

A balatoni angolnák úszóhólyag- elváltozásainak és az *Anguillicola crassus* fonálféreg által indukált humorális immunválaszának tanulmányozása

Másodközlés*

Dr. Békési László¹, Dr. Hornok Sándor¹,
Dr. Székely Csaba²

¹ Állatorvos-tudományi Egyetem, Parazitológiai és Állattani Tanszék, István u. 2.

H-1078 Budapest

² MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

A friss irodalmi adatok ismertetése mellett beszámolnak azokról a hazai vizsgálatokról, amelyeket a balatoni angolnaelhullások fő okozójaként számon tartott fonálféreg, az *Anguillicola crassus* 1996. évi elterjedtségének és a féreg által indukált humorális immunválasz tanulmányozására folytattak. A fertőzöttség intenzitása, az úszóhólyag-elváltozások súlyossága és az alkalmazott ELISA-próba eredménye között nem találtak összefüggést. Megállapították, hogy az átvészelés valószínűleg nem tudja megvédeni a halakat az újrafertőződéstől. Úgy tűnik, hogy az anguillicolosis elterjedtsége nőtt ugyan a Balatonban (72,7%), de a fertőzöttség intenzitása csökkent (7,37 féreg/angolna) az 1991-es halpusztulás időszakában tapasztaltakhoz képest.

A fonálférgekhez tartozó *Anguillicola* (Camallanata, Dracunculioidea, Anguillicolidae) genus tagjai különféle angolnafajok úszóhólyagjában élősöknek, és megtalálhatók a Föld számos földrajzi övezetében. Az *Anguillicola crassus* Kuwahara, Niimi et Itagaki, 1974 fonálférget az 1980-as évek-

* Az eredeti közlemény az Acta Veterinaria Hungaricában jelent meg (1997.45.439-445.)

L. Békési – S. Hornok – Cs. Székely:
ATTEMPTS TO ANALYSE ANGUILLICOLA
CRASSUS INFECTION AND THE HUMORAL
HOST RESPONSE IN EELS (ANGUILLA
ANGUILLA) OF LAKE BALATON, HUNGARY
SECONDARY PUBLICATION

Since the introduction of *Anguillicola crassus* into Europe, anguillicolosis has been a considerable problem in several countries. From 1991, periodical eel mortality occurred in Lake Balaton, Hungary. However, eels with a worm burden of 20 to 50 parasites did not show severe swimbladder lesions, which observation cast doubts on the primary aetiological role of the parasite in the eel kill. In order to study the pathology of the infection, from the spring of 1996 until October of the same year, 51 eels were collected from two regions of Lake Balaton and examined for swimbladder changes. To detect humoral antibodies, an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed, using cuticular-oesophageal worm antigen. The results of the test show the applicability of the method. However, no direct correlation was found between antibody levels or the intensity of infection and the swimbladder lesions. The low level of specific antibodies and the increasing severity of swimbladder changes in the autumn suggest that parasite-induced immunity is insufficient to prevent reinfection.

ben hurcolták be Európába Kelet-Ázsiából. A parazita az eredeti gazdában, az *Anguilla japonica* angolnafajban alig okoz elváltozásokat, viszont az európai vizekben, az *Anguilla*-populációkban az egyik legveszélyesebb kórokozónak mutatkozott. Magyarországon SZÉKELY és mtsai, CSABA és mtsai számoltak be a parazita előfordulásáról, majd a fertőzött angolnákkal kapcsolatos kórtani vizsgálatokról. Hazánkban a Balatonban 1991-től

rendszeresen jelentkező angolnaelhullás hívta fel a figyelmet erre a veszélyes élősködőre.

Az *A. crassus* barnásfekete színű, hengeres testű, vastag fonálféreg. A kifejlett egyed mérete változatos, a nőstény hossza 13-44 mm, a hímek 6-34 mm hosszúak. A férgek az angolna úszóhólyagjának lumenében élnek és a hal vérével táplálkoznak. A nőstények copulatio után petébe zárt lárvákat hoznak a világra, amelyek kikelve szabad L2-ként az úszóhólyagnak az előbélbe térő vezetékén (ductus pneumaticus) jutnak az emésztőcsőbe és így kerülnek a vízi környezetbe. A szabadon mozgó L2-eket copepodák (evezőlábú planktonrákok) és egyéb édesvízi rákok veszik fel, és ezekben a köztigazdáknak (közvetett fejlődés) alakulnak ki a fertőzőképes L3 lárvák. A fejlődésmenetben a zsákmányhalak mint paratenikus gazdák (vivőgazdák) is szerephez juthatnak. Ezek köre meglehetősen széles, SZÉKELY a Balatonban 22 halfajban mutatott ki nyugvó L3 alakokat. Vivőgazda lehet többek között a kűsz, a folyami géb, a dévér, a sügér, a süllő, a vágódurbincs és a ponty is. A sügérben és a vágódurbincsban a féreg lárvái az úszóhólyagba vándorolnak, de az ivarérettséget nem érik el. A lárvák körül a vivőgazdában különböző fokú gazdareakciót lehet megfigyelni. A lárvák élettartama a paratenikus gazdában nem ismeretes, de bizonyára több év is lehet. Masszív fertőzés esetén (súlyosan fertőzött paratenikus gazdák elfogyasztásával) a különböző fejlettségű lárvák nemcsak az angolnák úszóhólyagfalában találhatóak meg, hanem testszerte a savóshártyák alatt is.

Az *A. crassus* közvetlen kártétele az úszóhólyag károsításában és a kifejlett férgek vérszívásában nyilvánul meg. MOLNÁR és mtsai mutattak rá a kórszöveti elváltozások jelentőségére a féreg patogenitásának értékelésében. A vizsgálatokból kiderült, hogy az úszóhólyagban található férgek száma (a fertőzöttség intenzitása) nincs egyenes összefüggésben az úszóhólyag-elváltozások súlyosságával. Többen úgy vélik, hogy az angolnák úszóhólyagja nem tartozik a létfontosságú szervek közé, és súlyos elváltozása esetén sem lehet a fertőzöttség önmagában az elhullások oka. Egzakt vizsgálatok bizonyították viszont, hogy az úszóhólyag gázkomponensei megváltoznak, O₂-tartalma 30-60%-kal csökken a féregfertőzöttség hatására, ami jelentősen befolyásolhatja a halak életképességét, különösen szélsőséges hőmérsékleti és oxigénviszonyok között.

Az úszóhólyag makroszkópos elváltozásait CSABA és mtsai 7 stádiumra osztotta. 1. Normál állapot (fal vékony, átlátszó, 1 mm alatti falvastagság), féreg nincs. 2. Normál állapot néhány féreggel. 3. Megnagyobbodott, lumenét gyulladással tölti ki. 4. Fala jelentősen megvastagodott (2 mm felett), üregében barnásvörös iz-

zadmány és második stádiumú lárvák. 5. Falában degeneratív elváltozások, másodlagos baktériumos fertőzés lép fel. 6. Fala erősen megvastagodott (3 mm felett), lumene beszűkült, a lumenben szétesett férgek maradványai. 7. Kemény tapintatú, barnásfekete köteggé vált, benne féregmaradványok.

Bár már a század elején fogtak angolnát a Balatonban, céltudatos telepítésre csak az utóbbi évtizedekben került sor. Az évről évre jelentkező elhullás hatása a közvéleményre és az idegenforgalomra igen jelentős (1), és napjainkban az angolnatelepítés felfüggesztéséhez vezetett. A rendszerint nyáron fellépő és a tóban nem egyenletesen jelenkező halpusztulás nyugatkelet irányú terjedésére MOLNÁR és mtsai mutattak rá, és okát az *A. crassus* terjedésével magyarázták. A fertőzöttség 1995-re kiegyenlítetté vált.

A nem javuló helyzet vetette fel a féreg által indukált immunválasz vizsgálatának szükségességét, azaz, hogy a tavaszi fertőzöttségen átesett halak nyáron újrafertőződhetnek-e, ill. a gyógyult egyedek ki vannak-e téve újabb invázióknak a következő években.

A nyolcvanas évek közepétől az *A. crassus* európai terjedéséről számos közlemény jelent meg. Németországból, Hollandiából, Belgiumból, Olaszországból, Dániából, Svédországból, Franciaországból, Nagy-Britanniából adtak hírt a féreg előfordulásáról. Anguillicolosis miatt észlelt elhullásokról SARTI és mtsai, HARTMANN, valamint BOON és mtsai is beszámoltak. Az erősen fertőzött példányokban az úszóhólyag fala gyakran vékony, átlátszó volt, ellentétben azokkal, amelyekben 3-5 mm falvastagságot elérő, férges tartalmú úszóhólyagokat lehetett találni. Ez a megfigyelés a féreg elsődleges kórokozó szerepét látszott megkérdőjelezni. Ám a jelenség valószínűleg azzal magyarázható, hogy az angolnákban kialakulhat bizonyos mértékű rezisztencia a férgek ellen, miközben az úszóhólyag fala súlyosan károsodik a feltételezett immunkomplexreakciók miatt. MOLNÁR úgy találta, hogy a súlyos úszóhólyag-elváltozásokat mutató (gyakran féregmentes) angolnák a víz alacsony oxigéntartalma esetén a leghamarabb hullottak el, ill. a megállapított másodlagos baktériumos fertőzések is arra utalnak, hogy az elhullások oktatában a féreginvázió kivül egyéb tényezők is közrejátszanak.

Az európai angolna *A. crassus* indukálta immunválaszával először BUCHMANN és mtsai foglalkoztak. A 43 kDa-os parazitaantigént alkalmazták szerodiagnosztikai kutatómunkára. HÖGLUND és PILSTRÖM készítették először antigént *A. crassus* férgek egész testének kivonatából, és kísérelték meg azt használni ELISA-próbában,

fertőzött és nem fertőzött, ill. az antigénnel immunizált angolnák szérumának vizsgálatára. Ugyanez a szerzőpáros mechanikailag szeparált parazitáreszekből készített antigén vizsgálatánál a próbában a cuticulaantigén használhatóságát írta le.

Saját vizsgálatunkban hasonló szerológiai próba kidolgozását tűztük ki magunk elé, mivel nagy kiterjedésű természetes vízben ilyen még nem végeztek. A Balatonból származó angolnákon a tavasztól őszi (1996) tartó egyedi vizsgálatot a halak boncolásával, az úszóhólyag elváltozásainak vizsgálatával is kiegészítettük.

Saját vizsgálatok

Anyag és módszer

Az 51 angolnából álló vizsgálati anyagot a Balatoni Halászati Rt. bocsátotta rendelkezésre részben a siófoki Sió-csapdában (április 20.), részben elektromos fenékhálóval Keszthelyen fogott halakból (június 25., július 25., szeptember 10.). A vérvételt anaesthesiában végeztük, amihez MS-222 (Sigma) altatószert használtunk. A vérvétel a végbélnyílás mögötti területen, a farokvéna punctiójával történt. Az *A. crassus*-mentes halakat (negatív kontroll) az Rt. hévízi intenzív angolna-telepéről szereztük be.

A vérvételt követően az állatok testhosszát megmértük, majd az angolnákat felboncoltuk. Az úszóhólyag állapotát feljegyeztük, azután az

úszóhólyagban levő gáz mennyiségét punctióval, fecskendő segítségével határoztuk meg. A férgek számát az úszóhólyag kiemelése és felnyitása után állapítottuk meg. Vizsgáltuk az úszóhólyag falában található elváltozásokat, becsültük a falvastagságot. CSABA és mtsai szerint 1-7 stádiumba soroltuk be az elváltozásokat.

Eredmények

A vizsgált angolnák boncolási eredményeit (úszóhólyag-elváltozások súlyossága 1-7 skálán, féregszám, az úszóhólyag légtartalma), ill. azok tavaszi és nyári-őszi átlagait, továbbá a vérsavók vizsgálati eredményeit **táblázatban** foglaltuk össze. Az ELISA-próba OD-értékeinek átlaga 0,364 volt, a két kontroll átlagértéke pedig 0,281. A fertőzöttség prevalenciája 72,7%-nak mutatkozott. Az átlagos féregszám 7,37 volt angolnánként, és a nyári-őszi átlagos intenzitás nagyobb (9,56) volt, mint a tavaszi (5,26). Jellemző volt, hogy az ivarérett férgek mellett rendszerint fiatal preadul-tok is előfordultak az úszóhólyagokban. A vizsgált egyedek úszóhólyagjainak átlagos légtartalmát 7,72 cm³-nek találtuk, amíg a kisebb testhosszú kontrolloké 2,5 cm³ volt. Az úszóhólyag-elváltozások súlyossága az év első felében 2,73, míg a második felében 5,08 volt (összátlag: 3,88) a 7-es skála szerint. A vizsgálati időszakban jelentős angolnapusztulást nem észleltek a Balatonban.

Táblázat. *Az úszóhólyag-elváltozások, az A. crassus féregszám, a légtartalom és az ELISA fényelnyelő képesség (optical density - OD) értékeinek összehasonlítása 1996 tavaszán és nyarán-őszén a Balatonból származó 51 angolnában és a kontrollokban*

Table. *Comparison of the swimbladder lesions, worm burden, air content and ELISA optical density (OD) values in A. crassus infections of eels collected from Lake Balaton in two periods of 1996*

Dátum	Halméret cm	Úszóhólyag-elváltozások súlyossága 1-7.skálán	Féregszám db	Légtartalom cm ³	ELISA OD-érték
1996. 04.05.		2,2,2,1,1,5,3,2,3,3,5,4,3, 3,2,2,6,1,1,1,5,3,3,2,4,2 (n=26)	0-30	*	(n=9)
Átlag	63,19	2,73	5,26		0,355
SD±	9,58	1,40			0,103
06.25.		3,4,5,6,6,7,4,2,2,4,6,6,6,4, 6,5,7,6,5,4,6,6,6,7 (n=25)	0-36		
07.25. 10.01.				(n=22)	(n=12)
Átlag	64,48	5,08	9,56	7,72	0,371
SD±	5,25	1,44		5,42	0,064
Összes átlag	63,82	3,88	7,37	7,72	0,364
SD±	7,71	1,84		5,42	0,081
04.15		negatív kontroll: 1,1 (n=2)			
Átlag	40,00	1,0	0,0	2,5	0,281
SD±	2,82			0,7	0,086

* nem mértük

Megvitatás

Saját vizsgálatainkban a fertőzöttség intenzitása és az úszóhólyag-elváltozások súlyossága között közvetlen összefüggést nem tudtunk megállapítani, sőt a legtöbb vastag falú úszóhólyagban kevés számú féreg vagy csak -törmelék volt. A légtartalom általunk alkalmazott mérése sok hibaforrást rejt magában (pl. kitágult, gyulladásos légvezeték stb.), ezért az eredményekből következtetést nem tudtunk levonni. Megállapítható volt viszont, hogy az úszóhólyag-elváltozások az év második felében súlyosabbak voltak (4-7 stádium), mint tavasszal, és ugyanezt az összefüggést mutatta az átlagos féregszám alakulása is (táblázat).

Holland tavakban az *A. crassus*-fertőzöttség időbeli lefolyását a féreg észlelését követő 3 éven át tanulmányozták. Eleinte a fertőzött angolnák száma és az úszóhólyagban található férgek száma is növekedett, majd a féregszám csökkenő tendenciát mutatott, végül egyensúlyi állapot látszott kialakulni, angolnánként átlagosan 8 féregszámmal. Ennek alapján feltételezték, hogy az angolnák immunizálódnak a fertőzéssel szemben, és a specifikus védettséggel rendelkező szervezet fékezi a féreg növekedését. A Balatonban 1991-ben, a tömeges elhullások jelentkezőkor az Európa tavaiban előforduló átlagos értékek többszörösét, 30-40 férget lehetett találni az úszóhólyagokban. A következő évben az átlagos féregszám 30-57-re emelkedett. Vizsgálatunkban az átlagérték 7,37 volt.

Az ELISA-próbában kapott extinkciók (OD-értékek) alacsony szintű pozitív humorális immunválaszra utalnak az egyes angolnasavókban (táblázat). Az ELISA-próba átlagértékei az év első felében alacsonyabbak voltak, mint a második felében (bár a különbség nem szignifikáns). MOLNÁR és mtsai egyébként azt állapították meg, hogy a fertőzöttségben igazi szezonális nincs.

Saját eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a fertőzött halakban nem alakul ki rezisztencia, csak az súlyosan elváltozott úszóhólyagban a féreg életfeltételei romlanak átmenetileg. Erre utalnak HAENEN és mtsai legutóbbi vizsgálata, akik mesterséges fertőzéssel állapították meg, hogy a féreg elleni esetleges védettség kialakulásában a humorális immunválasz nem játszhat jelentős szerepet. HUNG és mtsai viszont megállapították az angolnák humorális ellenanyagainak hatékonyságát a *Pleistophora anguillarum* (Microsporea) egysejtű esetében. VAN DER HEUJDEN és mtsai a fertőzöttség csökkenésében a celluláris immunválasz elsődlegességére gondolnak, amelynek tisztázására azonban további vizsgálatokra van szükség.

Mindezek ellenére valószínűsíthető, hogy a gazda-parazita viszonyában az egyensúlyi állapot a Balatonban is kialakul, vagyis az úszóhólyagokban található féregszám stabilizálódik. Ezt bizonyítja, hogy a fertőzöttség általunk talált intenzitása alatta van az előző években észleltnek és hasonló a nyugat-európai átlaghoz, ahol az anguillicolosist már több mint egy évtizede megállapították.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki DR. TAKÁCS CSILLÁNAK a kísérleti tervért és DR. MOLNÁR KÁLMÁNNAK az állatorvos-tudomány doktorának hasznos tanácsaiért. PAPP EMESE, az MTA ÁTKI munkatársa és CSONKA ZSÓFIA szigorló hallgató segítségével és a Balatoni Halászati Rt. támogatása nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre. A vizsgálatokhoz az anyagi forrást a Balatoni angolnapusztulás kóroktanának vizsgálata c. FM pályázat biztosította.



Az állatorvosok, a gyógyszerészek, a hobbi- és haszonállattartók egyik legkedveltebb állatgyógyyszer-forrása a

HÓD Állatpatika.

Tegyen próbára Ön is bennünket!
Eddigi partnereink szerint érdemes!



Alapítva
1989

6722 Szeged, Bécsi krt. 5. Telefon és fax: (62) 311-155
Nyitva hétköznap 7-17 óráig, szombaton 7-12 óráig.