monatigem Trockenstehen erreicht werden. Auch Ätzkali (10 000 mg/l), Calciumoxid (1 t/acre) und Natriumhypochlorit erwiesen sich gegen verschiedene Myxosporea- Arten der Fische wirksam. Eine Chlorierung des Wassers wirkt gegen Infektionen mit *Ceratomyxa shasta*, eine Dechlorierung ist aber für das Überleben der Fische unerlässlich. Weitere prophylaktische Möglichkeiten bestehen in der Filtrierung und UV- Bestrahlung des zufließenden Wassers (MITCHELL, 1977). Die Effektivität eines Sandfilters wurde kürzlich durch NEHRING *et al.* (2003) bestätigt.