

Aus dem Institut für  
Zoologie, Fischereibiologie und Fischkrankheiten  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann

Arbeit angefertigt unter der Leitung von  
PD. Dr. Dr. habil. M. EL-MATBOULI

Untersuchungen verschiedener Regenbogenforellenstämme  
auf ihre Empfänglichkeit für *Myxobolus cerebralis*, dem Erreger  
der Drehkrankheit der Salmoniden\*

Inaugural-Dissertation zur Erlangung  
der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität

vorgelegt von  
Miriam Küppers  
aus Nürnberg

München 2003

\*Die Untersuchungen wurden im Rahmen des Projektes "Resistant Trout" durch die Whirling Disease Foundation und den U.S. Fish and Wildlife Service (USA) gefördert.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla

Referent: Priv.-Doz. Dr. M. El-Matbouli

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Eisgruber

Tag der Promotion: 07. Februar 2003

Meinen Eltern  
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

---

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Allgemeines zu Myxozoa	3
1.1 Taxonomie	3
1.2 Entwicklungszyklus	7
1.2.1 Entwicklung im Oligochaeten	7
1.2.2 Entwicklung im Fisch	10
2. Die Drehkrankheit der Regenbogenforelle	12
2.1 Symptomatologie und deren Pathogenese	12
2.1.1 Pathologisches Schwimmverhalten	12
2.1.2 Schwarzfärbung des kaudalen Körperdrittels	14
2.1.3 Deformation	14
2.2 Häufige Begleiterscheinungen	14
2.3 Diagnose	15
2.3.1 Klinik	15
2.3.2 Nachweis der Sporen	15
2.4 Differentialdiagnosen	16
2.4.1 Pathologisches Schwimmverhalten	16
2.4.2 Schwarzfärbung des kaudalen Körperdrittels	16
2.4.3 Deformation	16
2.5 Empfänglichkeit	17
2.5.1 Fischalter	17
2.5.2 Fischart	17
2.5.3 Umweltstressoren	20
2.5.4 Infektionsdosis	21
2.6 Immunologie der drehkranken Forelle	21
2.6.1 Die Haut	21

---

2.6.2	Peripheres und Zentrales Nervensystem	22
2.6.3	Knorpel	23
2.6.4	Veränderungen im Blut der drehkranken Regenbogenforelle	24
2.6.4.1	Allgemeine Parameter	24
2.6.4.2	Weißes Blutbild der Regenbogenforelle	25
2.6.4.2.1	Granulozyten	25
2.6.4.2.2	Lymphozyten	27
2.6.4.2.3	Monozyten	28
2.6.5	Der Haupthistokompatibilitätskomplex	28
2.7	Immunologie und Antikörperbildung reinfizierter Forellen	30
2.8	Bekämpfung der Drehkrankheit	30
2.8.1	Entzug der Lebensgrundlage der Tubificiden	31
2.8.2	Behandlung des sporenhaltigen Wassers, Desinfektion aller Gerätschaften	31
2.8.3	Keulung (Stamping out)	31
2.8.4	Therapie betroffener Einzelindividuen	31
3.	Verbreitung der Drehkrankheit	32
3.1	Ursprung und Ausbreitung der Drehkrankheit	32
3.2	Situation in Amerika	32
4.	Ausblick	36
III.	MATERIAL und METHODEN	37
1.	MATERIAL	37
1.1	Oligochaeten	37
1.2	Fischmaterial zur Gewinnung der <i>Myxobolus cerebralis</i> - Sporen	37
1.3	Produktion der Triactinomyxon Sporen	37
1.4	Forellenbrütlinge	38
1.5	Tierversuchsantrag	40
1.6	Versuchsaufbau	40
1.6.1	Aquarien	40

---

1.6.2	Feldversuch	40
2.	METHODEN	43
2.1	Versuchsübersicht	43
2.2	Infektionsversuche der Tubificiden	43
2.2.1	Vorbereitung der Becken	43
2.2.2	Gewinnung der <i>Myxobolus cerebralis</i> Sporen	44
2.2.3	Infektion der Tubificiden	44
2.2.4	Gewinnung der Triactinomyxon- Sporen	44
2.2.5	Infektion der Forellenbrütlinge	45
2.2.5.1	Laborversuche	45
2.2.5.2	Feldversuch	46
2.3	Überprüfung des Infektionserfolgs	46
2.3.1	Untersuchung des Infektionsbads post expositionem	46
2.3.2	Rasterelektronenmikroskopie	47
2.3.3	Sporoplasmenzählung	47
2.4	Beobachtung der klinischen Symptome	47
2.5	Verarbeitung des Fischmaterials	48
2.5.1	Tötung der Forellen	48
2.5.2	Blutentnahme	48
2.5.2.1	Methode	48
2.5.2.2	Anfertigen des Differentialblutbilds	48
2.5.3	Verwertung des infizierten Kopfkorpelmaterials	48
2.5.3.1	Quantitative Erfassung der Sporenmenge mittels Verdauungsmethode	48
2.5.3.2	Histologie des Kopfkorpels	50
2.6	Datenverarbeitung	52
2.6.1	Statistik	52
2.6.2	Photographien	52

---

IV. ERGEBNISSE	53
1. Infektionsversuche der Regenbogenforellen	53
1.1 Triactinomyxonsporenproduktion	53
2. Postexpositionelle Überprüfung des Infektionserfolgs	53
2.1 LABOREXPERIMENT	53
2.1.1 Klinische Beobachtungen	53
2.1.2 Differenzierung der Triactinomyxonsporen post expositionem	53
2.1.3 Histologische Untersuchung	54
2.1.4 Rasterelektronenmikroskopie	55
2.2 FELDEXPERIMENT	55
3. Klinische Beobachtungen	56
3.1 LABOREXPERIMENT	57
3.1.1 I. Infektionsversuch	57
3.1.1.1 Tag 50 post expositionem	57
3.1.1.2 Tag 100 post expositionem	60
3.1.1.3 Tag 150 post expositionem	65
3.1.2 II. Infektionsversuch	69
3.1.2.1 Tag 50 post expositionem	69
3.1.2.2 Tag 100 post expositionem	69
3.1.2.3 Tag 150 post expositionem	70
3.1.3 III. Infektionsversuch	71
3.1.3.1 Tag 50 post expositionem	71
3.1.3.2 Tag 100 post expositionem	71
3.1.3.3 Tag 150 post expositionem	72
3.2 FELDEXPERIMENT	73
3.2.1 Tag 50 post expositionem	73
3.2.2 Tag 100 post expositionem	73
3.2.3 Tag 120 post expositionem	73

---

4.	Post mortem - Untersuchungen	74
4.1	Gewicht und Größe	74
4.1.1	LABOREXPERIMENT	74
4.1.1.1	I. Infektionsversuch	74
4.1.1.2	II. & III. Infektionsversuch	77
4.1.2	FELDEXPERIMENT	77
4.2	Infektionsprävalenz und Sporenauszählung mittels Digestionsmethode	78
4.2.1	LABOREXPERIMENT	78
4.2.1.1	I. Infektionsversuch	78
4.2.1.1.1	Stamm <i>DtHo</i>	78
4.2.1.1.2	Stamm <i>DtLh</i>	79
4.2.1.1.3	Stamm <i>DtHs</i>	80
4.2.1.1.4	Stamm <i>DtHa</i>	80
4.2.1.1.5	Stamm <i>AmTL</i>	81
4.2.1.1.6	Bachforelle	82
4.2.1.2	II. & III. Infektionsversuch	84
4.2.1.2.1	Stamm <i>DtHo</i>	84
4.2.1.2.2	Stamm <i>DtHs</i>	84
4.2.1.2.3	Stamm <i>AmTL</i>	85
4.2.2	FELDEXPERIMENT	86
4.2.2.1	Stamm <i>DtHo</i>	86
4.2.2.2	Stamm <i>DtLh</i>	86
4.2.2.3	Stamm <i>AmTL</i>	86
4.2.2.4	Bachforelle	87
4.3	Pathohistologische Erhebungen	88
4.3.1	LABOREXPERIMENT	89
4.3.1.1	I. Infektionsversuch	89
4.3.1.1.1	Stamm <i>DtHo</i>	89
4.3.1.1.2	Stamm <i>DtLh</i>	92
4.3.1.1.3	Stamm <i>DtHs</i>	95
4.3.1.1.4	Stamm <i>DtHa</i>	98
4.3.1.1.5	Stamm <i>AmTL</i>	101

4.3.1.1.6	Bachforelle	105
4.3.1.2	II. Infektionsversuch	106
4.3.1.2.1	Stamm <i>DtHo</i>	106
4.3.1.2.2	Stamm <i>DtHs</i>	106
4.3.1.2.3	Stamm <i>AmTL</i>	106
4.3.1.3	III. Infektionsversuch	107
4.3.1.3.1	Stamm <i>DtHo</i>	107
4.3.1.3.2	Stamm <i>DtHs</i>	107
4.3.1.3.3	Stamm <i>AmTL</i>	107
4.3.2	FELDEXPERIMENT	108
4.3.2.1	Stamm <i>DtHo</i>	108
4.3.2.2	Stamm <i>DtLh</i>	108
4.3.2.3	Stamm <i>AmTL</i>	108
4.3.2.4	Bachforelle	108
4.4	Blutuntersuchungen	109
4.4.1	LABOREXPERIMENT	109
4.4.1.1	I. Infektionsversuch	109
4.4.1.1.1	Stamm <i>DtHo</i>	109
4.4.1.1.2	Stamm <i>DtLh</i>	109
4.4.1.1.3	Stamm <i>DtHs</i>	109
4.4.1.1.4	Stamm <i>DtHa</i>	110
4.4.1.1.5	Stamm <i>AmTL</i>	110
4.4.1.2	II. Infektionsversuch	111
4.4.1.3	III. Infektionsversuch	112
4.4.1.4	Gegenüberstellung des I., II. und III. Infektionsversuchs	113
4.4.2	FELDEXPERIMENT	114
V.	DISKUSSION UND BEWERTUNG DER ERGEBNISSE	116
1.	Infektion der Forellenbrütlinge	116
2.	Die Empfänglichkeit für die Drehkrankheit im Stammvergleich	117
2.1	Klinische Beobachtungen	117
2.1.1	Inkubationszeit	117
2.1.2	Symptomprävalenz	118

---

2.1.2.1	I. Infektion	119
2.1.2.1.1	Vergleich <i>AmTL</i> - deutsche Stämme	119
2.1.2.1.2	Vergleich der deutschen Stämme untereinander	120
2.1.2.1.3	Zusammenfassung der klinischen Symptomatik	121
2.1.2.2	II. und III. Infektion	122
2.1.2.3	Feldexperiment	122
2.2	Post mortem Erhebungen	123
2.2.1	Gewicht und Größe	123
2.2.2	Infektionsprävalenz im Stammvergleich	124
2.2.3	Bewertung der Ergebnisse der quantitativen Sporenerfassung	124
2.2.3.1	I. Infektion	124
2.2.3.2	II. Infektion	126
2.2.3.3	III. Infektion	126
2.2.3.4	Feldexperiment	126
2.2.3.5	Stammvergleich der Sporendichte im Knorpel	126
2.2.4	Bewertung der Ergebnisse der histologischen Untersuchung	128
2.2.4.1	I. Infektion	129
2.2.4.2	II. und III. Infektion	131
2.2.4.3	Feldexperiment	131
2.3	Differentialblutbilder	132
2.3.1	Stammvergleich im Rahmen der I. Infektion	132
2.3.2	Gegenüberstellung der I., II. und III. Infektion	132
2.4	Schlusswort	133
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	135
VII.	SUMMARY	137
VIII.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	139
IX.	LITERATURVERZEICHNIS	140
X.	DANKSAGUNG	158
XI.	LEBENS LAUF	160



## I. EINLEITUNG

Die Drehkrankheit der Salmoniden ist seit einem Jahrhundert in Europa eine bekannte Ichthyoparasitose. Der Erreger, *Myxobolus cerebralis*, ein mehrzelliger Parasit aus dem Stamm der Myxozoa, vermehrt sich im Knorpel seines Wirtes und ruft ein charakteristisches Krankheitsbild hervor. Wichtigste Symptome sind das namensgebende schnelle Rotieren erkrankter Salmoniden um eine senkrecht zum Körper gedachte Achse, Schwarzverfärbungen des kaudalen Körperdrittels und Deformationen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule. Ursprünglich in Europa beobachtet, wurde die Krankheit durch internationalen Handel in den meisten forellenproduzierenden Ländern heimisch. In den Vereinigten Staaten verbreitet sich *Myxobolus cerebralis* seit den 50er Jahren rasant und richtet bis heute Schäden großen Ausmaßes sowohl in Fischzuchten als auch in freier Wildbahn an. Während in ersteren durch Optimierung der Haltungsbedingungen die Krankheit weitgehend in den Griff zu bekommen ist, verursacht die Drehkrankheit in den großen Flüssen wie z.B. dem Colorado ein Massensterben der Forellen und trifft die Bevölkerung der U.S.A., die traditionell dem „Fly-Fishing“ verbunden ist und im Fliegenfischtourismus einen wichtigen wirtschaftlichen Sektor gefunden hat, sowohl in emotionaler als auch ökonomischer Hinsicht.

Aus diesen Gründen wird der Erforschung der Drehkrankheit speziell in den U.S.A. in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit gewidmet. Im Zuge dessen wurde durch eine Bevölkerungsinitiative im Jahre 1994 die "Whirling Disease Foundation" gegründet. Insbesondere die Wechselwirkungen zwischen Wirt und Parasit, die medikamentelle Bekämpfung und die Suche nach Resistenzmechanismen sind seitdem von größtem Interesse.

Folgende Begebenheit liegt diesem Dissertationsprojekt zugrunde: Regenbogenforellen amerikanischer Herkunft, welche aufgrund ihrer bekannten Frohwüchsigkeit als spezifisch pathogenfreie Forelleneier aus den Vereinigten Staaten in eine deutsche Fischzucht zugekauft worden waren, erkrankten plötzlich an der Drehkrankheit, obwohl die betriebseigenen Artgenossen klinisch völlig gesund blieben und diese Parasitose auch in den letzten Jahren kein Problem in dem speziellen Betrieb dargestellt hat. Da alle Forellen unter gleichen Aufzuchtbedingungen gehalten worden waren, lag die Vermutung nahe, dass die betriebseigenen Regenbogenforellen im Laufe des letzten Jahrhunderts durch natürliche Selektion eine gewisse Resistenz gegenüber der Drehkrankheit entwickelt haben könnten.

---

In der vorliegenden Arbeit sollen im Rahmen von kontrollierten Labor- und Feldversuchen vier deutsche Regenbogenforellenstämme, ein Bachforellenstamm und ein amerikanischer Regenbogenforellenstamm auf ihre Empfänglichkeit für *Myxobolus cerebralis* untersucht werden.

## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1. Allgemeines zu Myxozoa

#### 1.1 Taxonomie

Die Drehkrankheit der Salmoniden wird durch den Parasiten *Myxobolus cerebralis* Hofer aus dem Stamm der Myxozoa Grassé (1970) verursacht.

Dieser wurde durch die International Commission on Protozoan Nomenclature (LEVINE et al., 1980) in die beiden Klassen Myxosporea Bütschli, 1881, und Actinosporea Noble, 1980, unterteilt. Obwohl die Myxosporea der Ordnung der Protozoa zugeordnet sind, gehören sie ihrer Mehrzelligkeit zufolge eindeutig den Metazoa an (SMOTHERS et al., 1994). Alle Vertreter dieses Stammes sind obligat parasitär. Ihre Sporen bestehen aus Schalenzellen, Polkapselzellen mit ausschleuderbarem Polfilament und einem infektiösem Amöboidkeim.

Die Actinosporea sind Parasiten aquatischer Oligochaeten und Sipunculiden. Bis 1984 wurden 44 Arten mit 14 Gattungen unterschieden (MARQUÈS, 1984).

In der Klasse der Myxosporea sind zurzeit ca. 1350 Arten beschrieben, die sich in 52 Genera unterteilen (LOM und DYKOVA, 1995). Obwohl es sich bei den Myxozoa um Parasiten der Salz- und Süßwasserfische handelt, die sowohl histozoisch als auch coelozoisch parasitieren (LOM, 1987; KENT et al., 2001), finden sie sich in seltenen Fällen auch bei Plathelminthen. Unlängst fanden FRIEDRICH et al. (2000) Myxozoa-ähnliche Parasiten im Gehirn eines Maulwurfs (*Talpa europaea*).

Nur wenige dieser Parasiten sind als hochpathogen einzustufen. Bekannte durch Myxosporea verursachte Ichthyoparasitosen der Süßwasserfische sind neben der Drehkrankheit die proliferative Nierenerkrankung der Salmoniden (Proliferative Kidney Disease), die Schwimmblasenentzündung der Karpfen (Swimbladder Inflammation) und die infektiöse Nierenvergrößerung beim Goldfisch (Cystic Kidney Enlargement). Bis 1984 war der Infektionszyklus des Erregers der Drehkrankheit nicht hinreichend erforscht. Da der bestehende Zwei-Wirte-Zyklus der Myxozoa nicht bekannt war, wurden in der Taxonomie die systematischen Stellungen beider Klassen immer wieder geändert.

Lange wurde ein direkter Infektionsweg sowohl der *Myxobolus cerebralis*-Sporen auf Fische als auch der Actinosporea-Sporen des Genus *Triactinomyxon* auf Oligochaeten angenommen (MOLNÀR, 1979). Das wiederholte Scheitern durchgeführter Infektionsversuche gab schließlich in

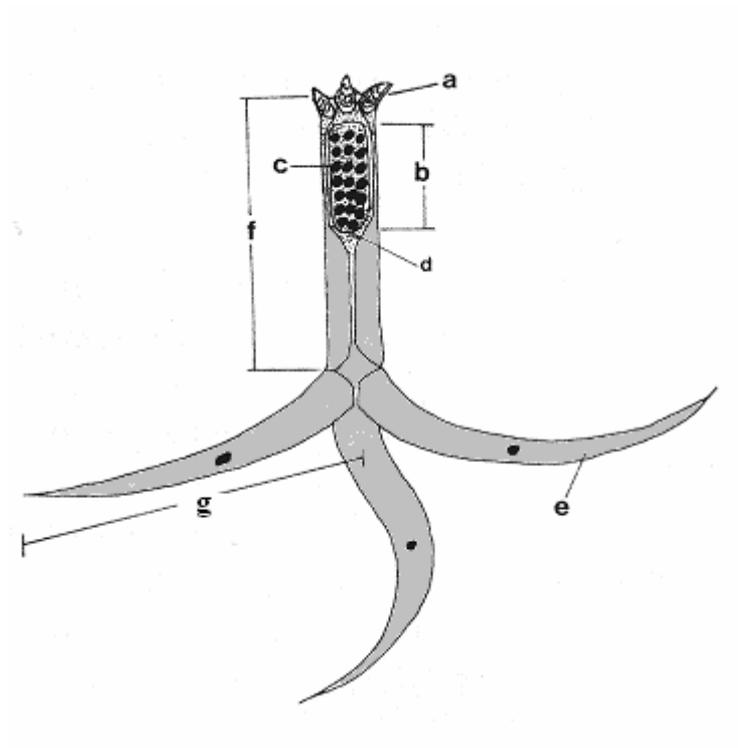
---

beiden Fällen Anlass zu der Vermutung, dass die Erreger eine gewisse Reifezeit im Schlamm zur Entwicklung ihrer Infektiosität benötigten (JANISZEWSKA, 1955; PUTZ und HOFFMAN, 1970; MARQUES, 1984). Diese These konnte jedoch weder bei den Infektionsversuchen der Tubificiden noch bei denen der Salmoniden eindeutig bewiesen werden.

MARKIW und WOLF (1983) entdeckten schließlich, dass sich *Myxobolus cerebralis* in Tubificiden des Genus *Tubifex tubifex* zu den für Fische infektiösen Triactinomyxon-Sporen weiterentwickelt. Dies stellte eine bahnbrechende Entdeckung auf dem Gebiet der Ichthyoparasitologie dar.

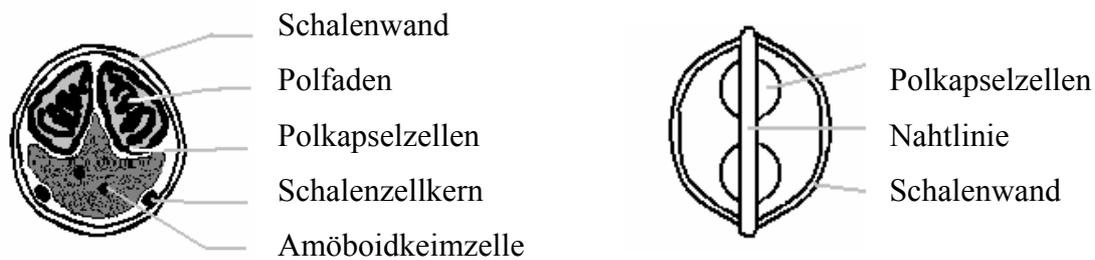
Jenen Forschungsergebnissen zufolge unterscheidet man heute grundsätzlich zwei Arten von Sporen:

Die für den Fisch infektiöse Form, die so genannte Triactinomyxonspore (siehe Abb. 1), und die für den Tubificiden infektiöse Form des Parasiten, die *Myxobolus cerebralis* Spore (siehe Abb. 2).



- a.) Polkapsel
- b.) Sporoplasma (=Amöboidkeim)
- c.) Amöboidkeimzellen
- d.) das Sporoplasma umhüllende Zelle
- e.) Fortsatz
- f.) Stiel
- g.) Länge des Fortsatzes

**Abb. 1: Schematische Darstellung einer reifen, entfalteten Triactinomyxon-Spore (nach EL-MATBOULI et al., 1998)**



a Frontalansicht

b Lateralansicht

**Abb. 2:** Schematische Darstellung einer Spore von *Myxobolus cerebralis* (nach EL-MATBOULI, 1996).

1989 bestätigten EL-MATBOULI und HOFFMANN diese Befunde und bewiesen, dass der Oligochaet *Tubifex tubifex* als zweiter Wirt für die Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* notwendig ist.

In den darauf folgenden Jahren konnten auch für weitere Myxosporea/Actinosporea Arten Zwei-Wirte-Zyklen mit den Wirten Fisch/Oligochaet nachgewiesen werden (EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1991a; EL-MATBOULI et al., 1992a). Durch molekularbiologische Untersuchungen konnten SMOTHERS et al. (1994) und SCHLEGEL et al. (1996) beide Klassen eindeutig den Metazoa und hier den Bilateria zuordnen. Diese Erkenntnis widerspricht jedoch den Ergebnissen von SIDDALL et al. (1995), die vorschlugen, die Myxozoa in den Stamm der Cnidaria (=Nesseltiere) mit einzubeziehen.

Bis heute ist nicht endgültig erwiesen, ob alle Vertreter der Myxozoa einem Zwei-Wirte-Zyklus unterliegen.

Dessen ungeachtet wurde vorgeschlagen, die bestehende Taxonomie durch eine zeitgemäße, den aktuellen Forschungsergebnissen entsprechende, zu ersetzen. Durch die Auflösung der Klasse Actinosporea könnten alle Gattungsnamen der Actinosporea als Kollektivgruppe behandelt werden und würden nicht mehr mit den Gattungsnamen der Myxosporea konkurrieren (KENT et al., 1994). Diese neue Einteilung der Myxozoa ist bis heute noch nicht erfolgt.

Die Stellung von *Myxobolus cerebralis*, dem Erreger der Drehkrankheit der Salmoniden, in der systematischen Einteilung der Myxozoa nach LEVINE et al. (1980), LOM und NOBLE (1984) sowie LOM und DYKOVÁ (1992) gestaltet sich wie folgt:

---

STAMM	Myxozoa Grassé, 1970
KLASSE	Myxosporea Bütschli, 1881
ORDNUNG	Bivalvulida Shulman, 1959
UNTERORDNUNG	Platysporina Kudo, 1919
FAMILIE	Myxobolidae Thélohan, 1892
GATTUNG	Myxobolus
ART	Myxobolus cerebralis

## 1.2 Entwicklungszyklus

### 1.2.1 Entwicklung im Oligochaeten

Der Entwicklungszyklus des Parasiten vollzieht sich folgendermaßen: Nach dem Tod des salmoniden Fischwirts werden aus dem Knorpel die reifen *Myxobolus cerebralis*-Sporen freigesetzt und von Tubificiden aufgenommen (WOLF et al., 1986). Hier findet eine dreiphasige Entwicklung statt, welche Schizogonie, Gametogonie und Sporogonie umfasst (siehe Abb. 3). Im Oligochaeten vollzieht sich so die Entwicklung zur Triactinomyxonspore, welche ausgeschieden wird und frei im Wasser schwebend die infektiöse Form für den Salmoniden darstellt. Nach Penetration der Epidermis vollzieht sich eine zwei Phasen umfassende Entwicklung, die präsporogonische und die sporogonische Vermehrungsphase (MANDOK, 1993; EL-MATBOULI et al., 1995). Der genaue Entwicklungszyklus ist in Abb. 3 dargestellt. Im Anschluss daran findet sich eine detaillierte Beschreibung.

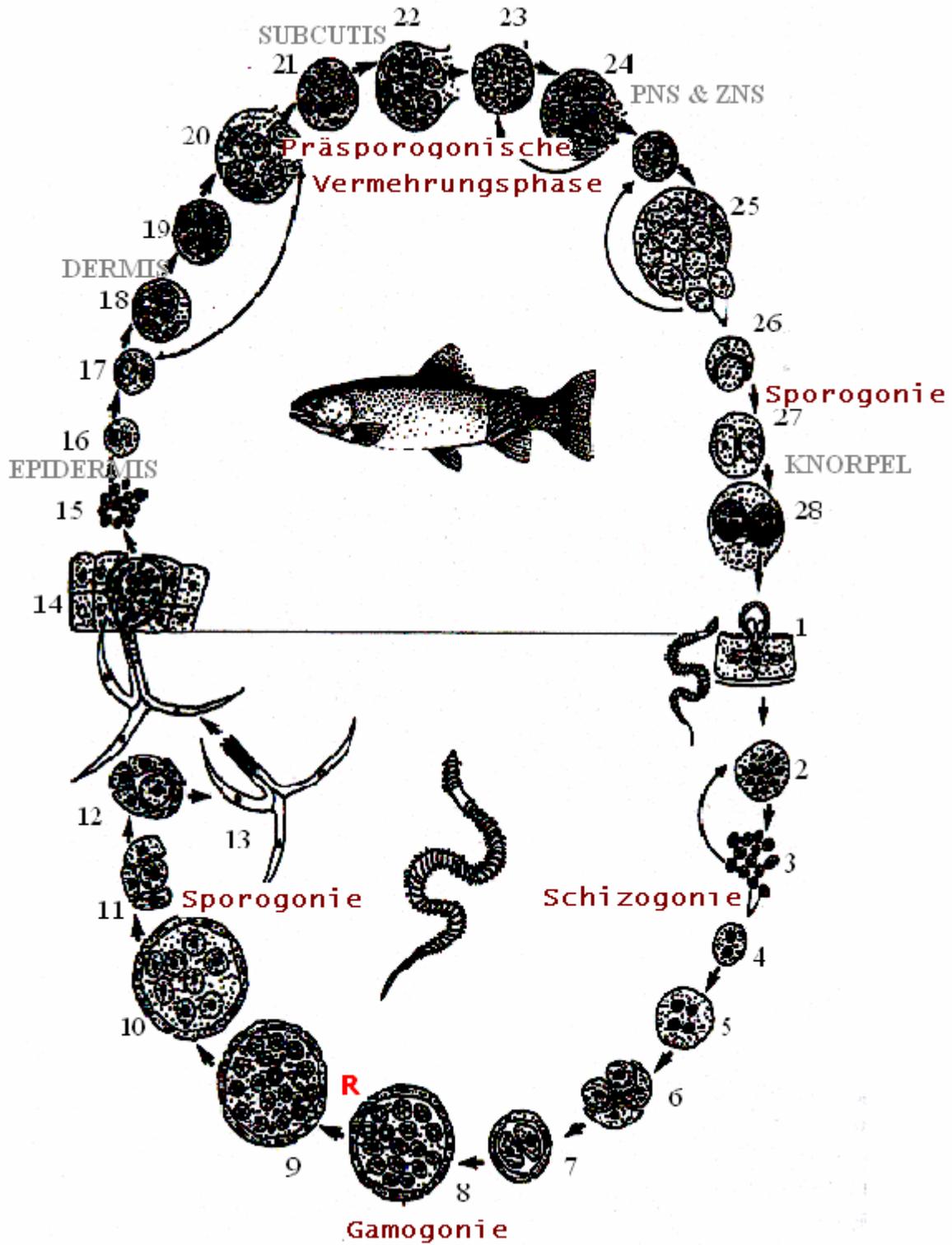


Abb. 3: Schematische Darstellung der Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* im Darmepithel von *Tubifex tubifex* zu Triactinomyxon Sporen nach EL-MATBOULI et al. (1998)

1. Aufnahme von *Myxobolus cerebralis*-Sporen durch *Tubifex tubifex*.
2. Ausschlüpfen bzw. Eindringen des Amöboidkeims von *Myxobolus cerebralis* zwischen den Darmepithelzellen von *Tubifex tubifex* (WOLF et al., 1986; EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1998).
3. Interepitheliale Kernvermehrung (**Schizogonie**) des Amöboidkeims.
4. Durch Plasmogamie zweier Einzellstadien entsteht ein zweikerniges Stadium (ab dem 25. Tag nachweisbar) (EL-MATBOULI, 1996).
5. Vierkerniges Stadium, entstanden durch einmalige Kernteilung des zweikernigen Stadiums.
6. Vierzelliges Stadium, zwei Zellen beginnen die anderen zwei zu umschließen.
7. Junge vierzellige Pansporozyste mit zwei äußeren somatischen Hüllzellen und zwei inneren generativen, aufgrund unterschiedlicher Genome als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zellen bezeichneter Zellen. Diese  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zellen durchlaufen je drei mitotische Teilungen, die Hüllzellen jeweils zwei.
8. Pansporozyste mit acht Hüllzellen und 16 generativen Zellen (Gameten). 16 diploiden Gameten durchlaufen eine Reduktionsteilung (**R (rot eingefärbt)** Meiose).
9. Daraus entstehen 16 haploide Gameten (acht  $\alpha$ - und 8  $\beta$ -Gameten) und 16 Polkörper. Je ein  $\alpha$ - und ein  $\beta$ -Gamet verschmelzen und bilden je eine Zygote. Somit enthält die Pansporozyste nun acht diploide Zygoten.
10. Jede Zygote teilt sich zweimal mitotisch (Beginn der **Sporogonie**) und es entstehen vier pyramidenförmige Zellstadien (Vierzellstadium), drei periphere und eine zentrale Zelle (Ursprungszelle des Amöboidkeims).
11. Nach einmaliger mitotischer Teilung der drei peripher gelegenen Zellen entstehen drei Polkapselzellen und drei Schalenzellen. Die vierte zentrale Zelle durchläuft viele mitotische Teilungen und entwickelt auf diese Weise das Sporoplasma der Triactinomyxonspore.
12. Die drei Schalenzellen beginnen sich um die drei Polkapseln auszudehnen. Die Ursprungszelle des Amöboidkeims teilt sich einmal mitotisch und danach entstehen eine somatische und eine generative Amöboidkeimzelle. Beide bleiben bis zur Vollendung der Teilung der Amöboidkeimzelle (zu ca. 64 Zellen) außerhalb der drei Schalen, dann platzt die Darmlumenwand.
13. Eine reife Triactinomyxonspore. Bei einer Wassertemperatur von  $15 \pm 2$  °C werden auf diese Art und Weise ca. 90 Tage nach Infektion der Oligochaeten die ersten Triactinomyxon Sporen ausgeschieden. Im Wasser folgt eine osmotisch bedingte Entfaltung (EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1998).

### 1.2.2 Entwicklung im Fisch

14. Infektion des salmoniden Fischwirts an den sekretorischen Öffnungen der Epidermisschleimzellen und dem respiratorischen Kiemenepithel durch den Kontakt mit frei im Wasser schwebenden *Triactinomyxon*-Sporen oder durch die orale Aufnahme von infizierten *Oligochaeten* (WOLF und MARKIW, 1984; EL-MATBOULI und HOFFMANN, 1989). Dieser Vorgang ist bereits eine Minute post expositionem möglich und wird vermutlich chemotaktisch vermittelt.
15. Nach dem Ausschleudern und der Injektion der Polfilamente in die sekretorischen Öffnungen kann der Amöboidkeim in die Epidermis penetrieren. Bis zu 60 min andauernde, interzelluläre Wanderung des Amöboidkeims in der Epidermis. Es folgt das Auflösen der die diploiden Amöboidkeimzellen umhüllende Zelle.
16. Penetration der Amöboidkeimzellen in einzelne umliegende Epidermis- bzw. Kiemenepithelzellen.
17. Endogene Zellteilung Die daraus entstehende Sekundärzelle ist von einer Primärzelle umschlossen.
18. Mehrfache mitotische Teilung der Sekundärzelle.
19. Entstehung von sog. Doppelzellstadien durch endogene Teilung der Sekundärzellen (elektronenmikroskopisch sieben Stunden post expositionem sichtbar).
20. Ruptur der Zellmembran der ursprünglichen Primärzelle. Nach Platzen der Wirtszelle werden die Doppelzellstadien freigesetzt und infizieren anschließend entweder neue benachbarte Epithelzellen oder penetrieren tiefer in die Dermis oder Subkutis. 24 Stunden post expositionem sind in der Epidermis keine Entwicklungsstadien mehr nachweisbar (EL-MATBOULI et al., 1995).
21. In der Subkutis können interzellulär liegende Doppelzellstadien noch zwei bis vier Tage post expositionem nachgewiesen werden.
22. Vermehrung der Doppelzellstadien durch endogene Teilung, Ruptur der Zellmembran der umgebenden Zelle.
23. Migration der Doppelzellstadien in das periphere Nervengewebe.
24. Anschließende Wanderung zu größeren Ganglien und zum Zentralnervensystem (ZNS) sowie weitere Vermehrung durch Teilung. Wiederum Ruptur der umgebenden Wirtszellen (Tag 6-14: Rückenmark, Tag 16-24: Gehirn).
25. Sporogonie im benachbarten Knorpelgewebe. Dadurch Entstehung großer Plasmodien (mehrzelliges Parasitenstadium mit vegetativen und generativen Kern). Histologisch

nachweisbar ab dem 40. Tag post expositionem im Knorpelgewebe (EL-MATBOULI et al., 1995).

Desintegration der umhüllenden Zelle des Plasmodiums

Anschließend Wiederholung des Zyklus zur Bildung neuer Plasmodien oder...

26. ... Vereinigung von je zwei umhüllt gewesener Zellen: Umschließung einer inneren, generativen sog. Sporoblast-Zelle durch eine äußere somatische sog. Perizyte zur Bildung eines Pansporoblasten (EL-MATBOULI et al., 1995).
27. Durch eine anschließende mitotische Teilung entstehen zwei diploide Sporoblast-Zellen und im weiteren Verlauf durch wiederum folgende mitotische Teilungen...
28. ... zwölf diploide Zellen, die jeweils zwei *Myxobolus cerebralis*-Sporen bilden  
Diese zwölf Zellen entwickeln sich wie folgt:  
Zu zwei Schalenhälften-bildenden Zellen (engl. valvogenic cells),  
zu zwei Polkapsel bildenden Zellen (engl. capsulogenic cells)  
und einem zweikernigen Amöboidkeim.  
Die reifen *Myxobolus cerebralis*-Sporen sind histologisch ab dem 90. Tag post expositionem im Knorpelgewebe nachzuweisen (EL-MATBOULI et al., 1992a).

Nach dem Tod des Salmoniden werden die Sporen aus dem Knorpelgewebe freigesetzt, und der Entwicklungszyklus beginnt von neuem. Neuere Untersuchungen von EL-MATBOULI (nicht publiziert) weisen darauf hin, dass der infizierte Salmonid bereits zu Lebzeiten kontinuierlich Sporen ausscheidet.

Bei der Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* werden somit zwei Sporengenerationen gebildet, und zwar im Fisch und im Oligochaeten, wobei die Reduktionsteilung und die Gametenfusion im Oligochaeten stattfinden. Damit ist der Oligochaet als Endwirt und der Fisch als Zwischenwirt anzusehen (EL-MATBOULI et al., 1998).

## 2. Die Drehkrankheit der Regenbogenforelle

### 2.1 Symptomatologie und deren Pathogenese

Die beschriebene Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* und vor allem seine Vermehrung im Knorpel des Salmoniden führt zu einem charakteristischen Krankheitsbild, welches die drei Kardinalsymptome pathologisches Schwimmverhalten, Deformationen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule sowie Schwarzverfärbungen des kaudalen Körperdrittels beinhaltet.

#### 2.1.1 Pathologisches Schwimmverhalten

Namen gebend für die Ichthyoparasitose war das verblüffende Schwimmverhalten der klinisch erkrankten Forelle, die- meist verursacht durch äußere Stimuli bzw. Stresssituationen- plötzlich schnelle Drehbewegungen um eine zum Fisch vertikal stehende Achse vollführt.

Als dessen Ursache wurden lange Zeit periphere neurologische Schädigungen angesehen.

Insbesondere eine Zerstörung des Vestibularorgans sowie eine daraus resultierende Kompression unspezifischer Nerven wurden für die Gleichgewichtsstörungen verantwortlich gemacht, und das schnelle Rotieren als dessen Folge angesehen (PLEHN, 1904; HOFFMAN und DUNBAR, 1961; DOGIEL et al., 1970). Trotzdem wurde von den erwähnten Autoren eine nur geringe Korrelation zwischen dem Ausmaß der Zerstörung des Vestibularorgans und der Ausprägung des abnormen Schwimmverhaltens eingeräumt. Ferner wurde herausgefunden, dass bei Schädigungen des Gleichgewichtsorgans zuerst die Fähigkeit, eine senkrechte Körperhaltung aufrechtzuerhalten, dauerhaft verloren geht. Die meisten drehkranken Fische mit „whirling behavior“ sind erfahrungsgemäß jedoch zumindest zeitweilig durchaus dazu fähig. Auch zeigten Fische, denen der Vestibularapparat experimentell zerstört wurde, von den durch *Myxobolus cerebralis* bedingten Drehbewegungen unterschiedliche Bewegungsabläufe (ROSE et al., 2000). Diese neu gewonnenen Erkenntnisse über die Funktionen des Vestibularorgans machten intensivere Ursachenforschung bezüglich des Drehverhaltens erforderlich.

ROSE et al. (2000) beobachteten, dass drehkranke Regenbogenforellen oftmals auf der Stelle kopfüber verharren. Auch fielen sie dadurch auf, dass physiologische Bewegungsabläufe häufig durch eine Art Starre abrupt beendet wurden und im weiteren Verlauf die Fische auf den Boden sanken und nur noch Atembewegungen vollführten. Die Begründung finden ROSE et al. (2000) in einer Kompression des Gehirnstammes. Nach einer gewissen Zeit konnten diese Fische wieder

intensive Drehbewegungen durchführen. Neben den klinischen Beobachtungen wurden drehkranke Forellen von den erwähnten Autoren auch histologisch untersucht:

Neben auffälligen strukturellen Veränderungen der äußeren Regionen des Hirnstammes entdeckten sie zusätzlich in dessen tieferen Regionen kleine aber klar erkennbare Läsionen bei ca. 50% der Fische. Histologisch fand sich das Bild degenerierter Axone und dislozierter Faserzüge. Auch in den absteigenden Nervenfasern fanden sich gelegentlich veränderte Faserzüge (ROSE et al., 2000).

Die ringähnlichen Kompressionen des Rückenmarks und die Deformationen der äußeren Hirnregionen werden von einer granulomatösen Entzündung, die als Immunantwort des Fisches zu werten ist und die in unmittelbarer Nachbarschaft dieser neuralen Strukturen liegt, verursacht. In diesem Entzündungsgeschehen trifft man mitunter versprengte Trophozoiten und einige kleinere Herde reifender und reifer *Myxobolus cerebralis*-Sporen an. An den konstringierten Stellen beansprucht die Entzündung einen großen Bereich zwischen Wirbel und Rückenmark und engt so den Raum für Meningen und Zerebrospinalflüssigkeit ein (ROSE et al., 2000).

Diese histologischen Befunde erklären das durch einen äußeren Reiz verursachte Drehen:

Beim gesunden Fisch triggern die auf den Reiz folgenden Aktionspotentiale die Aktivität in den retikulospinalen Neuronen. Diese wird an ein neuronales Geflecht im Rückenmark übermittelt und löst hier physiologischerweise eine schnelle, einzelne Drehung aus (ROSE et al., 2000).

Bei einem mit *Myxobolus cerebralis* infizierten Fisch jedoch wird das Rückenmark an den Stellen, an denen es ringförmig eingeschnürt ist, in seiner Stellung fixiert, so dass eine einzelne Drehung des erkrankten Fisches einen Zug an den sich im äußeren Bereich des Rückenmarks befindlichen Axonen verursacht. Dies löst an den von diesem Zug betroffenen sensorischen Axonen eine Flut von aufsteigenden Impulsen aus, die wiederum- gleichsam einer Kettenreaktion- die oben genannten retikulospinalen Neuronen aktivieren und somit eine erneute Drehung des erkrankten Fisches auslösen. Auch diese Drehung löst dann sofort wieder aufsteigende neurale Impulse aus, so dass sich eine Drehung des Fisches nach der anderen ergibt. Diese Kettenreaktion kann erst durch einen kompetitiven Stimulus unterbrochen oder durch endogene neurale Ereignisse beendet werden. Eine unterschiedliche Ausprägung des Schwimmverhaltens wird somit auf ein unterschiedlich stark vorangeschrittenes Entzündungsgeschehen zurückgeführt (ROSE et al., 2000).

### 2.1.2 Schwarzfärbung des kaudalen Körperdrittels

Die Ursache hierfür ist nicht eindeutig geklärt. SCHÄPERCLAUS (1990) nimmt an, dass durch den mechanischen Druck deformierter Knorpelanteile der Wirbelsäule die im Nervus Sympathikus enthaltenen pigmentomotorischen Nervenzellen, welche die Pigmentzellen des Schwanzes

innervieren, irritiert bzw. geschädigt werden. Hierdurch soll es zu einer Dunkelverfärbung derjenigen Körperregion kommen, welche kaudal der Schädigung liegt.

### 2.1.3 Deformation

Durch die fortdauernde Vermehrung des Parasiten und dessen Sporenbildung innerhalb des Knorpelgewebes des Wirtes wird sowohl die enchondrale Ossifikation verzögert als auch die Knorpelarchitektur zerstört. Ungleichmäßige Wucherungen im Knorpel, die sich als bleibende Deformationen im Knochen manifestieren, sind die Folge. Stark infizierte Fische fallen daher durch eine stark brachyzephe charakteristische Kopfform mit missgestalteten Kiefern auf. Benannt wurde dieses Symptom nach einer ebenfalls brachyzephalen Hunderrasse („Mopskopf“). Verkürzte Kiemendeckel führen durch den mangelnden mechanischen Schutz leicht zu Verschmutzungen der Kiemen. Zusätzlich leiden erkrankte Tiere oft an massiven Wirbelsäulenverkrümmungen, welche das physiologische Schwimmverhalten stark beeinträchtigen (PLEHN, 1904; SCHÄPERCLAUS, 1931; HOFFMAN et al., 1962).

Während sich die Symptome Whirling und Blacktail mit der Zeit abschwächen bzw. teilweise sogar ganz zurückbilden können, leidet die drehkranke Forelle zeitlebens an den skelettalen Deformationen, da diese bereits den „Platzhalter“ für das knöcherne Skelett, den enchondralen Knorpel, betreffen (PLEHN, 1904).

## 2.2 Häufige Begleiterscheinungen

Speziell aufgrund der abnormen Drehbewegungen bei Aufregung sind erkrankte Tiere in vielen Punkten ihren Artgenossen unterlegen. So sind sie häufig nicht in der Lage, ausreichend Nahrung zu sich zu nehmen. Dies wird bei stark betroffenen Tieren zusätzlich erschwert durch Deformationen im Kieferbereich. In freier Wildbahn fallen drehkranke Forellen aufgrund ihres schlechten Allgemeinbefindens und ihrer stark eingeschränkten Fluchtmöglichkeit oftmals Fressfeinden zum Opfer (PLEHN, 1904). Durch die Immunsuppression (auf welche im weiteren Textverlauf noch näher eingegangen wird) stellen darüber hinaus Sekundärinfektionen eine häufige Todesfolge dar (PLEHN, 1904).

## 2.3 Diagnose

### 2.3.1 Klinik

Durchschnittlich ab dem 60. Tag post infectionem können laut SCHÄPERCLAUS (1990) die Schwarzverfärbung der kaudalen Körperpartie sowie die charakteristischen, schnellen Drehbewegungen um eine zum Fisch senkrechte Achse beobachtet werden (PLEHN, 1904; HALLIDAY, 1976). Später zeigen sich die durch die massive Erregervermehrung im Knorpel verursachten Deformationen des Skelettsystems, insbesondere der Mopskopf und die Deviation der Wirbelsäule (PLEHN, 1904; SCHÄPERCLAUS, 1931; HOFFMAN et al., 1962).

Trotz dieser recht charakteristischen Symptomatik kann die eindeutige Diagnose nur durch den Nachweis der Sporen erfolgen, da die einzelnen Symptome auch durch andere Faktoren, wie z.B. Vitaminmangelkrankungen (WOLF et al., 1981), Enteritiden (PLEHN, 1904) sowie genetische bzw. nutritive Ursachen (HALLIDAY, 1973b) verursacht werden können.

### 2.3.2 Nachweis der Sporen

*Myxobolus cerebralis* ist der einzige Vertreter der Myxosporea, der im Knorpel von Salmoniden zu finden ist (MARKIW, 1992a). Bei der Untersuchung von nativem Knorpel-Knochenmaterial muss jedoch bedacht werden, dass auch andere Myxosporea-Sporen hier lokalisiert sind, die der ungeübte Untersucher leicht als *Myxobolus cerebralis*-Sporen identifizieren kann. So finden sich im ZNS die Myxosporea-Arten *M. kisutchi* und *M. arcticus* und in der Muskulatur *M. insidiosus* (MARKIW, 1992a). Durch genaue Lokalisation dieser Parasiten kann eine Verwechslung jedoch ausgeschlossen werden.

Die reife Spore ist linsenförmig in der Lateralansicht und praktisch rund in der Frontalansicht. Die Sporen sind 8-10µm groß und enthalten zwei ovale Polkapseln. Routinemäßig können Nativpräparate von Schädelknorpelstücken ausgestrichen werden (HOFFMAN et al., 1968), nach Giemsa bzw. Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung sind die Sporen jedoch deutlicher zu erkennen (MARKIW, 1992a).

Liegen nur latente Infektionen vor, empfiehlt sich eine Anreicherung der Sporen mit der Digestionsmethode nach MARKIW und WOLF (1974). Eine genaue Beschreibung dieses Verfahrens kann aus dem Material- und Methodenteil (Punkt 2.5.3.1) entnommen werden.

Am lebenden Fisch besteht die Möglichkeit des Nachweises der spezifischen Antikörper im Serum mittels Immunfluoreszenzantikörpertechnik (IFAT) (GRIFFIN und DAVIS, 1978) bzw. mittels Peroxidasetechnik ab dem 40. Tag *post infectionem* (HOFFMANN et al., 1991).

Des Weiteren können *Myxobolus cerebralis*-Sporen am toten Fisch- ebenfalls mittels IFAT- (MARKIW und WOLF, 1978) nachgewiesen werden.

Durch in Situ-Hybridisierung (ANTONIO et al., 1998) können Parasitenstadien sowohl im Oligochaeten als auch im Fisch detektiert werden.

Bereits in einem sehr frühen Stadium- zwei Stunden *post expositionem*- bleibt es der Methode von ANDREE et al. (1998) vorbehalten, durch eine hochspezifische PCR einen Teil des Genoms (18S RNA) von *Myxobolus cerebralis* sicher nachzuweisen.

## 2.4 Differentialdiagnosen

### 2.4.1 Pathologisches Schwimmverhalten

Das Kardinalsymptom des abnormen Schwimmverhaltens wird teilweise auch bei Enteritiden, bei der Viralen Hämorrhagischen Septikämie (VHS) und der Infektiösen Pankreasnekrose beobachtet (PLEHN, 1904; HALLIDAY, 1973).

### 2.4.2 Schwarzfärbung des kaudalen Körperdrittels

Da Schwarzverfärbungen der kaudalen Körperpartie generell durch Schädigung (mechanisch oder durch Toxineinwirkung) der die Pigmentation steuernden Nervenzellen hervorgerufen werden, trifft man sie bei verschiedenen Erkrankungen unterschiedlicher Genese an. So wird sie unter anderem bei Ascorbinsäure- bzw. Tryptophanmangel sowie Infektionskrankheiten, z.B. durch *Flexibacter psychrophilum* (MARGOLIS et al., 1996), hervorgerufen. Des Weiteren führen Sauerstoffübersättigung, Stromeinwirkung (WALKER und NEHRING, 1995) und die intravenöse bzw. intramuskuläre Medikamentenapplikation zu Dunkelverfärbungen der Kaudalpartie.

### 2.4.3 Deformation

Formbezogene Abweichungen der skelettalen Anteile des Kopfes und der Wirbelsäule können ebenfalls durch Ascorbinsäure- und Tryptophanhypovitaminosen hervorgerufen werden (WOLF et al., 1981). Die durch *Myxobolus cerebralis* verursachten charakteristischen Deformationen des

Schädels mit Ausprägung des charakteristischen „Mopskopfes“ werden in der Literatur jedoch nur im Rahmen der Drehkrankheit beschrieben (PLEHN, 1904; SCHÄPERCLAUS, 1931; HOFFMAN et al., 1962).

## 2.5 Empfänglichkeit

In welchem Maße die Drehkrankheit bei dem sporenexponierten Salmoniden ihre Ausprägung findet, hängt von Faktoren wie Alter des Fisches bei der Infektion, Fischart, begleitenden Umweltstressoren und dem Infektionsdruck selbst ab.

### 2.5.1 Fischalter

Der hohe Knorpelanteil am Skelett des jungen Fisches begründet die starke Abhängigkeit der Empfänglichkeit vom Alter. Je älter der Fisch wird und damit die Ossifikation voranschreitet, umso weniger „Zielgewebe“ steht für den Parasiten zur Verfügung. Somit sinkt die Anfälligkeit des Fisches proportional zu seinem Alter (SCHÄPERCLAUS, 1931). Die nicht verknöcherten knorpeligen Anteile des Schädel skeletts dienen dem Parasiten zwar auch zu späteren Zeitpunkten als Angriffsfläche, führen aber nicht mehr zu den Beeinträchtigungen wie bei jungen Fischen vor der Ossifikation. So geht HALLIDAY (1976) davon aus, dass bei Kontakt mit dem Erreger ab dem sechsten Lebensmonat eine Infektion zu keiner klinischen Manifestation der Drehkrankheit mehr führen kann. Jedoch können diese Fische als subklinische Träger weiterhin die Ausbreitung des Erregers gewährleisten (SCHÄPERCLAUS, 1931; EL-MATBOULI et al., 1992a).

### 2.5.2 Fischart

Die meisten Vertreter der Salmoniden (bisher 18) erwiesen sich als empfänglich für die Drehkrankheit, einige Arten sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Regenbogenforelle repräsentiert jedoch den empfindlichsten Wirt (HOFER, 1903; HOFFMAN und PUTZ, 1969). Sie wird am stärksten befallen und entwickelt die Symptomatik am ausgeprägtesten. Bereits früheste Berichte über die Drehkrankheit betonen die relative Resistenz der Bachforelle gegen *Myxobolus cerebralis* verglichen mit der Regenbogenforelle (HOFER, 1903). Untersuchungen von HOFFMAN et al. (1962) an der Bachforelle (*Salmo trutta*) ergaben, dass diese sehr widerstandsfähig bezüglich *Myxobolus cerebralis* zu sein scheint. So kam es bei dieser in Europa einheimischen Forellenart zwar zur Infektion, aber zu keiner klinischen Erkrankung. Daher sah HOFFMAN (1970) die

Bachforelle als natürlichen Wirt und Sporenreservoir für den Parasiten *Myxobolus cerebralis* an, der mit Einführung der Regenbogenforelle aus Nordamerika nach Europa einst auf diese übertragen wurde. HALLIDAY (1976) und O'GRODNICK (1979) demonstrierten, dass die Bachforelle zwar infiziert werden kann, aber weniger Sporen als die Regenbogenforelle produziert. Neuere Beobachtungen dagegen lassen den Schluss zu, dass sich die Drehkrankheit auch bei Bachforellen in Deutschland und im Westen der USA, hauptsächlich mit den Symptomen "Blacktail" und "Deformation", manifestiert (NEHRING, Colorado Division of Wildlife, MONTROSE, nicht publiziert; M. EL-MATBOULI, pers. Beobachtungen). Bei Beobachtungen in freier Wildbahn muss jedoch bedacht werden, dass weder Fischalter und Größe während der Infektion, noch die Infektionsdosis oder Umweltbedingungen bekannt sind. Diese Faktoren spielen bei der Krankheitsausprägung eine wichtige Rolle. Untersuchungen von HEDRICK et al. (1999a) bestätigten schließlich HOFFMANs Ergebnisse: Er fand bei Infektionsversuchen an Regenbogen- und Bachforelle heraus, dass die Bachforelle bezüglich klinischer Erscheinungen, Infektionsprävalenz und Krankheitsausprägung sowie Sporenproduktion signifikant resistenter ist als die Regenbogenforelle. Bei hohen Infektionsdosen (1.000-10.000 TAM) konnte der Parasit das Immunsystem jedoch überwältigen, so zeigten bei diesen Konzentrationen auch Bachforellen Symptome der Drehkrankheit. Trotzdem ist die Krankheitsausprägung bei der Bachforelle von weniger starkem Ausmaß als bei der Regenbogenforelle. So fehlen bei der Bachforelle sowohl das ausgeprägte pathologische Schwimmverhalten als auch die proportional zur Infektionsdosis steigende Anzahl sich entwickelnder *Myxobolus cerebralis*-Sporen.

MARKIW (1992a) fand heraus, dass die Suszeptibilität nicht nur zwischen einzelnen Spezies oder Stämmen, sondern auch eklatant zwischen Individuen einzelner Fische einer Population variieren kann.

Tab. 1 stellt einen Überblick über einige empfängliche Salmoniden, geordnet nach abnehmender Empfänglichkeit dar:

**Tab. 1: Vorkommen der Drehkrankheit bei verschiedenen Salmonidenarten (nach O'GRODNICK 1979)**

SALMONIDENART	URSPRUNG
Regenbogenforelle ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Pazifisches Becken
Huchen ( <i>Hucho hucho</i> )	Europa
Rotlachs ( <i>Oncorhynchus nerka</i> )	Pazifisches Becken
Bachsaibling ( <i>Salvelinus fontinalis</i> )	Nordamerika
Königslachs ( <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> )	Pazifisches Becken
Atlantischer Lachs ( <i>Salmo salar</i> )	Atlantik
Bachforelle ( <i>Salmo trutta</i> )	Eurasien
Silberlachs ( <i>Oncorhynchus kisutch</i> )	Pazifisches Becken
Amerikanische Seeforelle ( <i>Salvelinus namaycush</i> )	Nordamerika

DENSMORE et al. (2001) beschäftigten sich ebenfalls mit der unterschiedlichen Empfänglichkeit verschiedener Salmoniden. Sie verglichen diesbezüglich drei Regenbogen- und Stahlkopfforellen (Genus: *Oncorhynchus*) sowohl unter natürlichen als auch unter Laborbedingungen miteinander (Labor: Regenbogenforellenstämme *Mount-Lassen* sowie *Cayuga-Lake* und Stahlkopfforellen, im Feldversuch Stahlkopfforellen aus dem Salmon River sowie *Cayuga-Lake*-Regenbogenforellen und Stamm *Randolph*). Unter kontrollierten Bedingungen wurden Infektionsdosen von 200 bzw. 2.000 *Triactinomyxon*-Sporen pro Fisch verwendet. Im Feldversuch konnten keine Anzeichen einer Krankheitsausprägung festgestellt werden, unter Laborbedingungen erwies sich der *Mount-Lassen* Stamm als der empfänglichste bezüglich der klinischen Symptomatik. „Whirling“ und „Deformation“ traten bei der Stahlkopfforelle deutlicher als bei der *Cayuga-Lake*-Regenbogenforelle zutage, „Blacktail“ dagegen mehr bei der *Cayuga-Lake*-Forelle. Sowohl unter natürlichen als auch unter Laborbedingungen ergab die quantitative Sporenerfassung bei der *Cayuga-Lake*-Regenbogenforelle signifikant höhere Werte als bei der Stahlkopfforelle. Histologische Untersuchungen ergaben, dass besonders bei niedrigen Infektionsdosen leichte bis deutliche Knorpelläsionen häufiger bei der *Mount Lassen* und der *Cayuga-Lake*-Forelle anzutreffen waren als bei der Stahlkopfforelle. Dies bestätigt, dass die Stahlkopfforelle am relativ resistentesten gegen die Drehkrankheit ist. Der Umstand, dass die Unterschiede deutlicher bei niedrigen Infektionsdosen zu

Tage treten, sieht die Autorin darin begründet, dass bei höheren *Triactinomyxon*-Dosen erste Barrieren und die unspezifische Abwehr nicht mehr genügend Schutz bieten können (nach HEDRICK et al., 1999a). Die offensichtliche doch unerwartete Diskrepanz zwischen Sporenkonzentration und Symptomausprägung bei *Cayuga-Lake-* und *Stahlkopfforelle* könnte durch unbestimmte Faktoren der Pathogenese verursacht worden sein. Hierunter fallen die unterschiedliche Lokalisation des Erregers im Wirtsgewebe, Chronologie der Sporenentwicklung und die Immunantwort des Wirtes. Mit den Untersuchungen von DENSMORE et al. (2001) war bewiesen, dass Unterschiede in der Empfänglichkeit für die Drehkrankheit auch bei Regenbogenforellenstämmen untereinander vorliegen können.

### 2.5.3 Umweltstressoren

Unvermeidbare Stressoren in der Natur stellen z.B. Temperaturschwankungen in Seen oder endogene Rhythmen, denen die Fische unterliegen, dar. Dazu zählen z.B. das Laichen und das Abwandern der Salmoniden in das Meer. BARTON und IWAMA (1991) bezeichnen solche Ereignisse nicht als Stressoren im eigentlichen Sinne, laut ANDERSON (1990) sind sie „natürliche“ Stressoren. Akute Stressreaktionen sind nach ADAMS (1990) die Folge einzelner oder mehrfacher Expositionen auf einen Stressor. Chronischer Stress sei dagegen häufiger und resultiere aus einer kontinuierlichen oder immer wiederkehrenden Auseinandersetzung gegenüber milden Stressoren über eine gewisse Zeit. Chronisch auf Fische einwirkender Stress ist z.B. die Haltung von Fischen im Wasser mit unzureichender Qualität (beispielsweise mangelnder Sauerstoffpartialdruck, Eutrophierung, Belastung durch Abwässer) oder Überbesatz. Fische, die in Gefangenschaft gehalten werden, zeigen im Allgemeinen höhere Kortisolwerte und damit eine höhere Krankheitsanfälligkeit (BOLLARD et al., 1993). Das in der Praxis häufig vorkommende Umsetzen oder Sortieren der Fische („handling stress“) stellt einen akuten Stressor dar (PICKERING et al. 1982, FLOS et al., 1988).

Gerade bei Parasitosen poikilothermer Tiere spielt die Temperatur eine große Rolle. So ist in wärmerer Umgebung nicht nur der Entwicklungszyklus des Parasiten beschleunigt, sondern es präsentiert sich auch die Krankheitssymptomatik beim Wirt in deutlicherer Ausprägung (PUTZ und HOFFMAN, 1970).

#### 2.5.4 Infektionsdosis

Je höher die Infektionsdosis ist, der der Fisch ausgesetzt ist, umso stärker und auch früher erkrankt er an der Drehkrankheit. So beobachteten RYCE et al. (1998) bei Regenbogenforellen, die mit einer *Triactinomyxon*-Sporen-Dosis von 1.000 bzw. 10.000 pro Fisch infiziert worden waren, bereits nach fünf respektive sechs Wochen post expositionem erste klinische Symptome der Drehkrankheit, jedoch erst sieben Wochen nach Sporenexposition bei Forellen mit jeweils 100 *Triactinomyxon*-Sporen Infektionsdosis.

### 2.6. Immunologie der drehkranken Forelle

Untersuchungen der Empfänglichkeit der Regenbogenforelle für die Drehkrankheit sowie entsprechende Vergleichsstudien mit anderen Salmoniden werfen immer wieder die Frage nach den Resistenzmechanismen auf. So interessiert nicht nur die Abwehrstrategie etwa des natürlichen Wirtes, der Bachforelle, der im Laufe der Zeit Schutzmechanismen vor *Myxobolus cerebralis* entwickelt haben muss, sondern auch die Immunologie der reinfizierten Regenbogenforelle. In der Literatur finden sich zahlreiche Arbeiten, die Licht in das Gebiet der Ichthyoimmunologie des drehkranken Fisches bringen wollen. So wird über Serum-Antikörper gegen die Sporen berichtet (GRIFFIN und DAVIS, 1978), und auch starke zelluläre Reaktionen bei älteren Knorpelläsionen sind bekannte Phänomene. Trotzdem sind die Abwehrmechanismen, die die Qualität der Erregerabwehr bestimmen, immer noch weitgehend unbekannt. Im Folgenden werden zunächst die verschiedenen Stationen des Erregers durch den Fisch und entsprechende Abwehrmechanismen des betreffenden Gewebes sowie relevante Aspekte der Ichthyoimmunologie anderer Parasitosen beschrieben, anschließend werden die Forschungsergebnisse der reinfizierten Forelle in Kürze dargestellt.

#### 2.6.1 Die Haut

Eine wichtige Barriere für Krankheitserreger aller Art stellt die Epidermis sowohl in rein physikalischer als auch immunologischer Hinsicht dar. Nach Untersuchungen von NAKANISHI und OTOTAKE (1997) induziert eine Antigenaufnahme über die Haut bei Fischen vor allem zelluläre Abwehrmechanismen. Hierbei reagieren Makrophagen und Epithelzellen. Zur Phagozytose befähigte filamenthaltige Zellen mit Melanin und Phagosomen wurden in der Epidermis von Regenbogenforellen gefunden (PELETEIRO und RICHARDS, 1990). Da die bei den

Entwicklungsstadien von *Myxobolus cerebralis* beobachteten Degenerationserscheinungen ausschließlich bei intrazellulär liegenden Zellaggregaten zu finden sind, ist hier eine Phagozytoseaktivität der Epidermiszellen verbunden mit enzymatischer Aktivität in Betracht zu ziehen. In reinfizierten Fischen konnte DEMMEL (1999) in wenigen Fällen eine verstärkte Anwesenheit von lymphoiden Zellen und neutrophilen Granulozyten in der Umgebung der eingedrungenen Amöboidkeimzellen beobachten. Andere Typen von Leukozyten sowie Makrophagen traten nach ihren Beobachtungen zu keinem Zeitpunkt gehäuft auf.

Neben zellulären Abwehrmechanismen der Haut konnten beim Fisch auch humorale nachgewiesen werden. So wurde in Haut- und Darmschleim sowie im Blut von Fischen eine dem Immunglobulin M der Mammalia ähnliche Antikörperklasse entdeckt (AMLACHER, 1992). Inwiefern diese bei der Abwehr bzw. der Opsonierung der *Myxobolus cerebralis*-Sporen eine Rolle spielen, ist bis heute ungeklärt.

Acht Stunden nach der Infektion kann das Auswandern von Entwicklungsstadien von *Myxobolus cerebralis* aus den Epidermiszellen beobachtet werden, größere intakte Verbände von Entwicklungsstadien verweilen mitunter bis zu zwölf Stunden in der Nähe von Basalzellen. 24 Stunden post expositionem sind keine Entwicklungsstadien mehr in der Haut anzutreffen (MANDOK, 1993).

Die ersten Nachweise von Entwicklungsstadien in der Subcutis sind verbunden mit einer zahlenmäßigen Zunahme. Bis zum vierten Tag nimmt ihre Zahl in diesem Gewebe dann wieder deutlich ab (MANDOK, 1993).

### 2.6.2 Peripheres und Zentrales Nervensystem

Parasitenstadien im Nervensystem können schon vier Tage *post infectionem* detektiert werden. Zwischen dem sechsten und 14. Tag ist die höchste Anzahl von Vermehrungsstadien im Rückenmark auszumachen, später dann im Gehirn und in den Kopfganglien (MANDOK, 1993). Das relativ frühe Auftreten von Parasitenstadien im Nervengewebe weist darauf hin, dass der Parasit gezielt dieses Gewebe aufsucht. Dadurch wählt er nicht nur den kürzesten Weg in sein Zielgewebe, sondern weicht durch den Neurotropismus gleichzeitig auch dem Immunsystem des Fisches aus-ein Phänomen, welches auch bei den Herpesviridae und Rhabdoviridae bei Infektionen der Mammalia zu beobachten ist. EL-MATBOULI et al. (1993) konnten bei ihren Untersuchungen zu keinem Zeitpunkt Entzündungsvorgänge im Nervengewebe feststellen. Infiltrationen von eosinophilen Granulozyten ins Nervengewebe wurden von HEDRICK et al. (1999) gefunden. Zwar ist bis heute

nur wenig über die Aufgabe der Eosinophilen in kranialen und spinalen Nervenbahnen bei der Immunantwort bekannt, jedoch wurden sie bisher in Darm und Kiemen immer bei akutem Entzündungsgeschehen angetroffen (POWELL et al., 1991; HOLLAND und ROWLEY, 1998). In den Untersuchungen von HEDRICK et al. (1999) waren bei infizierten Bachforellen häufig eosinophile Granulozyten in den kranialen Nervenganglien und Nervenbahnen anzutreffen, nicht jedoch bei den Regenbogenforellen. EL-MATBOULI (1996) schreibt diesen Zellen eine die Sporenanzahl limitierende Wirkung zu.

### 2.6.3 Knorpel

Ab dem zwanzigsten Tag können Plasmodien im Knorpelgewebe beobachtet werden, die schon bald durch ihre vegetative Vermehrung zu einer Auflösung führen und das Bild einer Desintegration der Knorpeltextur erzeugen (HOFFMAN, 1962). Laut HALLIDAY (1974) können diese Veränderungen entweder einer Erosion (Enzyme des Parasiten zerstören den Knorpel) oder einer nekrotischen Reaktion (überschießende Entzündungsreaktion des Wirtes) zugrunde liegen. In der ersten Form ist der Knorpel um das membranöse Labyrinth weitgehend zerstört und in der Umgebung finden sich Mengen degenerierten Knorpels sowie Granulationsgewebe und zahlreiche Sporen. Außerdem ist bestehendes Knochenmaterial unregelmäßig geformt. Bei der zweiten Form dagegen finden sich nur Trophozoiten und Sporoblasten in anderen Knorpelarealen, jedoch keine Wirtsreaktion.

Bei Forellen, die bereits seit einigen Monaten infiziert waren, zeigte sich Knorpeldegeneration ohne jegliche Aktivität seitens des Wirtes. Falls die Nekrose durch eine Entzündung verursacht würde, müssten Leukozyten in den nekrotischen Arealen zu finden sein. Dies wurde jedoch nur sehr selten beobachtet. Außerdem traf HALLIDAY (1974) auch bei gesunden Regenbogenforellen nekrotische Bereiche im Knorpel an und schloss daraus, dass diese Nekrosen einen physiologischen Bestandteil der Ossifikation darstellen. In anderen Untersuchungen des Verfassers waren die Trophozoiten im Knorpel immer von einer granulomatösen Entzündung umgeben.

Prinzipiell ist die Entzündung in der Lage, den Parasiten zu bremsen oder zu eliminieren.

Untersuchungen von HEDRICK et al. (1999a) zeigen, dass bei der Regenbogenforelle mehr Parasitenstadien das Sporenstadium erreichen als bei der Bachforelle, und dieser speziesbedingte Unterschied verstärkt sich mit steigenden Infektionsdosen (10-10.000 TAM/Fisch). Eine proportional zu den Sporenkonzentrationen anwachsende Ausprägung der Knorpelläsionen impliziert, dass das granulomatöse Entzündungsgeschehen, welches meist mit dem Parasiten

assoziiert ist, bei der Regenbogenforelle weniger effektiv als bei der Bachforelle den Parasiten abzuschwächen oder gar aufzuhalten vermag (HEDRICK et al., 1999a).

Erst in neuerer Zeit wurde von MacCONNELL und BALDWIN eine objektive Methode entwickelt, den Schweregrad der durch den Parasiten hervorgerufenen Infektion zu bestimmen (MacCONNELL-BALDWIN-Numerical Scale). Diese histologische Beurteilung bedient sich einer Skala von null bis fünf und ist, entsprechend dem Standard Protocols for Whirling Disease Research (BARTHOLOMEW et al., 2001), im Material- und Methodenteil in Punkt 2.5.3.2 aufgeführt. In die Bewertung fließen sowohl Qualität als auch Quantität der Knorpelläsionen sowie das assoziierte Entzündungsgeschehen und die Beteiligung des umliegenden Gewebes ein. Dieses Bewertungssystem hat mittlerweile Allgemeingültigkeit in der Beurteilung des Einflusses von *Myxobolus cerebralis* auf exponierten Fisch erlangt (BALDWIN et al., 2000).

## 2.6.4 Veränderungen im Blut der drehkranken Regenbogenforelle

### 2.6.4.1 Allgemeine Parameter

Zu keinem Zeitpunkt der Infektion können Fremdzellen in Blutaussstrichen experimentell infizierter Regenbogenforellen nachgewiesen werden (MANDOK, 1993). Aktuelle Untersuchungen des Blutes drehkranker Forellen ergaben, dass sich trotz dieser Tatsache viele Blutparameter bei infizierten Forellen verändern. So fanden DENSMORE et al. (1999) heraus, dass infizierte Forellen eine erniedrigte Gesamtleukozytenzahl aufweisen. Eine ebenfalls verringerte Lymphozytenzahl führen die Autoren auf die Tatsache zurück, dass die Lymphozytenfraktion einen Großteil der Leukozyten beim Fisch darstellt.

Diese Werte liegen wahrscheinlich einer vermehrten endogenen Corticosteroidproduktion drehkranker Fische zugrunde. Die konstatierte Hyperglykämie sowie die erhöhte Infektanfälligkeit drehkranker Fische könnte, falls Parallelen zum Säugetier bestehen, auf die immunsupprimierende Wirkung der Hormone der Nebennierenrinde (Glucocorticoide) zurückzuführen sein (DENSMORE et al., 1999). Auf die speziellen Charakteristika im weißen Blutbild der Regenbogenforelle wird im weiteren Textverlauf noch eingegangen werden.

Erhöhte Werte des Hämatokrit (Hkt), des mittleren Zellvolumens (MCV) und des mittleren Hämoglobingehalts der einzelnen Erythrozyten (MCH) sehen die Autoren als Ausdruck einer Retikulozytose, bei der größere, junge Erythrozyten (Retikulozyten) ins Blut übergehen. Bestehende leicht erhöhte Werte des Plasma-Kalziums und -Magnesiums führen sie auf osteolytische Prozesse

zurück, mit der Einschränkung, dass dieser Zusammenhang bisher nur bei den Mammalia erwiesen ist (DENSMORE et al., 1999).

Den erniedrigten Plasmaspiegel verschiedener Enzyme, wie zum Beispiel der Kreatinkinase, liegen wahrscheinlich dem verringerten Gewicht der wachstumsretardierten drehkranken Forellen zugrunde. Ähnliche Veränderungen dieser Blutparameter sind auf dem Gebiet der Ichthyoparasitologie häufig beschrieben. So berichten z.B. RUANE et al. (2000) von erhöhten Cortisol- bzw. Glucose-Konzentrationen im Blut bei Untersuchungen der Immunantwort der Regenbogenforelle auf die Infektion mit der Seelaus.

#### 2.6.4.2 Weißes Blutbild der Regenbogenforelle

Bei Knochenfischen werden die Blutzellen vornehmlich in der Kopfniere gebildet. Dieses Organ ist als Analogon zum Knochenmark der Mammalia zu sehen. Zusätzlich fungieren auch Milz und zum Teil der Darm als Blutbildungsstätte (LEHMANN und STÜRENBERG, 1981; BLÜM et al., 1988). Im weißen Blutbild werden folgende Zelltypen unterschieden: Lymphozyten, Monozyten, Granulozyten, Leukoblasten und Thrombozyten (LAGLER et al., 1977). Thrombozyten werden in jüngerer Zeit meist ausgeklammert und als eigene Zellpopulation behandelt (AMIN et al., 1992).

Zur routinemäßigen Blutuntersuchung wird Blut aus der A. et V. caudalis oder dem Herzventrikel gewonnen.

##### 2.6.4.2.1 Granulozyten

Laut ROWLEY (1990) ist der Fischgranulozyt physiologischerweise von runder Gestalt, enthält Granula im Zytoplasma und einen polymorphen Kern. Die Größe variiert zwischen 7 und 13µm (HOUSTON, 1990). Im Folgenden wird auf die Besonderheiten der einzelnen Granulozytenarten (die Nomenklatur lehnt sich an die Terminologie der Humanhämatologie an) des gesunden Fisches eingegangen.

##### *Neutrophile Granulozyten*

Die Granulozytenanzahl beträgt  $1-3 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Prozentual macht sie bei der Regenbogenforelle einen Anteil von 1-9% der Leukozyten- und Thrombozytenzahl aus (WEDEMEYER et al., 1990).

Zytochemische Untersuchungen ergaben eine hohe Peroxidaseaktivität in den Granula sowie vergleichbare zytochemische Reaktionen (positive PAS-Reaktion, Sudanschwarzanfärbung sowie saure und alkalische Phosphatase-Reaktion) wie in den Säugetierzellen (ELLIS et al., 1989).

### *Stab- und segmentkernige Granulozyten*

Der stabkernige Granulozyt ist bei der Regenbogenforelle durch eine stabförmige Brücke zwischen zwei Kernanteilen zu identifizieren. Das Zytoplasma reagiert „neutrophil-rosa“ (BLÜM et al., 1988).

Der segmentkernige Granulozyt unterscheidet sich bei der Regenbogenforelle nur in kernmorphologischer Hinsicht, die Zytoplasmareaktion ist identisch.

Die Funktion der segmentkernigen Granulozyten ist bis heute nicht restlos geklärt. Sie nehmen an Entzündungsgeschehen teil und ihnen werden phagozytotische Eigenschaften zugesprochen (ELLIS et al., 1989). Eine Zunahme der Neutrophilen ist vor allem bei Einwirkung von Stressoren feststellbar (stressassoziierte Neutrophilie). Die Bildung der Granulozyten erfolgt bei Knochenfischen vornehmlich in der Vorniere und zu einem kleinen Prozentsatz auch in der Milz (HOUSTON, 1990).

### *Eosinophile Granulozyten (EG)*

Die Existenz und das Vorkommen von eosinophilen Granulozyten im Fischblut werden in der Literatur widersprüchlich diskutiert (ELLIS et al., 1989). Ein Großteil der Beschreibungen bezieht sich auf die so genannten eosinophilen granulären Zellen (EGZ) der Haut, der Kiemen, des Darms, des Bulbus arteriosus und der hämatopoetischen Organe, während „echte“ eosinophile Granulozyten im Fischblut nur bei wenigen Knochenfischarten beschrieben werden (ELLIS et al., 1989; AMIN et al., 1992). Hierbei ist es ungeklärt, ob die EGZ bei Regenbogenforellen identisch mit den eosinophilen Granulozyten des Blutes sind (BLÜM et al., 1988). Bei dieser Art konnten eosinophile granuläre Zellen nur in Verbindung mit Infektionen mit *Aeromonas salmonicida* im Blut nachgewiesen werden (BLÜM et al., 1988; LEHMANN et al., 1989). ELLIS et al. (1989) kommen zu dem Schluss, dass die gewebeassoziierten EG Histamin enthalten und somit an anaphylaktischen Reaktionen teilnehmen können. SIRE und VERNIER (1995) vermuten, dass die darmassoziierten EG der Regenbogenforellen den Säugereosinophilen entsprechen.

### *Basophile Granulozyten*

Das Vorkommen dieser Zellen wird bei Fischen ebenfalls widersprüchlich diskutiert (ELLIS et al., 1989; AMIN et al., 1992; BRANSON, 1993). Bei der Regenbogenforelle selbst konnten BLAXHALL und DAISLEA (1973) bzw. BLÜM et al. (1988) keine Basophilen identifizieren, bei

anderen Fischarten wie dem Wels oder dem Karpfen werden sie in der Literatur erwähnt (LEHMANN et al., 1994; WILLIAMS und WARNER, 1976).

#### 2.6.4.2.2 Lymphozyten

Der Lymphozyt repräsentiert den häufigsten Zelltyp der weißen Zellreihe (BLÜM et al., 1988). Wie in Tabelle 2 zu sehen, unterscheidet man im Fischblut große (8-12µm) und kleine (4-5µm) Lymphozyten, die unterschiedliche Funktionszustände (ELLIS, 1976) bzw. Reifestadien (AMIN et al., 1992) darstellen. Durch ihren typischen großen Zellkern und das dichte Chromatin sind diese runden Zellen leicht zu erkennen, jedoch schwer unterscheidbar von kernhaltigen Thrombozyten, bei denen das Zytoplasma durch den Ausstrich entfernt wurde. Die Normalwerte für Lymphozyten werden in Tabelle 2 dargestellt.

**Tab. 2: Normalwerte für Lymphozyten nach verschiedenen Autoren (entnommen aus PUND, 1997)**

FISCHART	GEWICHT	ANZAHL [ $\times 10 \times 10^3/\mu\text{l}$ ] oder [%]*	AUTOR
Regenbogenforellen	50g	1,34-2,16 (große Lymphozyten)	BRUNO und MUNRO (1986)
		1,258-2,72 (kleine Lymphozyten)	
	o. A	89-98%	WEDEMEYER et al. (1990)
	o. A.	75%	DEUFEL und PÖLLNITZ (1977)
Bachforellen	160g	56-100%	BLAXHALL und DAISLEA (1973)

\*Prozentwert, bezogen auf Gesamtleukozyten ohne Thrombozyten

Die Aufgabe der Lymphozyten- zellvermittelte Immunfunktionen- entspricht der der Mammalia. Über die Bildungsstätten der Lymphozyten ist bei Fischen bisher wenig bekannt (HOUSTON 1990). Es wird vermutet, dass die Lymphozyten aus Stammzellen im Thymus heranreifen und noch vor seiner Involution- zum Zeitpunkt der Sexualreife- andere lymphomyeloide Organe besiedeln (ELLIS, 1977; ELLIS, 1989; HOUSTON, 1990).

### 2.6.4.2.3 Monozyten

Die Monozyten der Regenbogenforelle stellen mit einem Durchmesser von 9-25µm die größten Zellen des Blutes dar. Laut DEUFEL und PÖLLNITZ (1977) entsprechen sie einem Anteil von 4% der Gesamtleukozytenzahl. Bei erhöhter Phagozytoseaktivität wird eine Identifikation dieses Zelltypus aufgrund starker Gestaltveränderung schwierig.

### 2.6.5 Der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)

SHUM et al. (2001) konzentrierten sich bei ihrer Suche nach Faktoren, die die Empfänglichkeit für die Drehkrankheit beeinflussen, auf zelloberflächlich lokalisierte Moleküle, welche von Genen des Haupthistokompatibilitätskomplexes kodiert werden. Diese Moleküle binden an fremde Antigene, wie Viruspartikel, Parasiten und Bakterien, um sie so anderen Zellen des Immunsystems kenntlich zu machen (KLEIN, 1986). MHC-Moleküle sind hochvariabel, so dass sie eine Vielzahl verschiedenster Antigene präsentieren können.

Beim Menschen korrelieren verschiedene Varietäten dieser MHC-Moleküle mit der Empfänglichkeit für Krankheiten. Dieser Erkenntnis zugrunde lagen Forschungen von PARHAM und SHUM der Stanford Universität in Kalifornien, welche versuchten, Parallelen bei der Drehkrankheit der Salmoniden zu finden (SHUM et al., 2001).

Die hochpolymorphen Glycoproteine der MHC-Antigene lassen sich in zwei Klassen unterteilen, MHC I und MHC II, die sich sowohl funktionell als auch strukturell voneinander unterscheiden. Klasse I-Moleküle finden sich auf allen kernhaltigen Zellen und präsentieren den T8 Helfer-Zellen (zytotoxische T-Zellen) Peptide, die von endogen produzierten Proteinen stammen (BJORKMAN und PARHAM, 1990). Strukturell gesehen besteht die schwere Kette der Klasse I-Moleküle aus drei extrazellulären Domänen  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  und  $\alpha 3$ , einer transmembranen Region und einem zytoplasmatischen Ende.

Unter diesen verschiedenen Klasse I-Molekülen sind manche hochpolymorph (klassische Klasse I-Gene) und manche weniger polymorph (nichtklassische Klasse I-Gene). Von Klasse Ia-Genen wird bei verschiedenen Teleostei, z.B. dem Karpfen (*Cyprinus carpio*) (VAN ERP et al., 1996) und der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) (HANSEN et al., 1996) berichtet.

Die Verteilung der Klasse II-Moleküle ist spezifischer. Sie sind hauptsächlich auf B-Lymphozyten, Makrophagen und aktivierten T-Zellen zu finden, welche als Antigen-präsentierende Zellen

fungieren. Die Klasse II-Moleküle präsentieren den TD4 Helferzellen Peptide, die von exogen erworbenen Proteinen stammen.

Strukturell gesehen sind Klasse II-Moleküle Heterodimere mit einer leichten und einer schweren Glycoprotein-Kette (KAUFMAN et al., 1984).

Verschiedene MHC I- und MHC II-Allelen haben verschiedene Bindungsstellen für fremde Peptide. Geht man davon aus, dass sie bei Fischen dieselbe Funktion wie bei Säugetieren haben, nehmen sie eine zentrale Rolle bei der spezifischen Immunantwort ein, da sie körperfremde Antigene den T-Zell-Rezeptoren auf den Lymphozyten präsentieren (BJORKMAN und PARHAM, 1990).

Untersuchungen des MHC-Komplexes bei Regenbogenforellen konzentrierten sich auf die Frage, ob spezifische MHC-Klasse I- oder II-Allele selektiert worden sind, um einen Schutz gegen *Myxobolus cerebralis* zu bieten.

SHUM et al. (2001) bestimmten MHC Klasse I cDNA Sequenzen von fünf Regenbogenforellen aus Zuchten, sowie jeweils zehn Regenbogen- und zehn Bachforellen aus dem Colorado River. Dabei fanden die Autoren heraus, dass MHC-Klasse I-Sequenzen hinsichtlich der Morphologie auch bei Forellenstämmen untereinander differieren. Keine der verglichenen Sequenzen von Regenbogen- und Bachforelle waren identisch. Dies erklärt sich aus dem Umstand, dass sich diese beiden Genera bereits vor 20 Millionen Jahren voneinander separiert haben (SHUM et al., 2001).

Insgesamt wurden 16 Klasse I-Allele bei der Regenbogenforelle und zehn bei der Bachforelle isoliert.

Bei dieser Untersuchung konnte durch den Vergleich von Regenbogenforellen aus dem Colorado-River und Regenbogenforellen aus einer Fischzucht nur eine identische Allele identifiziert werden. Bemerkenswert scheint, dass die Klasse I-Sequenzen der Forelle sehr früh in der Evolution etabliert wurden, wahrscheinlich bevor sich die Familie der Salmonidae auseinander entwickelt hat.

So weisen manchmal Allelen der Regenbogenforelle mehr Ähnlichkeit zu Allelen der Bachforelle auf als zu denen anderer Regenbogenforellen.

Auch MHC-Klasse II-Sequenzen wurden bestimmt. Auch hier konnten keine Allelen identifiziert werden, die bei Regenbogenforelle und Bachforelle identisch waren. Die genetische Divergenz zwischen Regenbogenforelle und Bachforelle war bei den Untersuchungen der Klasse II-Allelen viel deutlicher zu erkennen als bei den Klasse Ia-Allelen (SHUM et al., 2001).

In Untersuchungen von SCHILL (2002) wurden die  $\alpha$  2-Domänen von MHC Klasse I-Molekülen verschiedener *Shasta*-Regenbogenforellen Populationen, welche sich erwiesenermaßen in ihrer Empfänglichkeit für die Drehkrankheit voneinander unterscheiden, miteinander verglichen. Die

Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass zumindest die MHC-Klasse 1 $\alpha$ -2 Domäne in keinem Zusammenhang zur Krankheitsausprägung steht.

## 2.7 Immunologie und Antikörperbildung der reinfizierten Forellen

Ob drehkranke Salmoniden Antikörper gegen die *Myxobolus cerebralis*-Sporen bilden können, war lange Zeit unklar. Weder PAULEY (1974) noch HALLIDAY (1974) konnten mittels Serologie entsprechende Ergebnisse vorweisen. PAULEYs Untersuchungen der Sporenantigene wiesen darauf hin, dass diese trotz unterschiedlichen Verhaltens in der Elektrophorese die Antigene des Knorpels der Regenbogenforelle zu imitieren vermögen. Wahrscheinlich ist der Parasit durch diese „Wirts-Antigen-Mimikry\*“ in der Lage, sich im Wirtsgewebe zu etablieren. GRIFFIN und DAVIS (1978) konnten erstmals mittels indirekter Immunfluoreszenz Antikörper gegen *Myxobolus cerebralis* entdecken und somit die These widerlegen, dass die Sporen keine Antigenität aufweisen.

In Versuchen, in denen Forellen wiederholter Exposition mit Triactinomyxon-Sporen ausgesetzt wurden, wurden unterschiedliche Reaktionen beobachtet.

Die von HOFFMANN et al. (1991) mittels Immunperoxidasetechnik detektierten Antikörper gegen *Myxobolus cerebralis* spielen eventuell bei einer wiederholten Sporenexposition eine Rolle. So konnte bei einer erneuten Sporenexposition acht Wochen zuvor infizierter Regenbogenforellen keine Reinfektion festgestellt werden. Alle Sporen wiesen nach einer Stunde noch intakte Amöboidkeimzellen auf (HOFFMANN und EL-MATBOULI, 1996).

\* Nomenklatur vom Verfasser übernommen

## 2.8 Bekämpfung der Drehkrankheit

Gemäß dem Entwicklungszyklus von *Myxobolus cerebralis* kommen für Bekämpfung bzw. Therapie der Drehkrankheit verschiedene Ansatzpunkte in Frage. So bietet sich ein breites Band an Möglichkeiten, beginnend mit dem Entzug der Lebensgrundlage der Tubificiden über die Behandlung des sporenhaltigen Wassers und der Desinfektion aller Gerätschaften bis hin zum radikalen Stamping out (Keulung) oder der Therapie betroffener Einzelindividuen.

### 2.8.1 Entzug der Lebensgrundlage der Tubificiden

Der Ersatz naturnaher Erdteiche durch betonierte Anlagen entzieht dem Hauptwirt *Tubifex tubifex* weitgehend die Lebensgrundlage und senkt so den Infektionsdruck. Die Behandlung kontaminierter Teiche mit Chlorkalk und Kalkstickstoff ist laut SCHÄPERCLAUS (1931) und HOFFMAN et al. (1962) ebenfalls Erfolg versprechend. Da Regenbogenforellen jedoch ständigen Frischwasserzulauf benötigen, kann sporenhaltiges Wasser weiterhin die Aufzuchtgewässer erreichen.

### 2.8.2 Behandlung des sporenhaltigen Wassers, Desinfektion aller Gerätschaften

Bestrahlung mit UV-Licht sowie Filtration stellen Möglichkeiten zur Desinfektion dieses kontaminierten Wassers dar (HOFFMAN, 1974).

Zur Reinigung von Bruthäusern und Gerätschaften sind Natronlauge, Kalilauge und Chlorkalk (HOFFMAN et al., 1962) einzusetzen.

### 2.8.3 Keulung (Stamping out)

Zur Eindämmung der Drehkrankheit eignet sich laut SCHÄPERCLAUS (1931) die bestandsweise Vernichtung und unschädliche Beseitigung aller erkrankten Fische.

### 2.8.4 Therapie betroffener Einzelindividuen

Der Einsatz von Chemotherapeutika stellt einen weiteren Ansatz der Bekämpfung dar. Untersuchungen von O'GRODNICK und GUSTAFSON (1973) ergaben, dass von zehn getesteten Medikamenten Amprolium, welches jedoch hochtoxisch ist, eine Sporenreduktion im Fisch bewirken kann. Nitrofurantoin (TAYLOR et al., 1973), Proguanil und Clamoxiquin (ALDERMAN, 1986) zeigten den gleichen Effekt.

EL-MATBOULI und HOFFMANN (1991) setzten schließlich unter Laborbedingungen erfolgreich das bereits relativ lange für seine amöbizide Wirkung bekannte Antibiotikum Fumagillin (produziert von *Aspergillus fumigatus*) ein. 1992 konnte LUTZ drehkranke Regenbogenforellen mit Fumagillin in verschiedenen Dosierungen therapieren und damit die Ergebnisse von EL-MATBOULI und HOFFMANN (1991) bestätigen. Ursprünglich wurde dieses Medikament in der Veterinärmedizin für die Behandlung der durch *Nosema apis* Z. verursachten Nosematose der Honigbiene (*apis mellifica*) verwendet (KATZNELSON und JAMIESON, 1952).

### 3. Verbreitung der Drehkrankheit

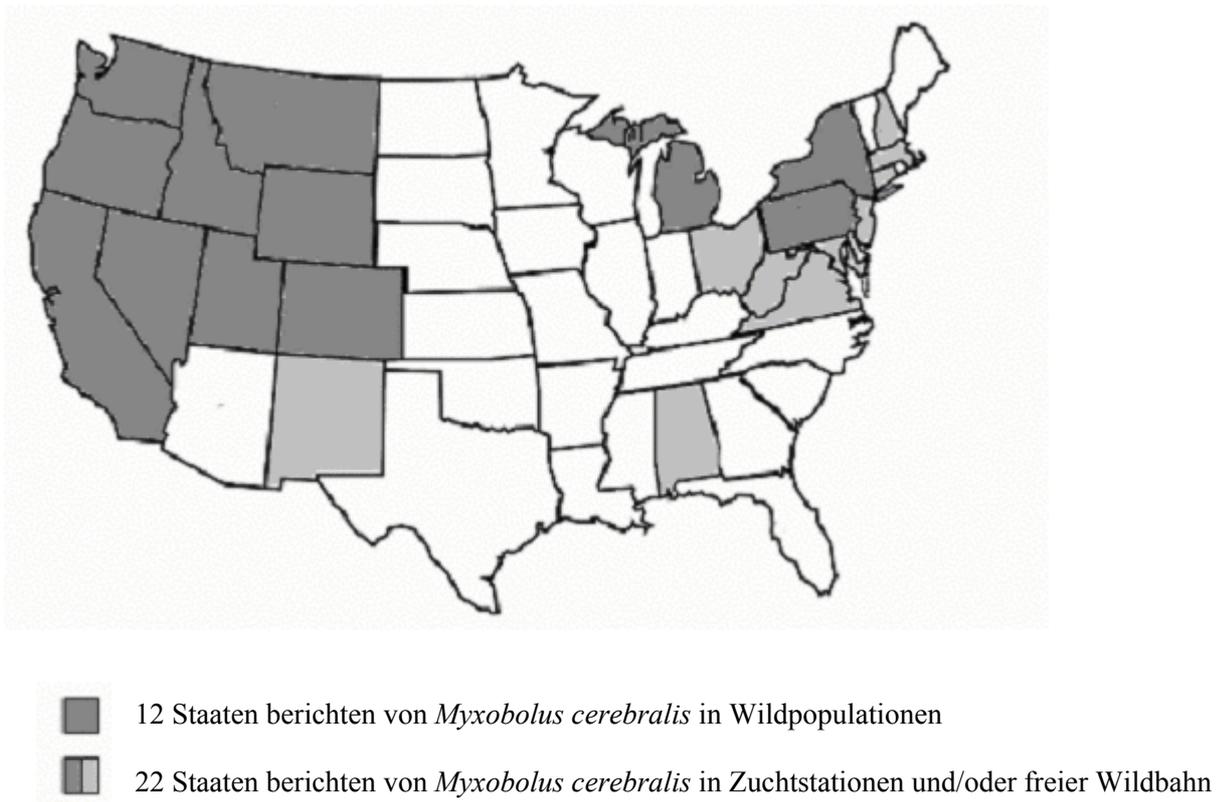
#### 3.1 Ursprung und Ausbreitung der Drehkrankheit

Die Drehkrankheit wurde erstmals 1898 von HOFER bei Regenbogenforellen in Deutschland beobachtet (HOFER, 1903).

In den folgenden Jahren breitete sie sich durch internationalen Fischhandel auf immer mehr zunächst europäische Länder aus. Heute stellt sie ein Problem in vielen Gebieten, in denen Regenbogenforellenzucht betrieben wird, dar (HALLIDAY, 1976). So kommt sie in der ehemaligen Sowjetunion (USPENSKAYA, 1955), im United Kingdom (ELSON, 1969) vor und wurde in der Folge auch nach Neuseeland eingeführt (HEWITT und LITTLE, 1972).

#### 3.2 Situation in den Vereinigten Staaten

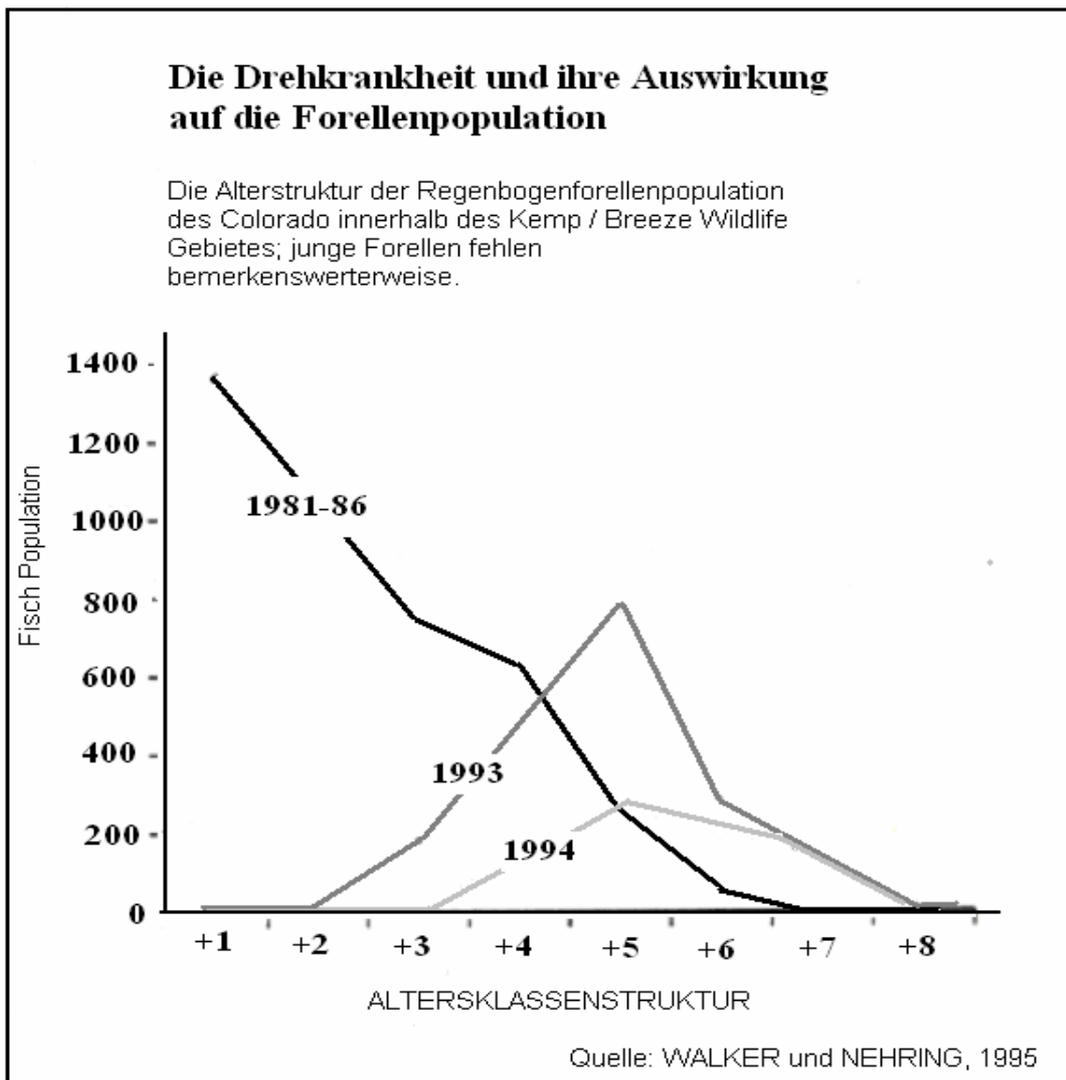
Vermutlich durch die Verschiffung eingefrorener Forellen gelangte die Drehkrankheit in den 50er Jahren in die USA (HOFFMAN, 1990), wahrscheinlich 1956 aus Dänemark (MATTHEWS, 1995). 1958 wurde sie zum ersten Mal in Pennsylvania auf der Benner Spring Fish Research Station und fast simultan in Nevada diagnostiziert, dann in Connecticut (1961), Virginia (1965), 1966 in Kalifornien und Massachusetts (HOFFMAN, 1990). Um diesen Seuchenzug aufzuhalten, wurden drastische Maßnahmen ergriffen. So vernichtete Kalifornien im Zeitraum zwischen 1965 und 1984 660.000 kg Fisch und fast 2.300.000 Brütlinge sowie nicht fangbaren Fisch aus kontaminierten Zuchten (MODIN, 1998). Der Staat Michigan stellte betroffene Zuchtbetriebe unter Quarantäne und behandelte in den frühen Siebzigern den Nordausläufer des Tobacco River mit Chlorid zur Desinfektion des Flusssystem (HNATH, 1988). In einem frühen Report berichtet HOFFMAN et al. (1962) von der Keulung aller lebenden Fische in betroffenen Zuchtbetrieben sowie deren Quarantänemaßnahmen, von chemischer Desinfektion aller Gerätschaften und dem Ersatz kontaminierten Wassers durch sauberes in den Bruthäusern. Trotz dieser Maßnahme breitete sich der Parasit schnell auf beide Küsten aus (siehe Abbildung 4). Als die Drehkrankheit 1988 schließlich in New York diagnostiziert wurde, ordnete der Staat die Keulung von 170.000 Zuchtforellen an.



**Abb. 4: Die Verbreitung der Drehkrankheit in den USA (nach NICKUM, 1999)**

In jüngerer Zeit favorisieren Fischerei-Manager mildere Maßnahmen mit Schwerpunkt auf Vermeidung der Ausbreitung der Drehkrankheit. So wurde versucht, durch den Bau betonierter Wasserleitungen, durch die Desinfektion von Erdteichen und durch die Aufzucht der Brut in sporenfreiem Wasser die Krankheit einzudämmen. In einem durch das „Colorado River Wildlife Council Fish Disease Subcommittee“ anberaumten Meeting (1988) empfahl der Großteil der Teilnehmer, *Myxobolus cerebralis* vom Status der anzeigespflichtigen Krankheit zur meldepflichtigen zurückzustufen. Der U.S. Fish and Wildlife Service entfernte *Myxobolus cerebralis* außerdem von seiner "List of injurious wildlife" (NICKUM, 1999).

Wie aus Abb. 5 ersichtlich, musste im Rahmen von Untersuchungen am oberen Colorado 1993 eine extrem hohe Dezimierung der drei letzten Forellen-Jahrgänge festgestellt werden (WALKER und NEHRING, 1995).



**Abb. 5: Die Auswirkungen der Drehkrankheit auf die Regenbogenforellenpopulation; entnommen aus WALKER und NEHRING, 1995**

Die Drehkrankheit wurde hierfür als Hauptursache anerkannt. Die Bestimmung der Mortalitätsrate durch den Einsatz so genannter Sentinelfische (Bachsaiblinge und Cutthroatforellen in Drahtgitterkompartimenten) ergab einen Durchseuchungsgrad von über 90%. Analysen des Madison River in Montana ergaben einen Rückgang der Regenbogenforellenpopulation ebenfalls um 90% (VINCENT, 1996), ein Jahr später konstatierten BALDWIN et al. (1997) im Rahmen von Untersuchungen in Montana Infektionsraten von 4-69%. In acht von 21 untersuchten Flusssystemen fanden sich mit *Myxobolus cerebralis* infizierte Salmoniden. Die Zunahme der Bachforellendichte zu Lasten der dort beheimateten Regenbogenforellenpopulation wurde sowohl in Utah als auch in Colorado beobachtet. Diese Ergebnisse schenken der Drehkrankheit im Rahmen des Fischereimanagements erneut große Beachtung. Erstmals verschob sich das Hauptinteresse der

Bekämpfung von den Zuchtstationen auf die Wildbahn. In diesem Zusammenhang verbot New York z.B. die Zucht von positiv getesteten Regenbogenforellen-Stämmen.

Trotz der teilweise explosionsartigen Ausbreitung der „Whirling Disease“ in den USA sind nicht alle Gewässersysteme gleich stark betroffen. Der heutige Stand der Forschung lässt den Schluss zu, dass neben bereits erwähnten begünstigenden Umweltbedingungen auch der Mensch für die rasche Durchseuchung des beschriebenen Ausmaßes verantwortlich gemacht werden muss. So stellten SCHISLER und BERGERSEN (1998) fest, dass Gebiete intensiven Fischfangs und Managements am heftigsten von der Drehkrankheit betroffen sind.

Bis heute ist die Drehkrankheit in mindestens 22 Staaten der USA beheimatet (Abbildung 4): Colorado, Connecticut, Idaho, Kalifornien, Maryland, Massachusetts, Michigan, Montana, Nebraska, Nevada, New Hampshire, New Jersey, New Mexiko, New York, Ohio, Oregon, Pennsylvania, Utah, Virginia, Washington, West Virginia und Wyoming.

Ausführlichere Angaben über Infektionschronologie, Infektionsprävalenz der betroffenen Flüsse sowie zu den staatlichen Maßnahmen zur Bekämpfung der Drehkrankheit sind den Whirling Disease Symposien von 1998-2002 zu entnehmen.

#### 4. Ausblick

Fliegenfischtourismus und Fischerei sind für den Amerikaner nicht nur von kultureller und traditioneller Bedeutung, sondern spielen auch in wirtschaftlicher Hinsicht eine sehr wichtige Rolle. So steuert allein die Fischerei jährlich ca. 420 Millionen Dollar zum Staatshaushalt in Colorado und 274 Millionen Dollar in Montana bei.

Das Auswildern von Regenbogenforellenstämmen deutscher Herkunft, die sich im Laufe des letzten Jahrhunderts mit der Drehkrankheit auseinandersetzen mussten und auf diese Weise durch natürliche Selektion eine gewisse Widerstandsfähigkeit erworben haben, könnte eine Möglichkeit darstellen, die Regenbogenforelle in den Flüssen nicht nur der stark betroffenen USA wieder zu etablieren. Somit hätte der Mensch ein kleines Stück Artenvielfalt, welches er selbst durch den Eingriff ins natürliche Ökosystem fast zerstört hat, wieder gesichert.

Im Rahmen dieses Dissertationsvorhabens sollen nun verschiedene deutsche Regenbogenforellen-Stämme auf ihre Empfänglichkeit für die Drehkrankheit unter kontrollierten Laborbedingungen getestet werden und das Ausmaß der Krankheitsentwicklung mit einem infizierten amerikanischen Stamm verglichen werden.

Erfolgreiche Resultate dieser Arbeit bilden in den folgenden Jahren die Grundlage für weitere Forschungsprojekte, die eruieren sollen, in welchem Rahmen *Myxobolus cerebralis*-resistente deutschstämmige Regenbogenforellen zur Auswilderung in nichtdeutschen Gewässern geeignet sind.

### III. MATERIAL und METHODEN

#### 1. MATERIAL

##### 1.1 Oligochaeten

Voraussetzung für die Infektionsversuche der Forellenbrütlinge war das Vorhandensein einer ausreichend großen Menge infektionstüchtiger Triactinomyxon-Sporen. Zu diesem Zweck werden im Labor jeden Monat spezifisch pathogenfreie (=SPF) Tubificiden der Gattung *Tubifex tubifex* aus eigener Zucht mit *Myxobolus cerebralis* Sporen infiziert, welche aus Kopfknochen infizierter Forellen gewonnen werden. Auf diese Weise ist gewährleistet, dass zu jedem Zeitpunkt Triactinomyxon-Sporen zur Fischinfektion sowie drehranke Regenbogenforellen zur Infektion von Oligochaeten verfügbar sind.

##### 1.2 Fischmaterial zur Gewinnung der *Myxobolus cerebralis*-Sporen

Zur Gewinnung der *Myxobolus cerebralis* Sporen für die Infektion der Tubificiden wurden pro Versuch durchschnittlich 15 drehranke Forellen aus deutschen Fischzuchten sowie infizierte Regenbogenforellen aus Laborversuchen verwendet. Die Forellen aus institutseigener Zucht werden in Tonnen mit 100 l Fassungsvermögen, einer Wassertemperatur von durchschnittlich 13°C und einem Wasserdurchlauf von ca. 0,8 l/min gehalten. Durch einen Kieselgurausströmer wurde eine permanente Anreicherung des Wassers mit Luftsauerstoff gewährleistet. Zur Fütterung wurde handelsübliches pelletiertes Forellenfutter verwendet.

##### 1.3 Produktion der Triactinomyxon-Sporen

Die für diese Dissertation benötigten Triactinomyxon-Sporen entstammen den Filtraten von sechs verschiedenen Becken, in denen sich jeweils im Mittel ca. 1.600 infizierte Tubificiden befinden. In den Behältern befindet sich ein 3cm hohes Fundament aus einer Mischung aus 60% extrafeinem und 40% feinem, speziell gereinigtem Aquarienkies der Firma Hagen® und ein mittleres Wasservolumen von 9 l. Die Becken werden in einem Brutschrank, der eine gleich bleibende Wassertemperatur von 15°C gewährleistet, aufbewahrt. Über einen Kalksteinausströmer wird das Wasser mit Luftsauerstoff angereichert. Einmal wöchentlich wird das gesamte Wasser gefiltert

(Maschenweite der Filtermembran: 12,5µm) und das Filtrat lichtmikroskopisch auf Vorkommen von Triactinomyxon-Sporen untersucht.

#### 1.4 Forellenbrütlinge

Für die Infektionsversuche dieses Dissertationsvorhabens dienten die Brütlinge vier verschiedener, deutscher Regenbogenforellenstämmen sowie Bachforellenbrütlinge. Eine Aufstellung der Stämme findet sich in den Tabellen 3-5.

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wurden die Teichzuchten, aus denen die verwendeten Regenbogenforellenstämmen bezogen wurden, anonymisiert. Deutsche Stämme sind durch die Anfangsbuchstaben *Dt--* gekennzeichnet, der amerikanische Stamm durch das Kürzel *Am--*.

Das Geschlecht der einzelnen Probanden wurde nicht bestimmt.

Die Drehkrankheit findet nur bei sehr jung infizierten Forellen vor Abschluss der Ossifikation eine deutliche klinische Ausprägung. Daher war der Zeitraum, in dem die Brütlinge infiziert werden konnten, begrenzt. Die für die erste Infektion benötigte Gesamt-Triactinomyxon-Sporenmenge von 1.066.500 konnte von den Oligochaeten des Instituts nicht auf einmal erbracht werden. Aufgrund der stark schwankenden Leistung der Tubificiden konnte auch keine Leistungssteigerung vorausgesagt werden. Daher wurden die Brütlinge gestaffelt infiziert. Die I. Infektion war innerhalb von 33 Tagen abgeschlossen. Auch das Alter der einzelnen Forellenstämmen war unterschiedlich (Schlupfdatum: 10. 01. (Bachforelle)-01.04. (*DtHa*)). Aus den genannten Gründen sind Alter und Infektionszeitpunkt der Forellen leicht unterschiedlich, ein Umstand, der später bei den Vergleichsstudien berücksichtigt werden muss.

**Tab. 3: Aufstellung der einzelnen Forellenstämme der I. Infektion**

<b>STAMM</b>	<b>SCHLUPFDATUM</b>	<b>INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH</b>	<b>GEWICHT in g</b>	<b>TAGESGRADALTER* in T° 1.INFEKTIONS- VERSUCH</b>
<b>AmTL</b>	28. 02. 2001	10; 100; 1.000; 5.000	0,38	646
<b>DtHo</b>	14. 02. 2001	10; 100; 1.000; 5.000	0,58	763
<b>DtHs</b>	20. 01. 2001	10; 100; 1.000	0,55	979
		5.000	0,55	998
<b>DtLh</b>	22. 03. 2001	10; 100; 1.000	0,25	431
		5.000	0,25	450
<b>DtHa</b>	01. 04. 2001	10; 100; 1.000; 5.000	0,39	677
<b>Bachforelle</b>	10. 01. 2001	5.000	1,30	1069

\* Wassertemperatur x Lebenstage, Einheit T°, Wassertemperatur wurde jeweils im Monatsmittel berechnet

**Tab. 4: Aufstellung der einzelnen Forellenstämme der II. Infektion**

<b>STAMM</b>	<b>INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH</b>	<b>GEWICHT in g</b>	<b>TAGESGRAD- ALTER in T°</b>
<b>AmTL</b>	5.000	1,32	1097
<b>DtHo</b>	5.000	1,60	1214
<b>DtHs</b>	5.000	1,40	1449

**Tab. 5: Aufstellung der einzelnen Forellenstämme der III. Infektion**

<b>STAMM</b>	<b>INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH</b>	<b>GEWICHT in g</b>	<b>TAGESGRAD- ALTER in T°</b>
<b>AmTL</b>	5.000	4,0	1592
<b>DtHo</b>	5.000	4,3	1709
<b>DtHs</b>	5.000	3,2	1944

## 1.5 Tierversuchsantrag

Die durchgeführten Versuche dieses Dissertationsvorhabens wurden von der Regierung von Oberbayern unter der Nr. 211-2531-37/2001 nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes genehmigt.

## 1.6 Versuchsaufbau

### 1.6.1 Aquarien

Die Brütlinge wurden in Gruppen zu je 30 Fischen unterteilt und diese Gruppen nach der Infektion in 50 l Aquarien verbracht. Hier wurden sie fünf Monate bis zum Abschluss der Infektionsversuche gehalten. Ein Panoramaüberblick über die Infektionsversuche des Laborexperiments ist in Abb. 6 dargestellt. Jedes Becken verfügte über einen Kalksteinausströmer zur Anreicherung des Wassers mit Luftsauerstoff, es erfolgte ständiger Frischwasserzulauf (Münchener Leitungswasser aus dem Mangfallgebiet, Härtegrad 16,8°dH, über Entchlorungsanlage) mit einer Temperatur von 12-14°C und einem Durchlauf von 1-1,5 l/min. Die Forellen wurden mit handelsüblichem Forellenfutter täglich gefüttert (1% des Körpergewichts).



**Abb. 6: Panoramaüberblick über den Laborversuchsaufbau**

### 1.6.2 Feldversuch

Der Feldversuch wurde in einer bayerischen Fischzucht bei Landsberg am Lech durchgeführt. In der Forellenzucht wurde in einen Teich eine Kunststoffwanne mit fünf Kompartimenten mit je 60cm Länge eingesetzt. Eine schematische Übersicht zum Feldversuchsaufbau ist in Abb. 7 dargestellt, Photographien der Teichanlage finden sich in Abb. 8 und 9. Der Teich selbst enthält 500 m<sup>3</sup> Wasser und wird von einem höher gelegenen, 200m<sup>3</sup> Wasser enthaltenen Teich, mit 2 l Wasser pro Sekunde eingespeist. Die Kunststoffwanne aus hochverdichtetem HDPE-Kunststoff wurde direkt an der Wassereinspeisestelle in den Teich gesetzt. Die Maße betragen 300cm Länge x 60cm Tiefe x 80cm Höhe, der Wasserstand beträgt 60 cm. Ein Kompartiment enthält somit effektiv 216 l

---

Wasser. Zum Schutz vor Fressfeinden diente ein Deckel, welcher nur zu Fütterungszeiten unter Aufsicht geöffnet wurde. Das erste Kompartiment wurde nicht als Fischbehälter genutzt.

Nach 120 Tagen wurde das Feldexperiment vorzeitig beendet. Nach einer Wiesenmaht in unmittelbarer Nähe des Teiches fiel Gras in den Teich und blockierte den Frischwasserzulauf in die einzelnen Kompartimente. Durch den hieraus resultierenden Sauerstoffmangel verendeten die Forellen über Nacht. Die Kadaver konnten jedoch noch zur quantitativen Sporenerfassung mittels Digestionsmethode sowie zu histologischen Untersuchungen verwendet werden. Blutuntersuchungen und die exakte Bestimmung von Gewicht und Größe konnten aufgrund fortgeschrittener Autolyse, insbesondere im Abdominalbereich, nicht durchgeführt werden.

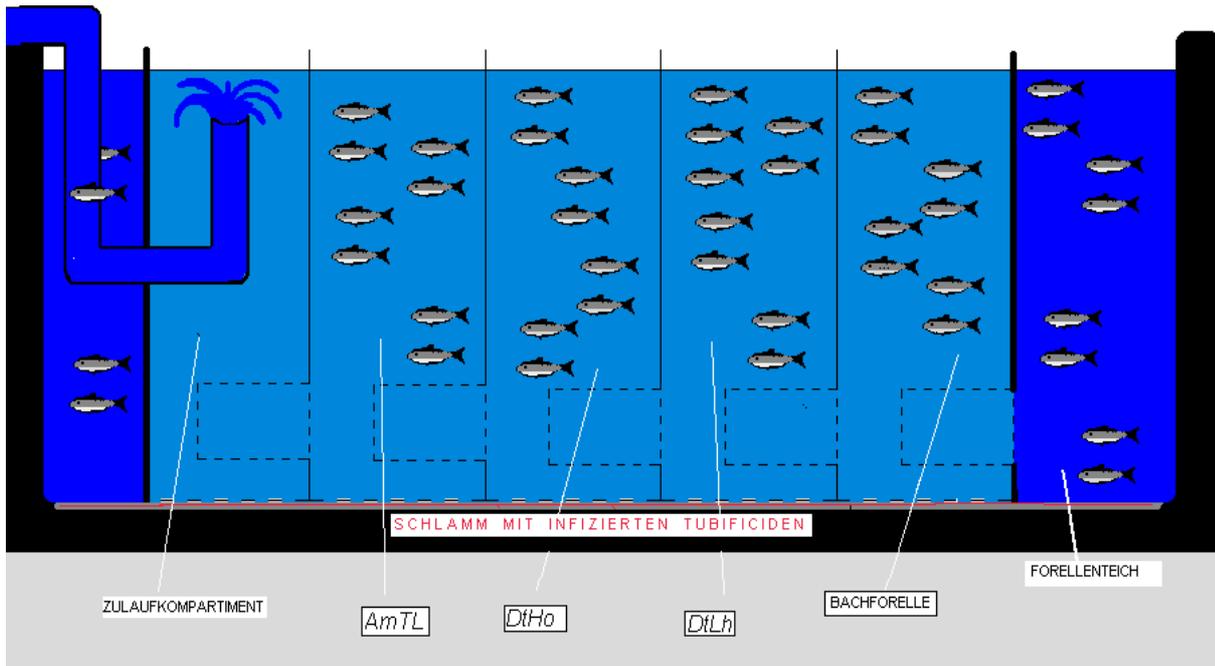


Abb. 7: Schematische Darstellung des Feldversuchs

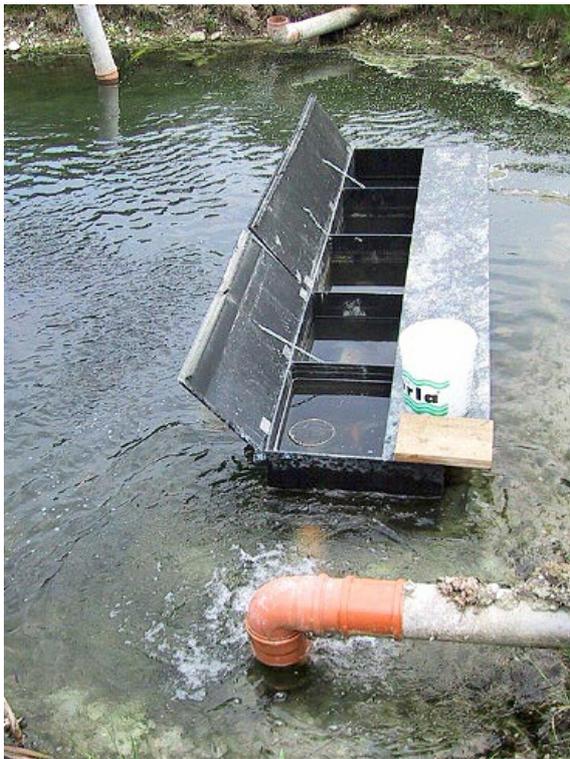


Abb. 8: Aufsicht auf die Kunststoffwanne



Abb. 9: Einzelnes Kompartiment

## 2. METHODEN

### 2.1 Versuchsübersicht

Ziel der Arbeit war es, verschiedene Regenbogenforellenstämme auf ihre Empfänglichkeit für die Drehkrankheit miteinander zu vergleichen.

Dazu wurden zunächst- bereits im Vorjahr- Oligochaeten der Gattung *Tubifex tubifex* mit *Myxobolus cerebralis* Sporen aus dem Knorpel drehkranker Forellen infiziert. Nach Beginn der Triactinomyxon-Sporenproduktion wurden die zu untersuchenden Regenbogenforellenstämme mit verschiedenen Sporenkonzentrationen über einen Zeitraum von drei Stunden ausgesetzt. Zur Kontrolle des Infektionserfolgs wurde das Infektionsbad nach Ablauf dieser Zeit untersucht, sowie je ein Fisch pro Gruppe formalinfixiert und das Epithel auf eingedrungene Sporoplasmen histologisch untersucht. Zusätzlich wurde je ein Fisch pro Gruppe der Stämme *DtHo* und *AmTL* in 1% Glutaraldehyd fixiert, um rasterelektronenmikroskopisch Triactinomyxon-Sporen beim Eindringen ins Epithel zu detektieren. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde schriftlich fixiert, wie viele Fische jeweils die Krankheitssymptome der Drehkrankheit „Whirling“, „Blacktail“ und „Deformation“ entwickelten.

Fünf Monate post infectionem wurden je zehn Fische pro Infektionsdosis und Stamm getötet, gemessen und gewogen, Blutausschnitte für ein Differentialblutbild angefertigt, der Kopf abgesetzt und sagittal in zwei Hälften geteilt. Eine Hälfte wurde zur Sporenzählung mittels Verdauungsmethode herangezogen, die andere Hälfte wurde für histologische Zwecke in Formalin fixiert und später qualitativ die Wirtsreaktion im Knorpel mikroskopisch beurteilt.

Der gleiche Versuch wurde zeitlich versetzt bei drei ausgewählten Stämmen mit älteren Brütlingen wiederholt (II. und III. Infektionsversuch).

Zusätzlich wurde ein Feldexperiment mit vier ausgewählten Stämmen in einer Fischzucht bei Landsberg am Lech durchgeführt.

### 2.2 Infektionsversuche der Tubificiden

#### 2.2.1 Vorbereitung der Becken

Die Oligochaeten wurden mit dem Schlamm aus den Oligochaetentonnen entnommen und mit Hilfe eines Küchensiebs (Maschenweite 0,5mm) vom Schlamm separiert. Nach dem Wiegen (ein Gramm Würmer enthält ca. 200 Individuen) wurden sie in den vorbereiteten Becken auf dem mit wenig

Leitungswasser bedeckten Sand verteilt. In jede Wanne wurden durchschnittlich 1.600 Individuen verbracht und anschließend infiziert.

### 2.2.2 Gewinnung der *Myxobolus cerebralis* Sporen

Die Köpfe der getöteten Forellen wurden manuell entfleischt, mit einem Mixer der Firma Moulinex® 10min bei höchster Stufe zerkleinert und das Homogenat anschließend durch Gaze zur Entfernung grober Fleisch- und Knorpelstücke geschickt. Anschließend wurden die *Myxobolus cerebralis* Sporen mithilfe einer High Speed-Zentrifuge der Firma Kahl Scientific Instrument corp.® vom Homogenat separiert.

Das so gewonnene Sporenpellet wurde in 100ml aqua fontana resuspendiert. Nach Entnahme von 20 µl Proben der homogenen Suspension wurden unter 10 x 40facher Vergrößerung die enthaltenen Sporen lichtmikroskopisch ausgezählt und anschließend die Gesamtmenge errechnet.

### 2.2.3 Infektion der Tubificiden

Die 100ml Sporensuspension wurde in die vorbereiteten Becken verteilt. Um eine optimale Aufnahme der Sporen durch die Würmer sicherzustellen, wurde in dieses Infektionsbad erst im Laufe einer Woche täglich Frischwasser bis zum Erreichen der Beckenkapazität zugefügt. Dadurch war eine hohe Initialkonzentration an Sporen gewährleistet und die Sporen konnten sedimentieren. Infiziert wurden die Oligochaeten im Zeitraum November 2000- Februar 2001.

### 2.2.4 Gewinnung der Triactinomyxon-Sporen

Einmal pro Woche wurde das Wasser in den Oligochaetenbecken komplett gewechselt und nach Verstreichen der Inkubationszeit von 90 Tagen erstmals filtriert. Hierfür wurde das in den Becken enthaltene Wasser durch ein Sieb (Maschenweite 12,5µm) geschickt. Die im Filtrat enthaltenen Sporen wurden mit Leitungswasser abgespült und aufgefangen. Von diesem Sporenkonzentrat wurden jeweils 50µl bei 10 x 10facher Vergrößerung lichtmikroskopisch ausgezählt. So konnte auf die Gesamtsporenmenge pro Becken hochgerechnet werden.



**Tab. 7: Übersicht über den II. Infektionsversuch; 22.06.2001**

	<i>DTHO</i>	<i>DTHS</i>	<i>AMTL</i>
5.000 TAM/Fisch	20 Fische	20 Fische	20 Fische

**Tab. 8: Übersicht über den III. Infektionsversuch; 02.08.2001**

	<i>DTHO</i>	<i>DTHS</i>	<i>AMTL</i>
5.000 TAM/Fisch	12* Fische	20 Fische	20 Fische

\* Mehr Probanden des Stamms *DtHo* standen dem Versuchsvorhaben nicht zur Verfügung

### 2.2.5.2 Feldversuch

Je 100 Regenbogenforellen der Stämme *DtLh*, *AmTL*, *DtHo* und 100 Bachforellen wurden nach dem Wiegen am 06.05.2001 in die einzelnen Kompartimente eingesetzt. Eine Übersicht hierüber gibt Tabelle 9.

**Tab. 9: Übersicht über den Feldversuch am 06.05.2001**

FORELLENSTAMM	<i>AmTL</i>	<i>DtHo</i>	<i>DtLh</i>	Bachforelle
ANZAHL	100	100	100	100
GEWICHT in g	0,38	0,58	0,25	1,3

## 2.3 Überprüfung des Infektionserfolgs

### 2.3.1 Untersuchung des Infektionsbads post expositionem

Erste Anhaltspunkte über eine erfolgreich verlaufene Infektion gab die Differenzierung intakter und leerer Triactinomyxon-Sporen nach Ablauf der Expositionszeit. So wurden drei Stunden nach Infektionsbeginn die Fische aus dem Infektionsbad entfernt und eine Wasserprobe entnommen. Das Konzentrat wurde lichtmikroskopisch auf das Vorhandensein intakter Sporen sowie Sporen mit ausgeschleuderten Polfilamenten hin untersucht und das Verhältnis ausgezählt. Insgesamt wurden jeweils 100 Sporen differenziert.

### 2.3.2 Rasterelektronenmikroskopie

10 und 20 min. nach Expositionsbeginn wurden pro Gruppe je ein Fisch vorsichtig, um anhaftende Sporen nicht zu beschädigen, mittels Pinzette entnommen und die Fische durch Genickschnitt getötet. Anschließend wurden sie in 1% Glutaraldehyd eingelegt und für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Hautoberfläche fixiert. Die fixierten Epidermisstücke wurden am Rasterelektronenmikroskop des Instituts für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München (Vorstand Prof. Dr. K. Pfister) dargestellt. Nach Waschen der Proben in Sörensen-Puffer wurden die Proben mit Aceton entwässert. Nach der kritischen Punkttrocknung (Balzers Union CPD 020) über CO<sub>2</sub> wurden die Epidermisstücke fixiert und mit einer Gold/Palladium-Schicht besputtert. Die Untersuchung erfolgte mit einem Zeiss Digital Scanning Microscope (DSM 950) bei 4-10kV.

### 2.3.3 Sporoplasmenzählung

Eine Stunde nach Expositionsbeginn wurde ein Proband pro Gruppe aus dem Infektionsbad entfernt, mittels Tötungsbad (0,3% 1,1,1-Trichlor-2-methyl-2-propanol-Hemihydrat-Lösung (Chlorbutanol, Fa. Sigma)) getötet und formalinfixiert. Nach mindestens 24-stündiger Fixierung wurden die Fische in Paraffin gebettet, und nach Aushärtung 4µm dicke Schnitte an einem Mikrotom der Firma Reichert-Jung®, Modell 1140/Autocut angefertigt. Nach HE-Färbung dieser Schnitte wurde die Epidermis mikroskopisch auf eingedrungene Amöboidkeimzellen untersucht. Mittels dieser Methode ist es möglich, den Infektionserfolg vor Ablauf der Inkubationszeit zu überprüfen.

## 2.4 Beobachtung der klinischen Symptome

Die Fische wurden jeden Tag beobachtet und ab dem Beginn der klinischen Symptomatik alle zwei bis fünf Tage die gezeigten Krankheitssymptome in einer Tabelle dokumentiert. Fixiert wurde die Anzahl der Probanden, welche die drei Hauptsymptome der Drehkrankheit zeigten sowie Fischverluste und die Anzahl der verbliebenen Probanden pro Becken.

## 2.5 Verarbeitung des Fischmaterials

### 2.5.1 Tötung der Forellen

Fünf Monate nach der Infektion wurden pro Gruppe 10 Forellen heterogenen Gewichts, heterogener Größe und Krankheitsausprägung mittels Tötungsbad (0,3% 1,1,1-Trichlor-2-methyl-2-propanol-Hemihydrat-Lösung (Chlorbutanol, Fa. Sigma)) getötet und Gewicht und Größe notiert.

### 2.5.2 Blutentnahme

#### 2.5.2.1 Methode

Die Schwanzflosse wurde abgesetzt und das austretende Blut aus der Arteria bzw. Vena cava caudalis auf einen Objektträger getropft und sofort ausgestrichen.

#### 2.5.2.2 Anfertigen des Differentialblutbilds

Die Blutausrichie wurden nach der Luftrocknung mittels Diff Quick® (Baxter Diagnostics AG) gefärbt. [Zwischen den Lymphozyten und den kernhaltigen Thrombozyten besteht bei Fischen große morphologische Ähnlichkeit; sie werden deshalb oft verwechselt. Die differenzierte Anfärbung von Blutausrichien lässt eine exakte Unterscheidung dieser zwei Zelltypen zu.]

Zur lichtmikroskopischen Differenzierung (Vergrößerungsfaktor 10 x 100, Ölimmersion) gelangten jeweils 100 Leukozyten.

### 2.5.3 Verwertung des infizierten Kopfknoorpelmaterials

Der Kopf wurde am Ansatz der Rückenflosse abgesetzt und sagittal mit Hilfe des Skalpell in zwei Hälften geteilt. Eine Hälfte wurde für die später vorgesehene histologische Untersuchung in 5%igem Formalin fixiert, die andere Hälfte (jeweils die mit dem höheren Wirbelsäulenanteil-eine exakte sagittale Trennung durch die Wirbelkörper war in praxi nicht durchführbar) wurde für die Verdauungsmethode eingefroren.

#### 2.5.3.1 Quantitative Erfassung der Sporenmenge mittels Verdauungsmethode

##### Entfleischen der Köpfe

Zur quantitativen Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenmenge wurde das von MARKIW und WOLF (1974) entwickelte Procedere der Digestionsmethode angewendet. Die bei -21°C

tiefgefrorenen Kopfhälften wurden aufgetaut, einzeln in Histologiegläser verbracht und mit 40°C warmem Aqua font. bedeckt. Zur Intensivierung des Rütteleffekts wurden je drei Glaskugeln (Durchmesser ca. 5mm, Firma Riedel-de Haën) zugefügt. Die Proben wurden bei dieser Temperatur für 30 min bis zwei Stunden, je nach Kopfgröße, inkubiert und gerüttelt (Shaker von Edmund Bühler®, Gerätetyp KL2, 100↔/min). Anschließend wurde das Sample von Hand geschüttelt. Dadurch wurde das mittlerweile lose Fleisch vom Knorpelmaterial gelöst und konnte vorsichtig abgossen werden. Durch wiederholtes Schütteln und Abgießen des fleischhaltigen Wassers konnte so der Großteil des Knorpels separiert werden. Um sämtliche Knorpelanteile zu erhalten, wurde das Eluat mit den enthaltenen Fleischanteilen mittels Pinzette auf kleine Knorpelteilchen untersucht und diese entnommen. Die erhaltene Gesamtknorpelfraktion des Schädel skeletts wurde in Zentrifugentubes eingefroren. Das Waschwasser wurde ebenfalls in ein 50ml-Zentrifugentube verbracht und zentrifugiert. Das so erhaltene sedimentierte Sporenpellet am Boden des Zentrifugenglases sowie der Knorpel jeder einzelnen Kopfhälfte wurden für die Verdauung eingefroren, der- idealerweise- sporenfreie Überstand wurde unschädlich gemacht und entsorgt.

#### Pepsin-Trypsin-Verdauung der Knorpel

Die den Knorpel enthaltenden Zentrifugengläser wurden nach dem Auftauen jeweils mit 10ml einer 0,5% Pepsin in 0,5%HCl-Lösung aufgefüllt und im Wasserbad bei 37°C ein bis drei Stunden inkubiert und gerüttelt.

Der Anfangs-pH der Lösung betrug 1-2 und stieg im Laufe des Verdauungsprozesses auf bis zu 4. Bei höheren Werten (Kontrolle mittels pH-Indikator-Papier) wurde dem Medium erneut HCl zugegeben. Das Ende der Digestion war dadurch gekennzeichnet, dass keine bzw. nur sehr kleine Knorpelanteile makroskopisch zu erkennen waren. Daraufhin wurden die Tubes erneut zentrifugiert (10 min, 1.300 Umdrehungen/min), der Überstand unschädlich gemacht und das erhaltene Pellet in 5ml Aqua font. resuspendiert. Anschließend wurde dieser Suspension jeweils 5ml einer 0,1% Trypsin-Rinaldini-Lösung zugefügt. Der pH wurde mit 0,1 normaler NaOH-Lösung auf 8,0-8,5 adjustiert, pH-Indikatorpapier und der Farbumschlag der Rinaldini-Lösung dienten hierbei als Kontrolle. Abhängig von der Ausgangsgröße der Knorpelfragmente wurde die Trypsinverdauung nach 10 bis spätestens 30min durch Zugabe von Kälberserum gestoppt, um ein Verdauen der Sporen zu verhindern. Dem Homogenat wurde das aufgetaute Waschwasser des Entfleischungsprozesses zugeführt und erneut zentrifugiert (10min, 1.300 Umdrehungen/min) und anschließend der Überstand vorsichtig abgossen. Das Sporenpellet wurde erneut mit wenig Wasser resuspendiert und das Volumen der so erhaltenen Suspension schriftlich festgehalten.

### Sporenzählung

Eine Neubauer-Zählkammer wurde mit der Sporensuspension beschickt. Für die quantitative Sporenerfassung wurden jeweils 2 x 16 x 16 kleine Quadrate ausgezählt. Es wurde jeweils eine Doppelprobe bestimmt und der Mittelwert gebildet. Die Prävalenz (Anzahl der infizierten Fische/Anzahl der untersuchten Fische) wurde bei jeder Infektionsdosis bei allen Stämmen bestimmt. Als infiziert wurde jeder Fisch angesehen, bei dem sich mindestens eine *Myxobolus cerebralis*-Spore auffand.

Aus der Anzahl der ausgezählten Quadrate, dem Verdünnungsfaktor sowie dem Volumen des Sporenhomogenats und den Zählkammerdimensionen wurde die mittlere Sporenzahl pro Fischkopfhälfte mittels folgender Formel errechnet:

Zellen pro ml = mittlere Sporenanzahl x Verdünnungsfaktor x 1.000

Gesamtsporenanzahl pro Kopfhälfte = Sporen/ml x Ausgangsvolumen

Das Procedere der Gewinnung und Zählung der Sporen unterlag dem "Standard Protocol for Whirling Disease Research" (Vorgelegt vom "Standardized Protocols Advisory Committee", The Whirling Disease Foundation, (406) 585-0860, und der Fish Health Section of the American Fisheries Society. Version 1, 2001).

#### 2.5.3.2 Histologie des Kopfkorpels

Die Einbettung der formalinfixierten Kopfhälften erfolgte mit Paraffin. Anschließend wurden an einem Mikrotom der Firma Reichert-Jung®, Modell 1140/Autocut 4µm dicke Paraffinschnitte angefertigt. Hierbei wurde insbesondere darauf geachtet, in Ebenen mit hohem Knorpelanteil zu schneiden. Von jeder Kopfhälfte wurden mindestens zwei Schnitte angefertigt.

### Färbung

Um ein optimales Ergebnis zu erlangen, wurden die histologischen Schnitte nach der Trocknung manuell mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt und mit Eukitt® eingedeckelt.

### Bewertung der Wirtsreaktion

Zur Beurteilung der Wirtsreaktion wurde das Gradierungsschema des MACCONNELL-BALDWIN Numerical Scale verwendet. Diese histologische Beurteilung bedient sich einer Skala von null bis fünf. Zur besseren Identifikation dieser Noten wurden sie mit der im Rahmen dieser Dissertation eingeführten Einheit Histograd (°H) belegt. Die Skala findet sich im Standard Protocol for Whirling

Disease Research (BARTHOLOMEW et al., 2001). Sie orientiert sich an der Qualität und Quantität der Wirtsreaktion in der folgenden Weise:

- **0°H** Keine Abnormalitäten.
- **1°H** Kleine/r, unauffällige/r Herd/e der Knorpeldegeneration. Keine oder nur wenig Leukozyten assoziiert.
- **2°H** Einzelner, lokal ausgedehnter Bereich oder einzelne kleinere Bereiche der Knorpeldegeneration und Nekrose. Entzündungsgeschehen ist lokalisiert, wenig bis gemäßigte Anzahl Leukozyten infiltrieren bzw. umsäumen den lytischen Knorpel.
- **3°H** Multifokale Knorpeldegenerationen (3-4) und Nekrose. Einige Leukozyten assoziiert mit lytischem Knorpel. Bereiche mit Entzündungszellen dehnen sich leicht ins umliegende Gewebe aus.
- **4°H** Multifokale (4 oder mehr) bzw. zusammenfließende Bereiche der Knorpelnekrose. Mäßig bis große Anzahl Leukozyten umgibt bzw. infiltriert den lytischen Knorpel. Lokal ausgedehnte Bereiche mit Leukozyten infiltrieren das umliegende Gewebe.
- **5°H** Multifokale (6 oder mehr) bzw. zusammenfließende Knorpelnekrosen. Mäßige bis große Anzahl von Leukozyten umgeben bzw. infiltrieren nekrotischen Knorpel. Die Entzündungsreaktion ist ausgedehnt und Leukozyten dringen tief in umliegendes Gewebe ein. Diese Klassifizierung ist charakterisiert durch den Verlust der normalanatomischen Knorpelarchitektur und nur bei stark betroffenen Tieren zu finden. In zweifelhaften Fällen wurde Grad vier bevorzugt.

## 2.6 Datenverarbeitung

Sämtliche erhaltenen Daten der Untersuchungen wurden in Microsoft® Word und Excel-Dateien archiviert und hier übliche statistische Parameter wie Mittelwert und Standardabweichung errechnet. Zur besseren Übersicht wurden die Resultate mit Hilfe von Microsoft® Excel-Dateien teilweise als Säulendiagramme graphisch dargestellt. Die graphische Darstellung des Feldversuchs wurde mit Microsoft® Paint angefertigt.

### 2.6.1 Statistik

Bei statistischen Analysen respektive Gruppenvergleichen wurden General Linear Models-Procedures (GLM) und die Vier Felder-Chi-Square-Verteilung aus dem Statistikprogrammpaket SAS verwendet. Die Ergebnisse der quantitativen Sporenerfassung wurden vor der Auswertung der Daten mittels GLM-Procedure (SAS-System) aufgrund großer Schwankungsbreiten um den Mittelwert logarithmiert.

In die Berechnung wurden auch diejenigen Forellen einbezogen, bei denen im Rahmen der Sporenzählung keine Sporen detektiert werden konnten. Die Negativkontrollgruppen wurden nicht in die Berechnungen miteinbezogen.

Der Signifikanzlevel P aus der Chi-Square-Verteilung wurde entsprechend Tabelle 10 festgelegt:

**Tab. 10: Festlegung des Signifikanzlevel P**

P < 0,1	leicht signifikant
P < 0,05	signifikant
P < 0,01	hoch signifikant
P < 0,001	sehr hoch signifikant

### 2.6.2 Photographien

Bei der histologischen Untersuchung der Kopfhälften wurden markante Bereiche der Knorpeldegeneration sowie gruppenrepräsentative pathologische Veränderungen photographiert. Des Weiteren wurden Aufnahmen zur Übersicht über Feld- und Laborversuch angefertigt. Sowohl makroskopische als auch mikroskopische Photographien wurden mit der DSC-S85 cyber shot Digital Still Camera von Sony® angefertigt.

## IV. ERGEBNISSE

### 1. Infektionsversuche der Regenbogenforellen

#### 1.1 Triactinomyxon-Sporenproduktion

Die institutseigenen Tubificiden produzierten im für die Infektion der Forellenbrütlinge relevanten Zeitraum durchschnittlich 410.000 Triactinomyxon-Sporen pro Woche. Da für die Infektion aller Stämme der I. Infektion eine Gesamtsporenanzahl von 1.066.500 benötigt wurde, mussten die Stämme in drei Etappen gestaffelt infiziert werden.

### 2. Postexpositionelle Überprüfung des Infektionserfolgs

#### 2.1 LABOREXPERIMENT

Um vor Ablauf der Inkubationszeit den Erfolg der Infektion beurteilen zu können, wurde das Verhalten der Forellen beim Umsetzen in das Infektionsbad beobachtet, post expositionem die Triactinomyxon-Sporen differenziert, sowie histologische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Epidermis der Forellen durchgeführt:

##### 2.1.1 Klinische Beobachtungen

Beim Umsetzen der Stämme *AmTL* und *DtHa* in das Infektionsbad konnte das charakteristische „Zucken“ der Forellen bei den Konzentrationen 1.000 TAM/Fisch und 5.000 TAM/Fisch beobachtet werden.

##### 2.1.2 Differenzierung der Triactinomyxon-Sporen post expositionem

Die Untersuchung des Infektionsbads nach der Infektion gibt Auskunft, ob die Triactinomyxon-Sporen ihre Amöboidkeimzellen ausgeschleudert haben oder noch in der infektiösen Form vorliegen. Zwar impliziert ersteres nicht automatisch eine erfolgreiche Infektion der Forellenbrütlinge, jedoch kann durch diese Untersuchung eine nicht erfolgte Infektion erkannt werden.

Die Differenzierung der Triactinomyxon-Sporen ergab, dass nach drei Stunden Expositionszeit durchschnittlich 79,4% der Sporen ihre Amöboidkeimzellen sowie ihre Polkapseln verloren hatten.

Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen konnten bei dieser Untersuchung nicht festgestellt werden.

### 2.1.3 Histologische Untersuchung

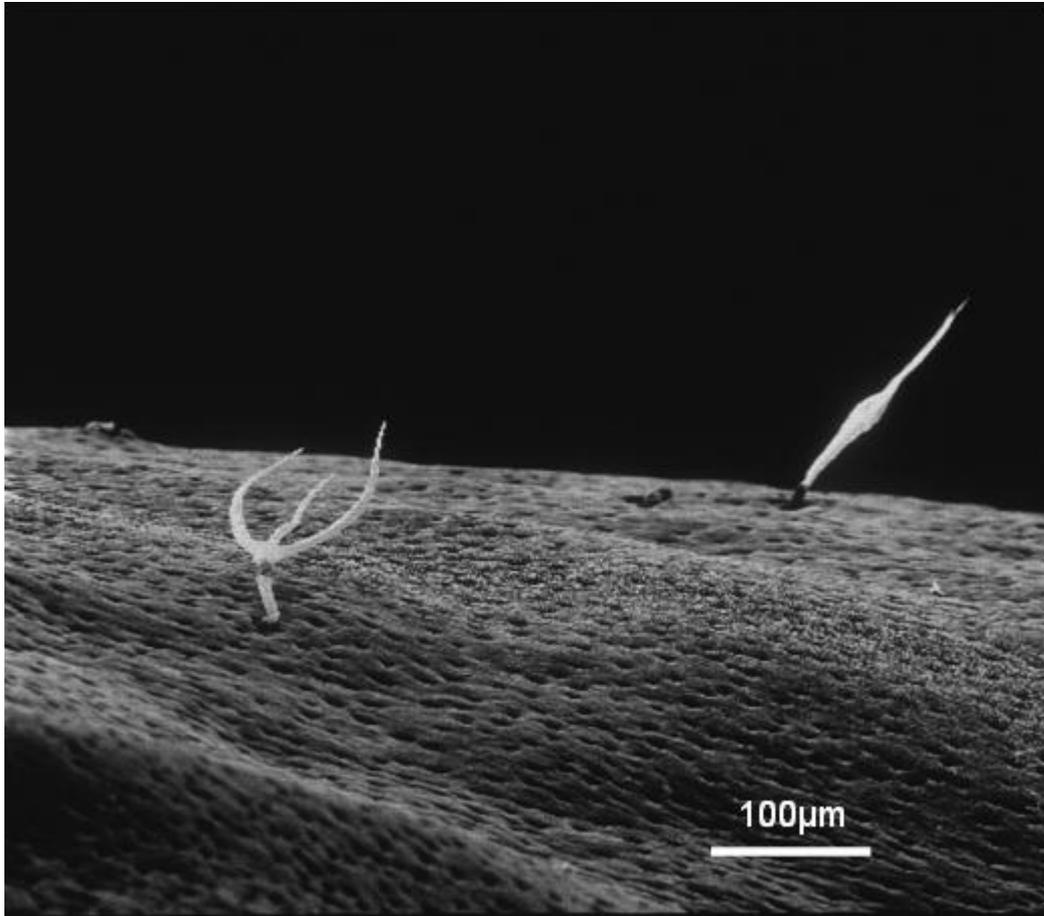
Eine Stunde nach Expositionsbeginn wurde je eine Forelle pro Stamm und Infektionsdosis getötet. Die Amöboidkeime ließen sich mittels HE-Färbung gut darstellen. Trotzdem erwies sich die lichtmikroskopische Auszählung der Sporoplasmen in der Epidermis der Forellen nur bei den beiden höchsten Konzentrationen 1.000 und 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch als erfolgreich. Einen Überblick über die Anzahl der detektierten Sporen pro Schnitt findet sich in Tabelle 11. Am zahlreichsten waren sie in der Epidermis der Flossen anzutreffen. Die Amöboidkeime stellten sich als Anhäufung rundlicher, blau angefarbter Zellen dar, die in Verbänden von mindestens 8 bis 16 Keimen (je nach Schnittebene), von einer Membran umgeben, in der Epidermis vorlagen. Häufig waren mehrere Sporoplasmen vergesellschaftet. Durchschnittlich wurden pro Fisch sieben mikroskopische Schnittpräparate angefertigt und ausgewertet.

**Tab.11: Anzahl der durchschnittlich ausgezählten Amöboidkeimzellen pro Schnittpräparat**

	<i>DTHO</i>	<i>DTLH</i>	<i>DTHS</i>	<i>DTHA</i>	<i>AMTL</i>	BACHFORELLE
1.000 TAM/Fisch	0,75	1,25	0,5	1,5	0,7	
5.000 TAM/Fisch	3,6	8,75	5,33	8,0	10,5	4,0

### 2.1.4 Rasterelektronenmikroskopie

Mittels Rasterelektronenmikroskopie konnte, wie aus Abb. 10 ersichtlich, die erfolgreiche Anheftung einzelner *Triactinomyxon*-Sporen an die Epidermis des Fisches nachgewiesen werden.



**Abb. 10:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zweier in die Epidermis eindringender *Triactinomyxon*-Sporen; Übersicht Kopfbereich; Stamm *AmTL*; 5000 TAM/Fisch

## 2.2 FELDEXPERIMENT

Beim Feldexperiment konnte direkt im Anschluss an das Aussetzen der Forellenbrütlinge in die Kunststoffkompartimente aufgrund der zu geringen Sporendichte im Teichwasser keine Überprüfung des Infektionserfolgs durchgeführt werden.

### 3. Klinische Beobachtungen

Die Chronologie der Symptomentwicklung wird zunächst im Laborversuch jeweils am Tag 50, 100 und 150 post infectionem dargestellt. Zusätzlich wird die Inkubationszeit, also der Zeitpunkt des ersten Auftretens einer Krankheitserscheinung nach erfolgter Infektion, **fettgedruckt** angegeben. Es werden die Infektionsdosen in aufsteigender Reihenfolge (10, 100, 1.000 und 5.000 TAM/Fisch) und in zweiter Ordnung die betreffenden Stämme (*DtHo*, *DtLh*, *DtHs*, *DtHa*, *AmTL*) und bei 5.000 TAM/Fisch zusätzlich die Bachforelle beschrieben.

Im Anschluss daran werden die zweite und die dritte Infektion, bei welcher jeweils *DtHo*, *DtHs* und *AmTL* mit der höchsten Sporenkonzentration von 5.000 TAM/Fisch infiziert worden sind, vorgestellt.

In den Kontrollgruppen konnten keine Symptome der Drehkrankheit beobachtet werden.

Zuletzt wird chronologisch bis zum Tag 120 dargestellt, in welchem Prozentsatz die Probanden des Feldversuchs (Stamm *DtHo*, *DtLh*, *AmTL* und Bachforelle) eine klinische Manifestation der Drehkrankheit entwickelten.

## 3.1 LABOREXPERIMENT

### 3.1.1 I. Infektionsversuch

#### 3.1.1.1 Tag 50 post expositionem

##### **Infektionsdosis: 10 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

In der niedrigsten Infektionsdosis waren, wie aus Tabelle 12 zu entnehmen, 50 Tage nach erfolgter Infektion bei keinem der Stämme Krankheitserscheinungen zu beobachten.

##### **Infektionsdosis: 100 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Hier verlief die Infektion bei drei der deutschen Forellenstämmen (*DtHo*, *DtLh*, *DtHs*) bis zu diesem Zeitpunkt subklinisch.

**50** Tage post expositionem trat der erste Fisch des Stamms *DtHa* ins klinische Stadium der Drehkrankheit (siehe Tab. 12) ein. Erstes Symptom hierfür war die Schwarzverfärbung der Kaudalpartie.

Bei einem Probanden des amerikanischen Stamms betrug die Inkubationszeit **48** Tage. Er zeigte ebenfalls Dunkelverfärbungen des hinteren Körperdrittels.

##### **Infektionsdosis: 1.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Die Regenbogenforellen der Stämme *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* waren, wie Tab. 12 zeigt, bis zu diesem Zeitpunkt als klinisch unauffällig einzustufen.

Als erster deutscher Stamm dieser Infektionsgruppe zeigte ein Fisch des Stamms *DtLh* am **49.** Tag Schwarzverfärbung der Kaudalpartie.

Ab dem **50.** Tag konnte bei einer amerikanischen Regenbogenforelle das pathologische Schwimmverhalten provoziert werden.

##### **Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tabelle 12 zu entnehmen, wies ab dem Tag **43** der erste Fisch des Stamms *DtHo* Schwarzverfärbung der Kaudalpartie auf.

*DtLh*, der Stamm, der bei der Infektionsdosis 1.000 TAM/Fisch am **49.** Tag nach der Sporenexposition einen Fisch mit „Black Tail“ aufwies, war bei 5.000 TAM Infektionsdosis bezüglich dieses Symptoms bis zu diesem Zeitpunkt unauffällig. Beginnende Deformationen des Schädelskeletts sowie Verkürzungen des Kiemendeckels konnten jedoch bei einem Fisch **48** Tage post infectionem beobachtet werden.

Kein Fisch des Stamms *DtHs* war am Tag 50 klinisch an der Drehkrankheit erkrankt (siehe Tabelle 12).

Beginnende Deformationen des Schädelskeletts fielen bei der Adspektion des Stamms *DtHa* bei einem Fisch ab dem 50. Tag auf.

Bei einem Fisch des amerikanischen Stamms konnten am **43.** Tag nach erfolgter Infektion die charakteristischen Drehbewegungen provoziert werden. Bis zum Tag 50 verfärbten sich die Kaudalpartien von fünf weiteren Forellen dunkel, bei einem Fisch fiel bei der Adspektion eine Verkürzung der Kiemendeckel auf.

Mit der höchsten Sporenkonzentration von 5.000 TAM/Fisch wurden auch Bachforellen infiziert. Bei ihnen war am 50. Tag keine klinisch manifestierte Form der Drehkrankheit zu diagnostizieren.

**Tab. 12: Überblick über die beobachteten Symptome 50 Tage nach erfolgter Infektion. Sämtliche Versuche der ersten Infektion im Laborexperiment**

Infektionsdosis	Stamm	SYMPTOM		
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
10 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtLh</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHs</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	0 (23)	0 (23)	0 (23)
	<i>AmTL</i>	0 (25)	0 (25)	0 (25)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
100 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (24)	0 (24)	0 (24)
	<i>DtLh</i>	0 (25)	0 (25)	0 (25)
	<i>DtHs</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	0 (27)	1 (27)	0 (27)
	<i>AmTL</i>	0 (23)	1 (23)	0 (23)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
1.000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (26)	0 (26)	0 (26)
	<i>DtLh</i>	0 (25)	2 (25)	0 (25)
	<i>DtHs</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	0 (24)	0 (24)	0 (24)
	<i>AmTL</i>	1 (22)	0 (22)	0 (22)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
5.000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (26)	1 (26)	0 (26)
	<i>DtLh</i>	0 (25)	0 (25)	1 (25)
	<i>DtHs</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	0 (24)	0 (24)	2 (24)
	<i>AmTL</i>	1 (27)	5 (27)	1 (27)
	Bachforelle	0 (27)	0 (27)	0 (27)

### 3.1.1.2 Tag 100 post expositionem

#### **Infektionsdosis: 10 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Auch 100 Tage nach Sporenexposition konnten, wie Tabelle 13 verdeutlicht, bei den Regenbogenforellen-Stämmen deutschen Ursprungs keine Symptome der Drehkrankheit detektiert werden.

Ab dem **98.** Tag nach der Exposition mit 10 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch zeigte ein Fisch des Stamms *AmTL* Schwarzverfärbung des kaudalen Körperdrittels. Alle anderen Fische waren als klinisch gesund bezüglich der Drehkrankheit einzustufen.

#### **Infektionsdosis: 100 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Die zweitniedrigste Infektionsdosis vermochte nach 100 Tagen noch keine Anzeichen der Drehkrankheit bei den Probanden des Stamms *DtHo* auszulösen.

Alle drei Kardinalsymptome fanden 100 Tage nach der Infektion ihre Ausprägung bei den *DtLh*-Regenbogenforellen: Bei drei von 22 Probanden war durch Stressinduktion das charakteristische pathologische Drehverhalten hervorzurufen (siehe Tabelle 13). Eine der Forellen wies Schwarzverfärbung des Schwanzes auf. Drei Forellen litten unter Kiemendeckelverkürzung bzw. anderen Schädeldeformationen.

Ab dem **95.** Tag p. inf. waren bei zwei von 28 Regenbogenforellen des Stammes *DtHs* Drehbewegungen provozierbar. Andere Krankheitsanzeichen der Drehkrankheit traten zu diesem Zeitpunkt nicht auf.

Bei Stamm *DtHa* wies am 58. Tag post infectionem zusätzlich zu dem Fisch mit der Schwarzverfärbung der kaudalen Körperdrittels ein weiterer Fisch die pathologischen Drehbewegungen auf. Die anderen Probanden verhielten sich bis zu diesem Zeitpunkt unauffällig, wie Tab. 13 verdeutlicht.

100 Tage nach Versuchsbeginn litten fünf der amerikanischstämmigen Fische an provozierbarem Drehverhalten und jeweils drei wiesen Deformationen im Schädel- bzw. Wirbelsäulenbereich sowie Dunkelverfärbung des Schwanzes auf.

**Infektionsdosis: 1.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

89 Tage nach der Infektion waren bei Stamm *DtHo* erstmals Merkmale der Drehkrankheit in Form von beginnender Schädeldeformation und Schwarzfärbung des Schwanzbereichs zu erkennen. Wie aus Tab. 13 ersichtlich, waren diese Symptome bis zum 100. Tag bei insgesamt vier Fischen zu beobachten (vier Probanden Deformation, einer zusätzlich Schwarzverfärbung).

Die Symptome der Drehkrankheit zeigten sich gut drei Monate nach Versuchsbeginn bei über 50% der *DtLh*-Forellen. So konnte bei 13 von 24 Fischen durch äußere Stimuli Drehverhalten ausgelöst werden, 18 wiesen die charakteristische Verfärbung des hinteren Körperdrittels auf. Insgesamt 20 Fische litten unter Kiemendeckelverkürzung oder Wirbelsäulenverkrümmung. Eine zwingende Koinzidenz der ersten beiden Symptome war nicht festzustellen, die Deformationen hingegen waren immer mit mindestens einem der beiden anderen Krankheitserscheinungen vergesellschaftet.

Erstmals in klinischer Ausprägung konnte die Drehkrankheit bei Stamm *DtHs* am 70. Tag nach erfolgter Infektion beobachtet werden. Am 100. Tag ließ sich bei fünf von 26 Forellen Drehverhalten provozieren, wie Tabelle 13 veranschaulicht; acht wiesen dunkle Verfärbungen der Kaudalpartie auf und bei zwei der erkrankten Forellen konnten zusätzlich die typischen Deformationen erkannt werden.

Die Inkubationszeit betrug bei Stamm *DtHa* 67 Tage. Nach 100 Tagen wiesen zwei Fische Drehverhalten und drei Fische Schwarzverfärbung der Kaudalpartie auf.

Über die Hälfte der amerikanischen Regenbogenforellen litten 100 Tage nach Sporenexposition adspektorisch erkennbar an der Drehkrankheit (siehe Tabelle 13). Auch hier gab es keine zwingende Koinzidenz der Symptome „pathologisches Drehverhalten“ (15 von 23 infizierten Fischen) und „Schwarzverfärbung“ (16 von 23 infizierten Fischen). Die Deformationen (20 von 23 infizierten Fischen) waren dagegen grundsätzlich mit einem der beiden anderen Symptome kombiniert.

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tabelle 13 zu entnehmen, drehten vier der 23 verbliebenen *DtHo*-Forellen am 100. Tag nach der Infektion mit *Myxobolus cerebralis*, einer wies Schwarzverfärbungen der hinteren Körperpartie auf und bei zehn der 23 Probanden waren deutliche Deformationen des Kopfes bzw. der Wirbelsäule zu erkennen.

Über 70% der Forellen des Stammes *DtLh* waren nach 100 Tagen erkennbar an der Drehkrankheit erkrankt: 18 von 23 fielen durch pathologisches Drehverhalten auf, 21 von 23 durch Dunkelfärbung der Schwanzpartie und 16 Fische litten unter Deformationen der Wirbelsäule bzw. des Schädels und der Kiemendeckel.

Über die Hälfte der Vertreter des Stammes *DtHs* waren nach 100 Tagen ins klinische Stadium der Drehkrankheit eingetreten: So konnten bei 14 von 25 rasche Drehbewegungen um eine senkrecht zum Körper erdachte Achse beobachtet werden, 17 wiesen Schwarzverfärbungen auf und vier Fünftel der Fische formbezogene Abweichungen der kranialen bzw. vertebralen Skelettanteile (siehe Tab. 13).

Je ein Viertel des mit 5.000 TAM/Fisch infizierten *DtHa*-Stamms war nach 100 Tagen klinisch an der Drehkrankheit in Form von pathologischem Drehverhalten bzw. schwarzer Färbung der Kaudalpartie erkrankt, vier von zwanzig zeigten zusätzlich Kiemendeckelverkürzung, den so genannten „Mopskopf“ oder Wirbelsäulenverkrümmungen in Form von Skoliose oder Lordose.

Unter den amerikanischen Regenbogenforellen konnten bei 18 von 23 Drehverhalten und bei je 20 Dunkelverfärbung des kaudalen Körperdrittels bzw. Deformationen beobachtet werden, wie Tabelle 13 verdeutlicht.

70 Tage nach Sporenexposition konnte bei einer Bachforelle pathologisches Drehverhalten provoziert werden. Von 22 am Tag 100 noch lebenden Bachforellen laborierten je drei 100 Tage nach erfolgter Infektion an diesem Kardinalsymptom der Drehkrankheit bzw. Deformationen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule.

**Tab. 13: Überblick über die beobachteten Symptome 100 Tage nach erfolgter Infektion.  
Sämtliche Versuche der ersten Infektion im Laborexperiment**

Infektionsdosis	Stamm	SYMPTOM		
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
10 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtLh</i>	0 (24)	0 (24)	0 (24)
	<i>DtHs</i>	0 (25)	0 (25)	0 (25)
	<i>DtHa</i>	0 (22)	0 (22)	0 (22)
	<i>AmTL</i>	0 (23)	1 (23)	0 (23)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
100 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (23)	0 (23)	0 (23)
	<i>DtLh</i>	3 (22)	1 (22)	3 (22)
	<i>DtHs</i>	2 (27)	0 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	1 (24)	1 (24)	0 (24)
	<i>AmTL</i>	5 (22)	3 (22)	3 (22)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
1000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	1 (22)	0 (22)	4 (22)
	<i>DtLh</i>	13 (24)	18 (24)	20 (24)
	<i>DtHs</i>	5 (26)	8 (26)	2 (26)
	<i>DtHa</i>	2 (20)	3 (20)	3 (20)
	<i>AmTL</i>	15 (22)	16 (22)	20 (22)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
5.000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	4 (23)	1 (23)	10 (23)
	<i>DtLh</i>	18 (23)	21 (23)	16 (23)
	<i>DtHs</i>	14 (25)	17 (25)	20 (25)
	<i>DtHa</i>	5 (20)	5 (20)	4 (20)
	<i>AmTL</i>	18 (23)	20 (23)	20 (23)
	Bachforelle	3 (22)	0 (22)	3 (22)

Ab dem 90. Tag post infectionem fielen insbesondere in den beiden höheren Infektionsgruppen (1.000 und 5.000 TAM/Fisch) aller Stämme der ersten Infektion einzelne Fische mit einer sich immer stärker entwickelnden Wachstumsretardierung auf (siehe Abbildung 11). Diese kümmernden und kachektischen Forellen hielten sich vornehmlich am Aquarienboden auf und litten häufiger und ausgeprägter an den Symptomen der Drehkrankheit sowie an Sekundärinfektionen. Sie waren

zeitweilig nicht in der Lage, eine senkrechte Körperhaltung aufrechtzuerhalten. Daneben fanden sich sehr große und schwere Tiere, die klinisch völlig gesund wirkten (siehe Abb. 12).



**Abb. 11: Eine Forelle des amerikanischen Stammes *AmTL*, 95 Tage p. inf.,  
Inf.-Dosis: 5.000 TAM/Fisch**



**Abb. 12: Ein Vertreter des deutschen Stammes *DtHo* am Tag 95 p. inf.,  
Inf.-Dosis: 5.000 TAM/Fisch**

### 3.1.1.3 Tag 150 post expositionem

#### **Infektionsdosis: 10 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tabelle 14 ersichtlich, verlief auch nach 150 Tagen Inkubationszeit die Infektion der drei Stämme *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* subklinisch.

Bei einer Regenbogenforelle des Stammes *DtLh* konnten durch Stressinduktion ab dem 108. Tag nach erfolgter Infektion schnelle Drehbewegungen provoziert werden.

Ein amerikanischer Proband der niedrigsten Infektionsdosis von 10 TAM/Fisch wies nach **102** Tagen das Symptom des pathologischen Drehverhaltens auf, ein weiterer hatte Schwarzverfärbung der kaudalen Körperpartie entwickelt (siehe Tabelle 14).

#### **Infektionsdosis: 100 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie Tabelle 14 verdeutlicht, konnte eine Infektion mit 100 TAM/Fisch bei den Regenbogenforellen des Stamms *DtHo* bis zum Versuchsende keine klinische Manifestation der Drehkrankheit auslösen.

Zwei von infizierten 23 *DtLh*-Regenbogenforellen zeigten das klinische Stadium der Drehkrankheit durch das Symptom „pathologisches Drehverhalten“, bei zwei Forellen war eine dunkle Färbung des Schwanzes zu erkennen. Diese drei Forellen litten zusätzlich unter Verformungen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule.

Bei *DtHs* konnten bei zwei Regenbogenforellen schnelle Drehbewegungen durch Erschrecken provoziert werden. Ein weiterer Fisch wies das Symptom der Schwarzverfärbung auf.

Die Forellen des Stammes *DtHa* hatten das als reversibel bekannte Symptom des Drehverhaltens vollständig zurückgebildet. Schwarzverfärbung war bei einem Fisch zu beobachten.

Acht der verbliebenen 22 amerikanischen Regenbogenforellen dieser Infektionsgruppe vollführten nach Erschrecken schnelle Drehbewegungen um eine zum Körper senkrecht stehende Achse (siehe Tabelle 14), fünf wiesen einen dunkel gefärbten letzten Körperabschnitt auf und bei insgesamt zehn bestanden formbezogene Abweichungen des Craniums und der Wirbelsäule.

**Infektionsdosis: 1.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Kurz vor Beendigung des Versuchs konnte bei einer Forelle des *DtHo*-Stammes pathologisches Drehverhalten beobachtet werden, Schwarzverfärbungen fielen nicht auf. Knapp die Hälfte der Probanden litt unter Verkürzung der Kiemendeckel.

Wie aus Tab. 14 zu entnehmen, waren sämtliche Regenbogenforellen des Stamms *DtLh* klinisch an der Drehkrankheit erkrankt. So zeigten alle die typischen Deformationen des Skelettsystems, zusätzlich zeigten 14 von verbliebenen 17 Probanden schnelles Drehen um eine senkrecht zum Körper stehende Achse, bei 15 waren Schwanzflosse und Lendenbereich dunkel eingefärbt.

150 Tage nach Versuchsbeginn konnte bei der Hälfte der Versuchstiere des Stamms *DtHs* Drehverhalten diagnostiziert werden, bei 14 von 22 war eine Schwarzverfärbung der Kaudalpartie zu erkennen und 20 Forellen litten an Deformationen von Kiemendeckel, Kopf und/oder Wirbelsäule.

Ein Viertel der mit 1.000 TAM/Fisch infizierten deutschen Regenbogenforellen des Stamms *DtHa* litten unter den formbezogenen Abweichungen von Kopf und Wirbelsäule, bei 15% bestand eine Schwarzfärbung des kaudalen Körperdrittels und 80% der Regenbogenforellen vollführten nach Erschrecken schnelle Drehbewegungen (siehe Tabelle 14).

Sämtliche Fische des amerikanischen Regenbogenforellenstamms *AmTL* wiesen Deformationen des Craniums bzw. der kaudalen Körperpartie sowie pathologisches Drehverhalten auf. Schwarzverfärbung des kaudalen Körperdrittels konnten bei 80% der infizierten Forellen beobachtet werden.

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tab. 14 zu entnehmen, gestaltete sich die Symptomausprägung bei Stamm *DtHo* der Drehkrankheit wie folgt: Vier von 20 Fischen litten unter pathologischem Drehverhalten, einer wies eine dunkle kaudale Körperpartie auf und zwölf der infizierten Forellen wiesen die typischen Deformationen auf.

20 von 22 verbliebenen Forellen des Stamms *DtLh* zeigten charakteristische formbezogene Abweichungen des Skelettsystems, 18 vollführten in Stresssituationen bzw. zu Fütterungszeiten schnelle Drehbewegungen und bei 21 war das Symptom "Schwarzverfärbung" ausgeprägt.

Wie Tabelle 14 zeigt, fielen 12 von 22 *DtHs*-Forellen durch pathologisches Schwimmverhalten auf, bei zehn Forellen war eine dunkle Färbung des Schwanzes zu erkennen. 20 Forellen litten zusätzlich unter Verformungen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule.

Bei sämtlichen *DtHa*-Forellen konnten schnelle Drehbewegungen provoziert werden, zwei von 20 wiesen Deformationen des Operculums auf und drei zeigten dunkle Verfärbungen der kaudalen Körperpartie (siehe Tabelle 14).

Über 70% der infizierten amerikanischen Forellen litten unter allen drei Kardinalsymptomen der Drehkrankheit. Die charakteristischen Schwarzverfärbungen sowie die Formabweichungen des Schädels waren bei über 80% der Fische zu erkennen.

Auch fünf Monate nach Infektion zeigte keine der Bachforellen Dunkelverfärbungen des letzten Körperdrittels. Drehbewegungen sowie Deformationen von Kiemendeckel, Cranium und/oder Deviationen der Wirbelsäule waren bei drei von 20 zu erkennen.

**Tab. 14: Überblick über die beobachteten Symptome 150 Tage nach erfolgter Infektion. Sämtliche Versuche der I. Infektion im Laborexperiment**

Inf.-Dosis	Stamm	SYMPTOM		
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
10 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (26)	0 (26)	0 (26)
	<i>DtLh</i>	1 (22)	0 (22)	0 (22)
	<i>DtHs</i>	0 (25)	0 (25)	0 (25)
	<i>DtHa</i>	0 (22)	0 (22)	0 (22)
	<i>AmTL</i>	1 (20)	1 (20)	0 (20)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
100 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	0 (20)	0 (20)	0 (20)
	<i>DtLh</i>	2 (22)	1 (22)	3 (22)
	<i>DtHs</i>	2 (27)	1 (27)	0 (27)
	<i>DtHa</i>	0 (22)	1 (22)	0 (22)
	<i>AmTL</i>	8 (22)	5 (22)	10 (22)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
1.000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	1 (21)	0 (21)	10 (21)
	<i>DtLh</i>	14 (17)	15 (17)	17 (17)
	<i>DtHs</i>	11 (22)	14 (22)	20 (22)
	<i>DtHa</i>	16 (20)	3 (20)	5 (20)
	<i>AmTL</i>	12 (12)	10 (12)	12 (12)
		Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
5.000 TAM/Fisch	<i>DtHo</i>	4 (20)	1 (20)	12 (20)
	<i>DtLh</i>	18 (22)	21 (22)	20 (22)
	<i>DtHs</i>	12 (23)	10 (23)	20 (23)
	<i>DtHa</i>	20 (20)	3 (20)	2 (20)
	<i>AmTL</i>	18 (20)	18 (20)	18 (20)
	Bachforelle	3 (20)	0 (20)	5 (20)

### 3.1.2 II. Infektionsversuch

#### 3.1.2.1 Tag 50 post expositionem

##### **Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tab. 15 zu entnehmen, konnten ab Tag **48** post infectionem erste Krankheitserscheinungen in Form von durch Erschrecken provozierbare Drehbewegungen bei einer Forelle des amerikanischen Stammes *AmTL* hervorgerufen werden, die beiden anderen Stämme waren klinisch unauffällig.

**Tab. 15: Überblick über die beobachteten Symptome 50 Tage nach erfolgter Infektion.**

#### **II. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	0 (19)	0 (19)	0 (19)
<i>DtHs</i>	0 (19)	0 (19)	0 (19)
<i>AmTL</i>	1 (19)	0 (19)	0 (19)

#### 3.1.2.2 Tag 100 post expositionem

##### **Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Ab dem 85. Tag post infectionem konnte bei einem Fisch des Stamms *DtHo* das Symptom der pathologischen Drehbewegungen beobachtet werden (siehe Tab. 16).

Nach **64** Tagen Inkubationszeit trat eine Forelle des deutschen Stamms *DtHs* in Form der charakteristischen, schnellen Drehbewegungen um eine senkrecht zum Körper gedachte Achse in das klinische Stadium der Drehkrankheit ein. Bis zum 100. Tag entwickelte sich dieses Symptom bei weiteren sieben Fischen, einer wies Schwarzverfärbungen der kaudalen Körperpartie auf und bei zwei der 16 verbliebenen Probanden hatten sich Verformungen des Kopfes bzw. der Wirbelsäule ausgeprägt.

Sieben von 15 amerikanischen Regenbogenforellen wiesen, wie Tabelle 16 zeigt, pathologisches Drehverhalten auf, ein Fisch hatte das Symptom der dunklen kaudalen Körperpartie entwickelt und drei Fische laborierten an Deformationen des Kiemendeckels.

**Tab. 16: Überblick über die beobachteten Symptome 100 Tage nach erfolgter Infektion.**

**II. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	1 (19)	0 (19)	0 (19)
<i>DtHs</i>	8 (16)	1 (16)	2 (16)
<i>AmTL</i>	7 (15)	1 (15)	3 (15)

3.1.2.3 Tag 150 post expositionem

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Während sich das Symptom der Drehbewegungen bei den Forellen des Stammes *DtHo* nicht mehr provozieren ließ (siehe Tab. 17), konnten bei drei Forellen charakteristische Verformungen der skelettalen Anteile von Kopf und Wirbelsäule verzeichnet werden.

Bei *DtHs* fanden sich die drei Kardinalsymptome der Drehkrankheit bei jeweils vier von verbliebenen 15 Fischen.

Wie aus Tabelle 17 zu erkennen, fielen sieben von 14 Regenbogenforellen des amerikanischen Stammes durch pathologisches Drehverhalten auf, bei vier Forellen konnte das Symptom der Schwärzung der Schwanzflosse und des Lendenbereichs verzeichnet werden und sechs Forellen zeigten „Mopskopf“ bzw. Kiemendeckelverkürzung oder Wirbelsäulendeformation.

**Tab. 17: Überblick über die beobachteten Symptome 150 Tage nach erfolgter Infektion.**

**II. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	0 (18)	0 (18)	3 (18)
<i>DtHs</i>	4 (15)	4 (15)	4 (15)
<i>AmTL</i>	7 (14)	4 (14)	6 (14)

3.1.3 III. Infektionsversuch

3.1.3.1 Tag 50 post expositionem

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Am Tag 50 nach der Sporenexposition der III. Infektion waren bei keinem Stamm Krankheitserscheinungen der Drehkrankheit zu erkennen (siehe Tab. 18).

**Tab. 18: Überblick über die beobachteten Symptome 50 Tage nach erfolgter Infektion.**

**III. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	0 (17)	0 (17)	0 (17)
<i>DtHs</i>	0 (16)	0 (16)	0 (16)
<i>AmTL</i>	0 (18)	0 (18)	0 (18)

3.1.3.2 Tag 100 post expositionem

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

100 Tage nach Sporenexposition konnten bei *DtHo*-Forellen keine klinischen Anzeichen der Drehkrankheit beobachtet werden.

70 Tage nach erfolgter Infektion begann sich das hintere Körperdrittel eines Probanden des Stamms *DtHs* schwarz zu verfärben. Tabelle 19 zeigt, dass bis zum 100. Tag noch ein weiterer Fisch pathologisches Drehverhalten entwickelte.

Die amerikanischen Regenbogenforellen zeigten erstmals 65 Tage nach Sporenexposition klinische Anzeichen der Drehkrankheit in Form schneller Drehbewegungen. Bis zum 100. Tag konnte bei einem weiteren Fisch eine Verkürzung der Kiemendeckel verzeichnet werden (siehe Tabelle 19).

**Tab. 19: Überblick über die beobachteten Symptome 100 Tage nach erfolgter Infektion.**

**III. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	0 (11)	0 (11)	0 (11)
<i>DtHs</i>	2 (16)	1 (16)	0 (16)
<i>AmTL</i>	2 (14)	0 (14)	1 (14)

3.1.3.3 Tag 150 post expositionem

**Infektionsdosis: 5.000 Triactinomyxon-Sporen pro Fisch**

Wie aus Tabelle 20 ersichtlich, konnte die Infektion mit 5.000 Sporen pro Fisch bei dem deutschen Stamm *DtHo* keine klinische Manifestation der Drehkrankheit bewirken.

Neben zwei Forellen des Stamms *DtHs*, von denen eine sowohl pathologisches Drehverhalten und eine Schwarzverfärbung des kaudalen Körperdrittels aufwies und die andere nur das erste Symptom ausgeprägt hatte, fiel eine weitere mit Deformationen der Wirbelsäule auf.

Drei von zehn verbliebenen amerikanischen Regenbogenforellen zeigten direkt vor Abschluss des Versuchs Drehverhalten, zwei wiesen Deformationen des Skelettsystems auf (siehe Tabelle 20).

**Tab. 20: Überblick über die beobachteten Symptome 150 Tage nach erfolgter Infektion.**

**III. Infektionsversuch des Laborexperiments**

Stamm	SYMPTOM		
	Drehverhalten	Schwarzverfärbung	Deformation
<i>DtHo</i>	0 (11)	0 (11)	0 (11)
<i>DtHs</i>	2 (15)	1 (15)	1 (15)
<i>AmTL</i>	3 (10)	0 (10)	2 (10)

3.2 FELDEXPERIMENT

Um die klinische Beobachtung der Probanden des Feldexperiments zu erleichtern, wurden jeweils 100 Forellen pro Stamm gefangen und in einen Plexiglasbehälter, der mit Teichwasser gefüllt war, gesetzt.

3.2.1 Tag 50 post expositionem

50 Tage nachdem die Forellenbrütlinge aus den sporenfreien Aufzuchtbecken in den Teich eingesetzt wurden, konnten bei fünf von 100 beobachteten Regenbogenforellen des Stamms *AmTL* Drehbewegungen provoziert werden. Andere Symptome der Drehkrankheit konnten nicht

beobachtet werden. Die anderen Stämme *DtHo*, *DtLh* und die Bachforellen wiesen keine Anzeichen einer Erkrankung auf.

### 3.2.2 Tag 100 post expositionem

Bei dem deutschen Stamm *DtHo* konnten 100 Tage nach Einsetzen durch Adspektion keine Anzeichen der Drehkrankheit beobachtet werden.

Am Tag 100 post expositionem war bei der Hälfte der 100 beobachteten *DtLh*-Forellen Drehverhalten auszulösen. Zu diesem Zeitpunkt fielen keine weiteren Symptome der Drehkrankheit auf.

80% der Probanden des amerikanischen Stamms zeigten pathologisches Schwimmverhalten. Auch hier konnten andere Symptome der Drehkrankheit nicht verzeichnet werden.

100 Tage nach Versuchsbeginn verlief die Infektion der Bachforelle mit *Myxobolus cerebralis* subklinisch.

### 3.2.3 Tag 120 post expositionem

Auch kurz vor Ende des Feldversuchs konnte keine klinische Manifestation der Drehkrankheit bei dem deutschen Stamm *DtHo* diagnostiziert werden.

Am 120. Tag zeigte sich die Infektion mit *Myxobolus cerebralis* bei 50% der *DtLh*-Forellen durch das Symptom der pathologischen Drehbewegungen um eine senkrecht zum Körper stehende Achse.

Vier Monate nach Aussetzen in den Teich wiesen 80% der beobachteten *AmTL*-Forellen pathologisches Schwimmverhalten auf. Andere Symptome der Drehkrankheit traten zu keinem Zeitpunkt auf.

Bei fünf von 100 beobachteten Bachforellen konnte durch Erschrecken das charakteristische Schwimmverhalten des klinisch an der Drehkrankheit erkrankten Fisches provoziert werden.

## 4. Post mortem-Untersuchungen

### 4.1 Gewicht und Größe

Aus jeder Gruppe wurden zehn bezüglich Krankheitsausprägung, Gewicht und Größe heterogene Probanden entnommen. Vor dem Töten wurden Gewicht und Größe der Fische erfasst und aus den erhaltenen Daten Mittelwert und Standardabweichung (SD) der einzelnen Gruppen errechnet.

Das Gewicht der Forellen bei Versuchsbeginn findet sich in den Tabellen 3 (I. Infektion), 4 (II. Infektion) und 5 (III. Infektion). Gewicht und Größe der Kontrollgruppen wurden nicht in den Vergleich der Infektionsgruppen einbezogen.

#### 4.1.1 LABOREXPERIMENT

##### 4.1.1.1 I. Infektionsversuch

Höchste Mittelwerte in Gewicht und Größe wurden bei Stamm *DtHo*, wie aus den Abbildungen 13 und 14 zu entnehmen, bei der Infektionsgruppe 1.000 TAM/Fisch gemessen.

Größte Abweichungen vom Mittelwert fanden sich bezüglich des Gewichts in der 1.000 TAM/Fisch-Infektionsgruppe, bezüglich der Größe in der 5.000 TAM/Fisch-Gruppe.

Der Stamm *DtLh* zeigte in der Infektionsgruppe 1.000 TAM/Fisch im Mittelwert und im Vergleich zu anderen Infektionsgruppen dieses Stammes die größten und schwersten Fische.

Die größte Standardabweichung fand sich jeweils in der mit 5.000 TAM/Fisch infizierten Gruppe.

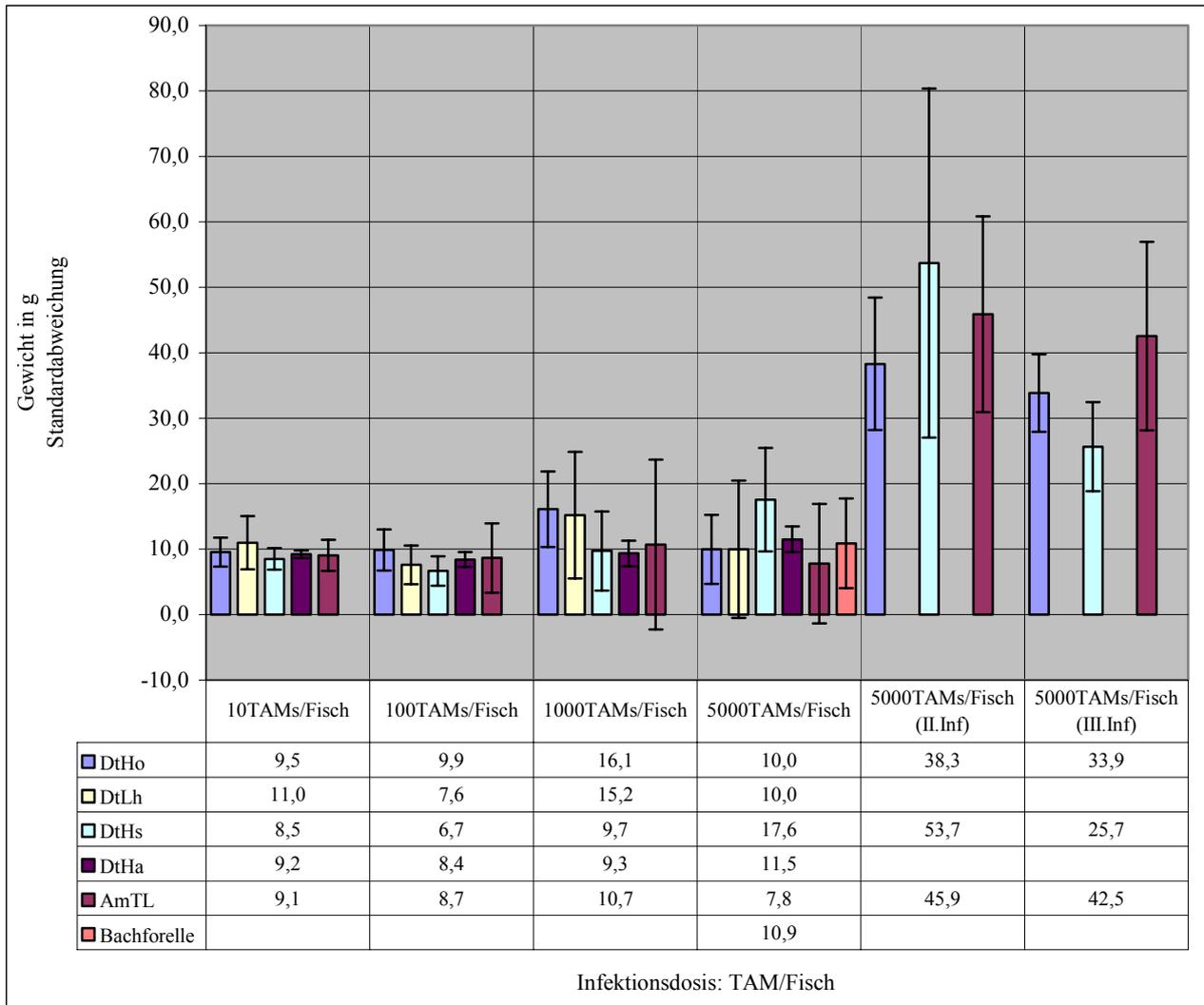
Bezüglich Gewicht und Größe waren bei dem deutschen Stamm *DtHs* jeweils die Forellen der 5.000 TAM/Fisch-Infektionsgruppe am weitesten entwickelt (siehe Abb. 13 und 14). Größte Standardabweichungen im Hinblick auf die Größenmessungen fanden sich in den beiden höchsten Infektionsdosen von 1.000 bzw. 5.000 TAM/Fisch, bezüglich der Gewichtsmessung in der 5.000 TAM/Fisch-Gruppe.

Wie aus den Abb. 13 und 14 ersichtlich, fanden sich die durchschnittlich schwersten und größten Regenbogenforellen des Stammes *DtHa* jeweilig in der mit 5.000 TAM/Fisch infizierten Gruppe.

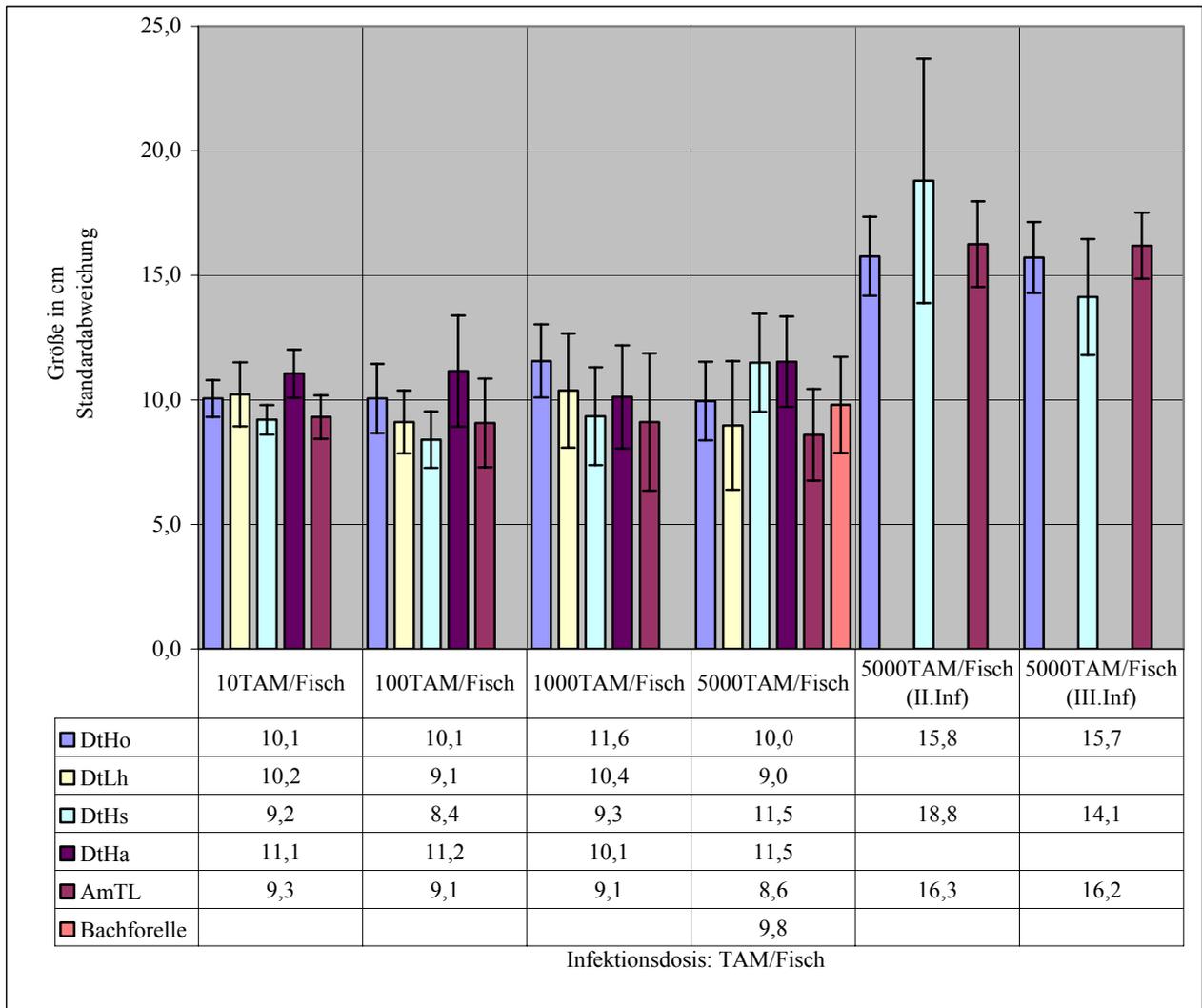
Höchste Abweichungen von der mittleren Größe bestanden in der mit 100 TAM/Fisch infizierten Einheit.

Bei den amerikanischen Regenbogenforellen wurden jeweils höchste Werte aller drei Parameter in der mit 1.000 Sporen/Fisch infizierten Gruppe gemessen (siehe Abb. 13 und 14).

Da die Bachforelle nur mit einer Infektionsdosis infiziert wurde, entfällt hier ein Vergleich einzelner Gruppen.



**Abb. 13: Mittleres Gewicht der einzelnen Stämme und Infektionsgruppen sowie die Standardabweichung vom Mittelwert; sämtliche Infektionsversuche des Laborexperiments**



**Abb. 14: Mittlere Größe der einzelnen Stämme und Infektionsgruppen sowie die Standardabweichung vom Mittelwert; sämtliche Infektionsversuche des Laborexperiments**

#### 4.1.1.2 II. und III. Infektionsversuch

Wie in Abb. 13 zu erkennen, betrug das durchschnittliche Gewicht der fünf Monate nach Infektion getöteten Regenbogenforellen des Stammes *DtHo* in der Gruppe der II. Infektion 38,3g (10,1 SD) und in der Gruppe der dritten Infektion 33,9g (5,9 SD). Die Probanden hatten eine durchschnittliche Körpergröße von 15,8cm (1,6 SD) in der II. bzw. 15,7cm (1,4 SD) in der III. Infektion (siehe Abb. 14).

Während die *DtHs*-Regenbogenforelle in der II. Infektion im Mittel 53,7g (26,7 SD) schwer und 18,8cm (4,9 SD) lang waren, betrug das Gewicht der Probanden des III. Infektionsversuchs 25,7g (6,8 SD) und die Länge 14,1cm (2,3 SD) (siehe Abb. 13 und 14).

Wie in Abb. 13 aufgezeigt, betrug das Gewicht der amerikanischen Regenbogenforelle nach Abschluss des II. Infektionsversuchs im Mittel 45,9g (14,9 SD), die Größe 16,3cm (1,7 SD) und nach dem III. Infektionsversuch 42,5g (14,4 SD) bzw. 16,2cm (1,33 SD) (siehe hierzu Abb. 14).

#### 4.1.2 FELDEXPERIMENT

Die Fische des Feldversuchs verendeten 120 Tage nach Versuchsbeginn, da nach einer Wiesenmaht in unmittelbarer Nähe des Teichs die Siebe der Kompartimente durch einfallendes Gras verstopft wurden und somit der Zulauf frischen sauerstoffreichen Wassers stark eingeschränkt wurde. Die Fische erstickten innerhalb eines Tages. Pro Stamm konnten jedoch mindestens 10 Forellenkadaver verwertet werden, welche jedoch aufgrund starker Autolyse lediglich für die Sporenauszählung nach der Digestionsmethode sowie für pathohistologische Erhebungen (knorpelige und knöcherne Strukturen waren erhalten) verwendbar waren. Die exakte Ermittlung von Gewicht und Größe konnten aufgrund der Autolyse besonders im Abdominalbereich nicht durchgeführt werden.

## 4.2 Infektionsprävalenz und Sporenauszählung mittels Digestionsmethode

Mittels Verdauungsmethode wurde die Anzahl der *Myxobolus cerebralis*-Sporen pro Kopf erfasst. Im Folgenden werden die einzelnen Stämme, die Infektionsprävalenz der einzelnen Gruppen und die Anzahl der Sporen pro Kopf aufgezeigt. In den Kontrollgruppen konnten keine Sporen detektiert werden.

### 4.2.1 LABOREXPERIMENT

#### 4.2.1.1 I. Infektionsversuch

##### 4.2.1.1.1 Stamm *DtHo*

##### Infektionsprävalenz

Bei *DtHo* konnten erst ab einer Infektionsdosis von 1.000 Sporen pro Fisch in jedem der untersuchten Kopfknochen *Myxobolus cerebralis*-Sporen identifiziert werden (siehe Tabelle 21). In der niedrigsten Infektionsgruppe von 10 TAM/Fisch fanden sich nach fünf Monaten bei zwei von 10 untersuchten Forellen Parasitenstadien. In der Gruppe, die mit 100 Sporen pro Fisch infiziert worden war, konnten bei sechs von 10 Forellen reife *Myxobolus cerebralis*-Sporen detektiert werden.

**Tab.21: Überblick über die Infektionsprävalenz; Stamm *DtHo***

INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
10	10	2
100	10	6
1.000	10	10
5.000	10	10

##### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf bei steigender Infektionsdosis

Wie aus Abb. 15 ersichtlich, verlief die Entwicklung der *Myxobolus cerebralis*-Sporen nicht linear zu der Infektionsdosis. So entwickelten sich im Knochen der mit 10 TAM/Fisch infizierten Regenbogenforellen durchschnittlich 92,5 *Myxobolus cerebralis*-Sporen pro einzelner TAM, in der

nächsthöheren Dosis 41,7 *Myxobolus cerebralis*-Sporen, in der Gruppe der mit 1.000TAM/Fisch infizierten Forellen knapp 12 und in der höchsten Infektionsdosis aus einer TAM durchschnittlich 3,3 reife *Myxobolus cerebralis*-Sporen.

#### 4.2.1.1.2 Stamm *DtLh*

##### Infektionsprävalenz

Der deutsche Stamm *DtLh* wies ab einer Infektionskonzentration von 100TAM/Fisch eine Infektionsprävalenz von 100% auf. In der niedrigsten Infektionsdosis (10TAM/Fisch) waren, wie in Tabelle 22 zu sehen, acht von zehn untersuchten Regenbogenforellen *Myxobolus cerebralis* positiv.

**Tab. 22: Überblick über die Infektionsprävalenz; Stamm *DtLh***

INFEKTIONS- DOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
10	10	8
100	10	10
1.000	10	10
5.000	10	10

##### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf bei steigender Infektionsdosis

Die Regenbogenforellen, die mit 10 TAM/Fisch infiziert worden waren, entwickelten durchschnittlich 6.163 Sporen pro Kopf, und die 100 TAM/Fisch-Gruppe 33.194. Bei *DtLh* entwickelten sich die meisten Parasitenstadien bei der zweithöchsten Infektionsdosis. So entstanden aus einer Triactinomyxonspore durchschnittlich 78,5 *Myxobolus cerebralis*-Sporen in der Infektionsgruppe 1.000 TAM/Fisch, knapp 14 in der Infektionsgruppe 5.000 TAM/Fisch (siehe Abb. 15).

#### 4.2.1.1.3 Stamm *DtHs*

##### Infektionsprävalenz

Tabelle 23 ist zu entnehmen, dass eine Infektionsdosis von 10TAM/Fisch eine Infektionsprävalenz von 50% und eine Infektionsdosis von 100 TAM eine 90% Infektionsprävalenz bewirkte. Bei höherem Infektionsdruck (1.000 bzw. 5.000 TAM/Fisch) vermochte sich der Parasit in 100% der Probanden zu etablieren.

**Tab. 23: Überblick über die Infektionsprävalenz; Stamm *DtHs***

INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
10	10	5
100	10	9
1.000	10	10
5.000	10	10

##### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf bei steigender

##### Infektionsdosis

In der niedrigsten Infektionsdosis von 10 TAM/Fisch wurden im Mittel pro Kopf 794 *Myxobolus cerebralis*-Sporen gefunden und in der nächsthöheren Infektionsgruppe entstanden aus 1 TAM durchschnittlich 42,9 Sporen (siehe Abb. 15). Während sich im Mittel 22,5 *Myxobolus cerebralis*-Sporen aus einer Triactinomyxonspore bei einer Infektionsdosis von 1.000 TAM/Fisch zu entwickeln vermochten, konnten sich bei der 5.000 TAM-Infektionsgruppe die Triactinomyxon-Sporen knapp verdreifachen.

#### 4.2.1.1.4 Stamm *DtHa*

##### Infektionsprävalenz

Die Infektionsprävalenz betrug, wie aus Tabelle 24 zu entnehmen, bei der Infektion der *DtHa*-Regenbogenforelle 60% in der 10 TAM/Fisch-Gruppe, 70% in der mit 100 TAM/Fisch infizierten Gruppe und jeweils 100% in den beiden höchsten Infektionsgruppen.

**Tab. 24 Übersicht über die Infektionsprävalenz; Stamm *DtHa***

INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
10	10	6
100	10	7
1.000	10	10
5.000	10	10

Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf bei steigender Infektionsdosis

Die Gruppe der mit 10 Sporen/Kopf infizierten Fische entwickelte durchschnittlich 1.018 *Myxobolus cerebralis*-Sporen, die 100 Triactinomyxon-Sporen-Gruppe im Mittel 1.156 reife Sporen, wie Abb. 15 veranschaulicht darstellt. Fünf Monate nach Versuchsbeginn waren Sporenkonzentrationen von Ø 24.513 *Myxobolus cerebralis*-Sporen/Kopf in der in 1.000 TAM/Fisch exponierten Forellengruppe zu finden. Aus einer TAM der Forellen der höchsten Infektionsdosis entwickelten sich im Mittel 4,4 *Myxobolus cerebralis*-Sporen.

#### 4.2.1.1.5 Stamm *AmTL*

Infektionsprävalenz

Wie aus Tabelle 25 zu entnehmen, waren neun von 10 der mit 10 TAM/Fisch infizierten Regenbogenforellen des amerikanischen Stamms *AmTL Myxobolus cerebralis*-positiv. Ab einer Infektionsdosis von 100TAM/Fisch bestand eine 100% Infektionsprävalenz.

**Tab. 25: Übersicht über die Infektionsprävalenz; Stamm *AmTL***

INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
10	10	9
100	10	10
1.000	10	10
5.000	10	10

Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf bei steigender Infektionsdosis

Bei den amerikanischen Regenbogenforellen gestaltete sich die Entwicklung des Parasiten im Knorpel wie folgt: Die mit 10 TAM Sporen pro Fisch infizierten Forellen entwickelten durchschnittlich 4591 *Myxobolus cerebralis* Sporen, bei einer Infektionsdosis von 100 TAM/Fisch entstanden pro Kopf im Mittel 79347 Sporen. Durchschnittlich 296573 *Myxobolus cerebralis* Sporen entwickelten sich im Knorpel eines mit 1.000 TAM infizierten Fisches- und aus einer TAM der mit 5.000 Sporen infizierten Forellen reiften, wie aus Abb. 15 zu errechnen, 62,2 Sporen (dies entspricht einer durchschnittlichen Gesamtzahl von 311350 Sporen).

4.2.1.1.6 Bachforelle

Infektionsprävalenz

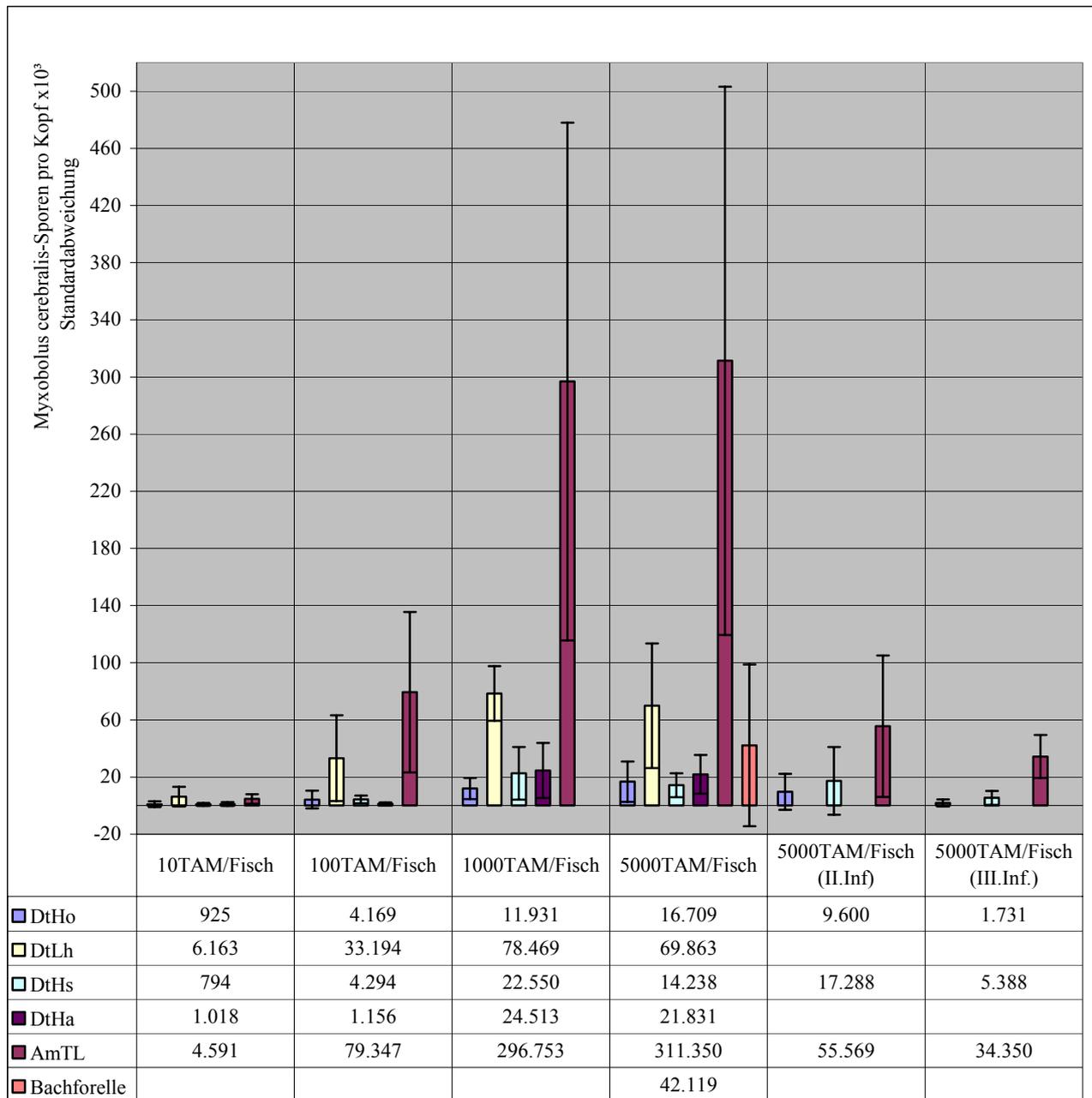
In neun der zehn untersuchten Bachforellen konnten Sporen von *Myxobolus cerebralis* detektiert werden (Siehe Tabelle 26).

**Tab.: 26 Übersicht über die Infektionsprävalenz, Bachforelle**

INFEKTIONSDOSIS: TAM/FISCH	ANZAHL UNTERSUCHTER FISCHE	ANZAHL INFIZIERTER FISCHE
5.000	10	9

Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf bei 5.000 TAM/Kopf

Die Auszählung der Sporen ergab, wie aus Abb. 15 zu entnehmen, eine mittlere *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf von 42119.



**Abb.15: Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf nach der Verdauungsmethode bei steigender Infektionsdosis, alle Stämme. Mittelwert aller gezählten Werte. Schwarze Linien: Standardabweichung.**

#### 4.2.1.2 II. & III. Infektionsversuch

##### 4.2.1.2.1 Stamm *DtHo*

###### Infektionsprävalenz:

In der II. Infektion wiesen zehn von zehn untersuchten Forellen *Myxobolus cerebralis*-Sporen im Kopfknochen auf, in der III. Infektion konnten bei sieben von zehn untersuchten reife Parasitenstadien detektiert werden.

###### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf bei 5.000 TAM/Kopf

Während in der I. Infektion aus 5.000 TAM pro Fisch durchschnittlich 16709 *Myxobolus cerebralis* Sporen entstanden, konnten in der II. noch 9600 und in der III. 1731 gezählt werden. Somit verringerte sich die Sporenanzahl in der II. Infektion um 42,5% und in der III. um 89,6% bezogen auf die Sporenanzahl der ersten Infektion (Siehe Abb. 16).

##### 4.2.1.2.2 Stamm *DtHs*

###### Infektionsprävalenz

Von zehn untersuchten Regenbogenforelle des Stammes *DtHs* erwiesen sich in der II. Infektion acht und in der III. Infektion zehn als mit *Myxobolus cerebralis* infiziert.

###### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf bei 5.000 TAM/Kopf

Bezogen auf die erste Infektion (14237 *Myxobolus cerebralis* Sporen/Kopf) konnten bei der II. Infektion 21,4% mehr Sporen, nämlich 17283,5 pro Kopf gezählt werden (Siehe Abb. 16). In der III. Infektion fiel die Anzahl der Sporen um 62,16% auf durchschnittlich 5387,5 gezählte Sporen, wiederum bezogen auf die I. Infektion, ab.

4.2.1.2.3 Stamm *AmTL*

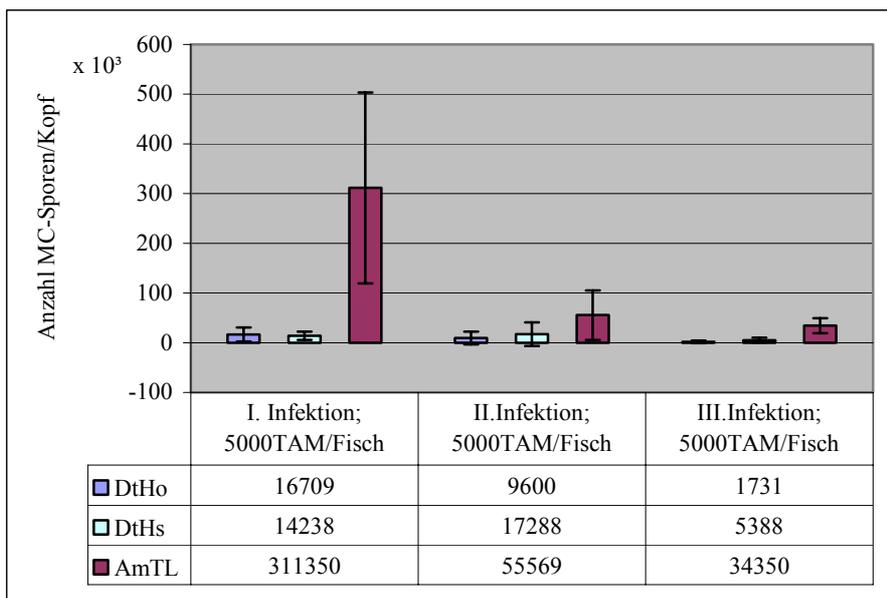
Infektionsprävalenz

Sowohl in der II. als auch in der III. Infektion wiesen die amerikanischen Regenbogenforellen eine Infektionsprävalenz von 100% auf.

Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf bei 5.000 TAM/Kopf

Wie aus Abbildung 16 ersichtlich, betrug die Anzahl reifer *Myxobolus cerebralis* Sporen in der I. Infektion 311350, in der II. 55569 und in der III. 34350 Sporen pro Kopf. Dies entspricht einer Abnahme um 82,2% bzw. 88,9%, jeweils bezogen auf die erste Infektion.

Um die Größenordnung der Abnahme der Sporendichte in der II. und III. Infektion zu veranschaulichen, wurden die mittleren Sporenkonzentrationen der drei Stämme, welche bei allen drei Infektionsversuchen verwendet wurden, an dieser Stelle nochmals in Abb. 16 veranschaulicht dargestellt.



**Abb. 16: Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf nach der Verdauungsmethode bei 5000 TAM/Fisch Infektionsdosis; alle drei Infektionsversuche des Laborexperiments. Mittelwert aller gezählten Werte sowie dessen Standardabweichung.**

## 4.2.2 FELDEXPERIMENT

### 4.2.2.1 Stamm *DtHo*

#### Infektionsprävalenz

Keine der zehn untersuchten *DtHo*-Regenbogenforellen des Feldversuchs erwies sich als mit der Drehkrankheit infiziert.

#### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf

Wie aus Abb. 17 zu entnehmen, konnten mittels der Verdauungsmethode in den Regenbogenforellen des Stammes *DtHo* keine Parasitenstadien nachgewiesen werden.

### 4.2.2.2 Stamm *DtLh*

#### Infektionsprävalenz

Die Infektionsprävalenz der *DtLh*-Forellen betrug im Feldversuch 50%.

#### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf

Die durchschnittliche *Myxobolus cerebralis* Konzentration der *DtLh* Forellen betrug 1514 Sporen pro Kopf (Siehe Abb. 17).

### 4.2.2.3 Stamm *AmTL*

#### Infektionsprävalenz

Bei vier von 10 untersuchten amerikanischen Regenbogenforellen konnten *Myxobolus cerebralis* Sporen detektiert werden.

#### Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf

Die Erfassung der Sporenkonzentration mittels Digestionsmethode ergab, wie Abbildung 17 verdeutlicht, eine durchschnittliche Sporenanzahl von 4331 Sporen pro Kopf.

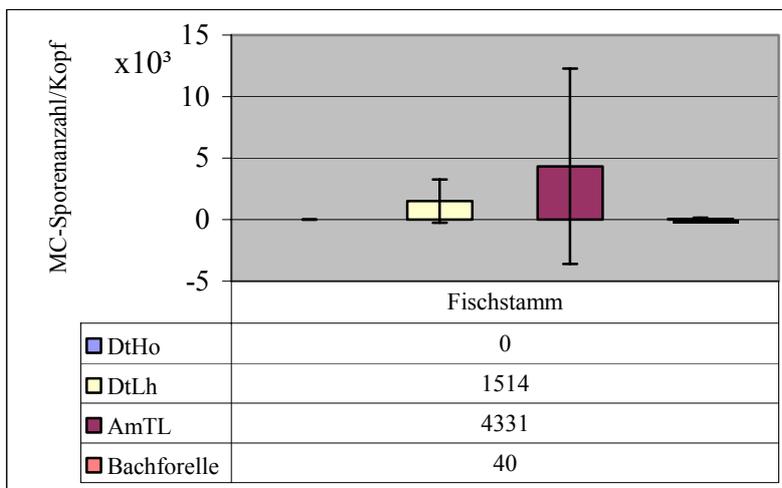
4.2.2.4 Bachforelle

Infektionsprävalenz

Eine von 10 untersuchten Bachforellen wies bei der Untersuchung des Knorpels reife Parasitenstadien auf.

Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis* Sporenkonzentration pro Kopf

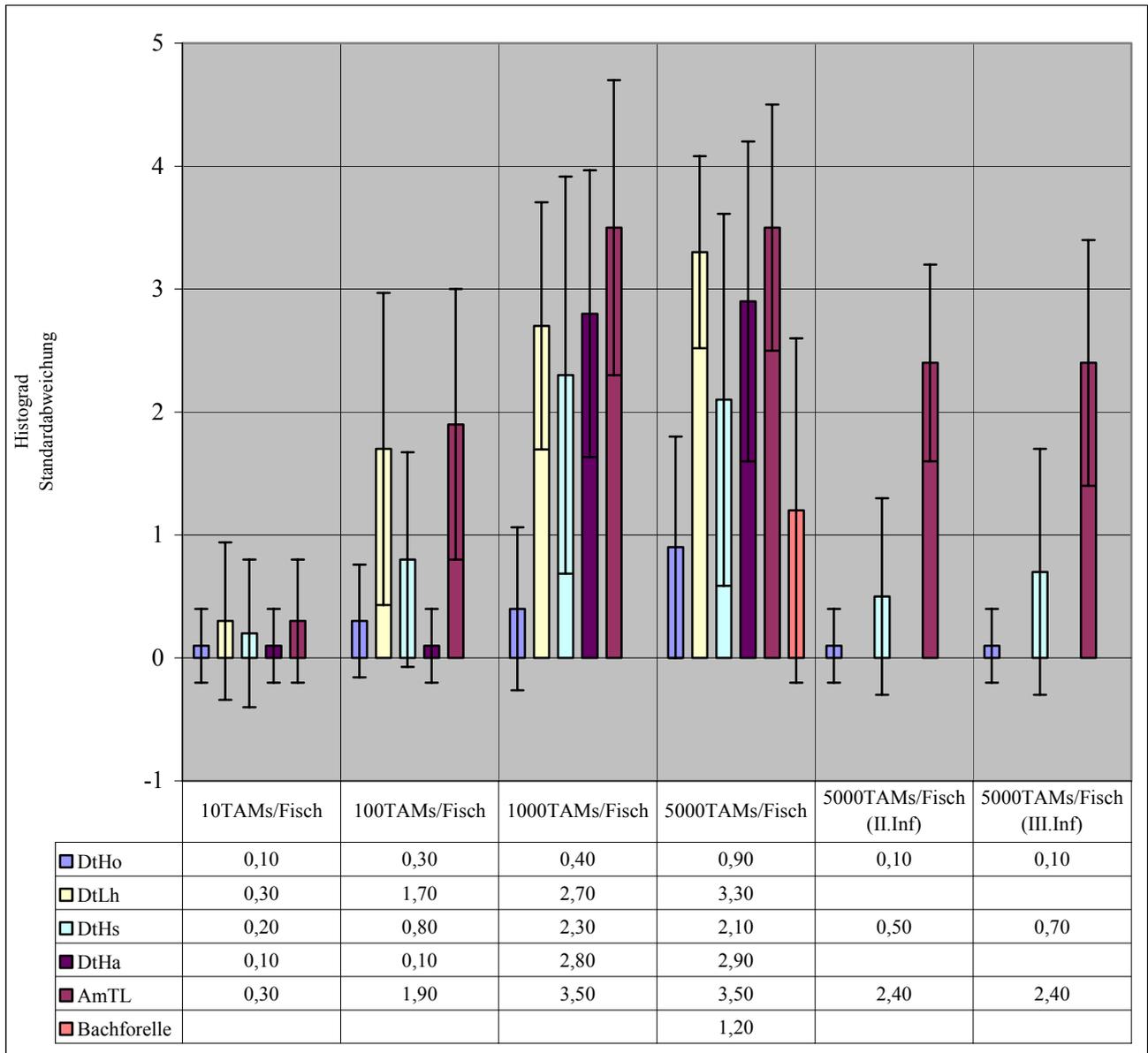
Im Mittel wurden 40 Sporen pro Kopf ausgezählt (Siehe Abb. 17).



**Abb. 17: Quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration pro Kopf nach der Verdauungsmethode, alle Stämme des Feldversuchs. Mittelwert aller gezählten Werte sowie dessen Standardabweichung**

### 4.3 Pathohistologische Erhebungen

Die pathohistologische Beurteilung der Wirtsreaktion vollzog sich nach dem MacCONNELL-BALDWIN Numerical Scale. Die Mittelwerte der erhaltenen Histograde ( $^{\circ}H$ ) von jeweils 10 Fischen pro Infektionsgruppe und Stamm sind in Diagrammform in Abbildung 18 dargestellt. Im weiteren Verlauf werden die einzelnen Stämme bezüglich dieses Parameters vorgestellt und gruppenrepräsentative lichtmikroskopische Aufnahmen photographisch abgebildet.



**Abb. 18: Überblick über die histopathologische Bewertung mittels MacCONNELL-BALDWIN Numerical Scale einzelner Infektionsgruppen; sämtliche Infektionsversuche des Laborexperiments. Mittelwerte aller gezählten Werte sowie deren Standardabweichungen**

---

#### 4.3.1 LABOREXPERIMENT

##### 4.3.1.1 I. Infektionsversuch

###### 4.3.1.1.1 Stamm *DtHo*

**Infektionsdosis: 10 TAM/Fisch; 0,1°H**

Die histologisch untersuchten Knorpelstrukturen zeigten bei neun von zehn untersuchten Forellen des Stamms *DtHo* keine pathologischen Veränderungen. Die Knorpelarchitektur war erhalten. In einem Fall fanden sich kleine unauffällige Herde der parasitenbedingten Knorpeldegeneration. Leukozyten waren nicht assoziiert.

**Infektionsdosis: 100 TAM/Fisch; 0,3°H**

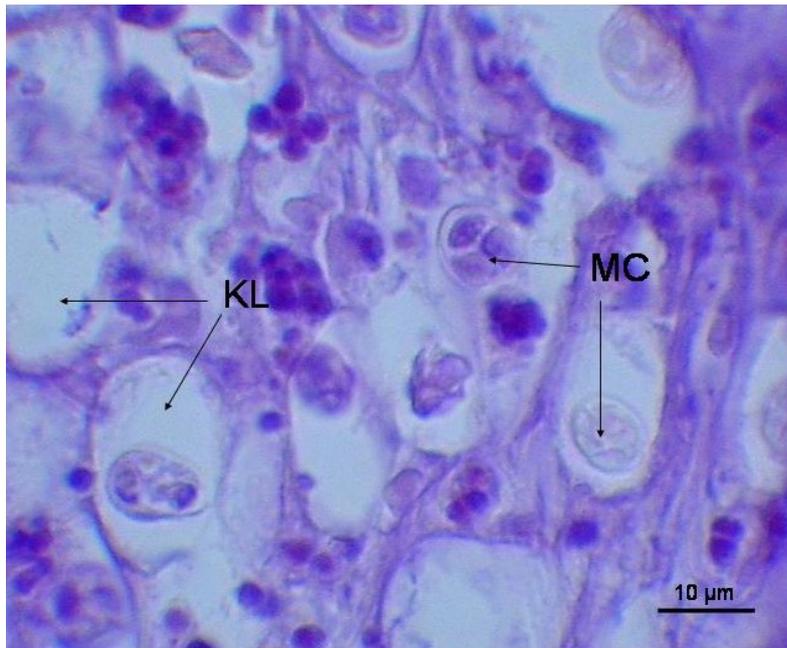
Drei der untersuchten zehn mit 100 TAM/Kopf infizierten Regenbogenforellen zeigten je einen bzw. wenige Herde der Knorpeldegeneration. Leukozyten konnten nicht detektiert werden.

**Infektionsdosis: 1.000 TAM/Fisch; 0,4°H**

Ebenfalls drei der mit 1.000 Sporen infizierten Regenbogenforellen wiesen fünf Monate nach der Infektion leichte Knorpelläsionen in Form von blasiger Degeneration auf (Siehe Abb. 19). Bei einem dieser Probanden waren darüber hinaus wenige Leukozyten und beginnende Nekrotisierung in der Nachbarschaft der Knorpeldeformation anzutreffen.

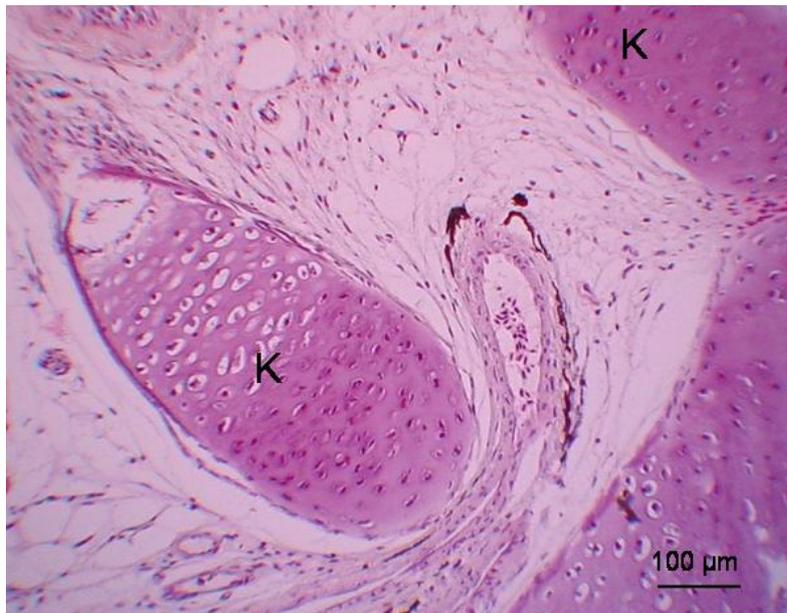
**Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch; 0,9°H**

Die Hälfte der untersuchten Probanden zeigte histopathologische Veränderungen. Wie in Abb. 21 und 22 zu erkennen, wiesen vier von ihnen neben kleinen Zonen der zerstörten Knorpelarchitektur auch umsäumende Entzündungszellen auf, bei einer Forelle fand sich ein Herd der Knorpeldegeneration ohne Leukozytenassoziation. Die andere Hälfte der untersuchten Regenbogenforellen zeigte keine durch *Myxobolus cerebralis* verursachten Veränderungen (Siehe Abbildung 20).



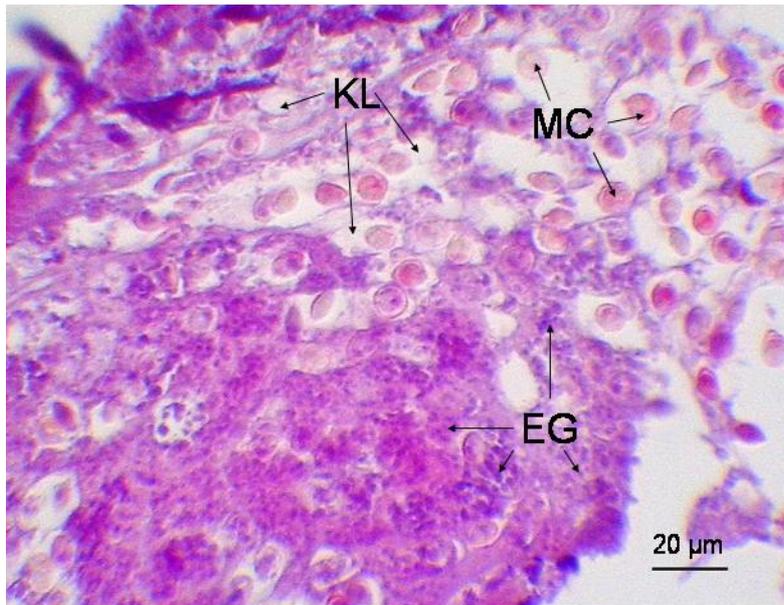
**Abb. 19: Stamm *DtHo*; 1.000 TAM/Fisch; °H=2; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) liegen in durch Lysis entstandenen Knorpellakunen (KL) vor.



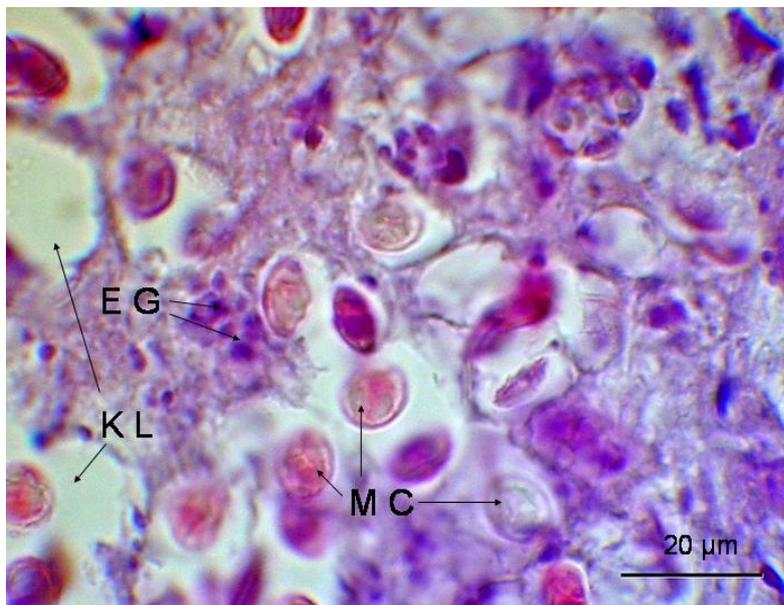
**Abb. 20: Stamm *DtHo*; 5.000 TAM/Fisch; °H=0; HE-Färbung**

Übersichtsaufnahme über erhaltene Knorpelarchitektur (K). Keine parasitenbedingten histopathologischen Veränderungen erkennbar.



**Abb. 21: Stamm DtHo; 5.000 TAM/Fisch; °H=2; HE-Färbung**

Schnitt durch ein Granulom. Ansammlung von *Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) in blasig degeneriertem Knorpelmaterial (KL), umgeben von massenhaft Granulozyten (EG).



**Abb. 22: Stamm DtHo; 5.000 TAM/Fisch; °H=2; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) in Knorpellakunen (KL), mit wenig Granulozytenbeteiligung (EG).

#### 4.3.1.1.2 Stamm *DtLh*

##### **Infektionsdosis: 10 TAM/Fisch; 0,3°H**

Bei acht der untersuchten zehn *DtLh*-Forellen dieser Infektionsgruppe konnten keine durch *Myxobolus cerebralis* hervorgerufenen histopathologischen Veränderungen detektiert werden. Eine Forelle zeigte einzelne kleinere Herde der Knorpeldegeneration. Das Entzündungsgeschehen beschränkte sich auf die unmittelbare Umgebung dieser pathologischen Veränderungen. Ein weiterer Proband zeigte mikroskopisch kleine Knorpelschäden ohne Leukozytenbeteiligung.

##### **Infektionsdosis: 100 TAM/Fisch; 1,7°H**

Vier mit 100 TAM/Fisch infizierten *DtLh*-Regenbogenforellen wiesen nach fünf Monaten multifokale Herde der Knorpeldegeneration- bzw. Auflösung auf, umsäumt mit einem das umliegende Gewebe infiltrierenden Entzündungsgeschehen. Bei zwei weiteren Probanden waren nur kleine bzw. einzelne Herde zerstörter Knorpelarchitektur mit Leukozytenassoziation zu entdecken. Eine Regenbogenforelle wies keine Entzündungszellen in der Nähe der Knorpeldegeneration auf und bei den verbleibenden drei Forellen konnten keine durch *Myxobolus cerebralis* verursachten Schädigungen des Gewebes diagnostiziert werden.

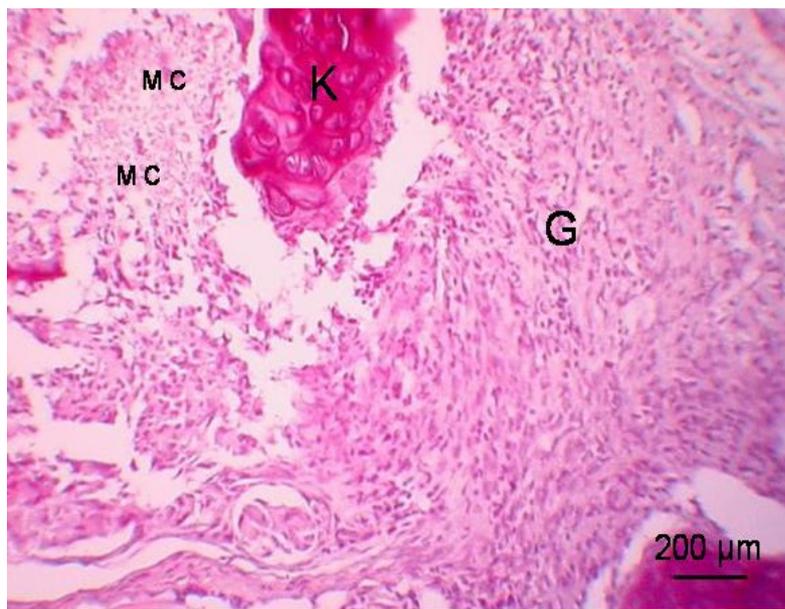
##### **Infektionsdosis: 1.000 TAM/Fisch; 2,7°H**

Knorpeldegeneration mit nur geringer Ausdehnung und ohne einhergehendes Entzündungsgeschehen fand sich in dieser Infektionsgruppe bei einem Fisch, zweimal konnten zerstörte Knorpelarchitektur ähnlichen Ausmaßes, jedoch mit Leukozyten, detektiert werden, in fünf Fällen verursachte die Infektion mehrere Herde der Nekrose und Knorpeldegeneration vergesellschaftet mit Leukozytenansammlungen, die sich ins umliegende Gewebe ausdehnten. Bei einem weiteren Probanden konnten mehrere zusammenfließende Herde der Knorpelnekrose mit ausgedehnten Entzündungsreaktionen beobachtet werden. Die normalanatomische Knorpelarchitektur war großteils verloren.

##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch; 3,3°H**

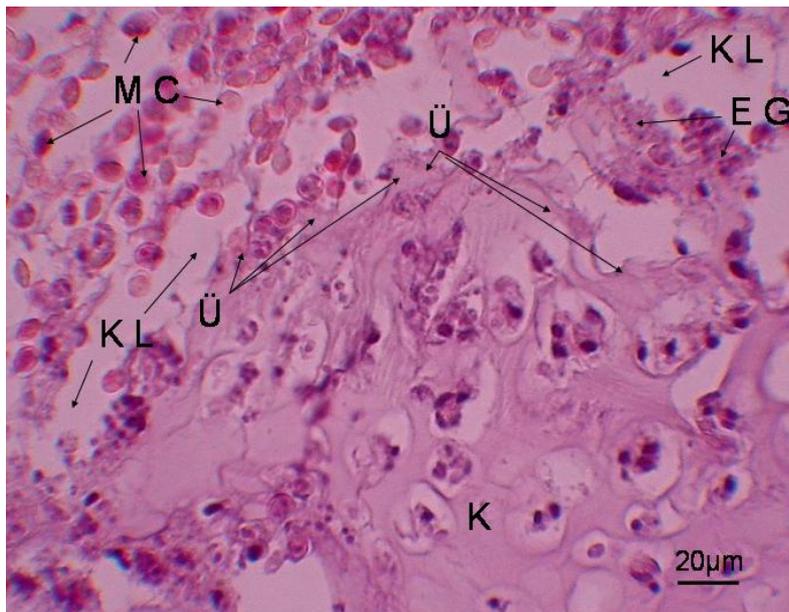
Sämtliche der mit 5.000 TAM infizierten Regenbogenforellen zeigten mindestens einen lokal begrenzten Herd der Knorpeldegeneration und Nekrose. Auch innerhalb dieser Konzentration

konnten noch in ihrer physiologischen Struktur erhaltene Knorpelbereiche detektiert werden (Abb.24). Bei jedem der Probanden fanden sich mit dieser Nekrose vergesellschaftete Granulome (Siehe Abb. 23, (G)), kleinere Ansammlungen von Parasitenstadien lagen ohne Immunantwort vor (Abb. 25). In sechs Fällen dehnten sich die Leukozyten ins umliegende Gewebe aus, zweimal bestanden mehrere zusammenfließende Bereiche der Knorpelnekrose mit zahlreichen, den lytischen Knorpel infiltrierende Leukozyten, wie Abb. 23 veranschaulicht. Einer der infizierten Fische zeichnete sich durch den kompletten Verlust der physiologischen Knorpelstrukturen aus.



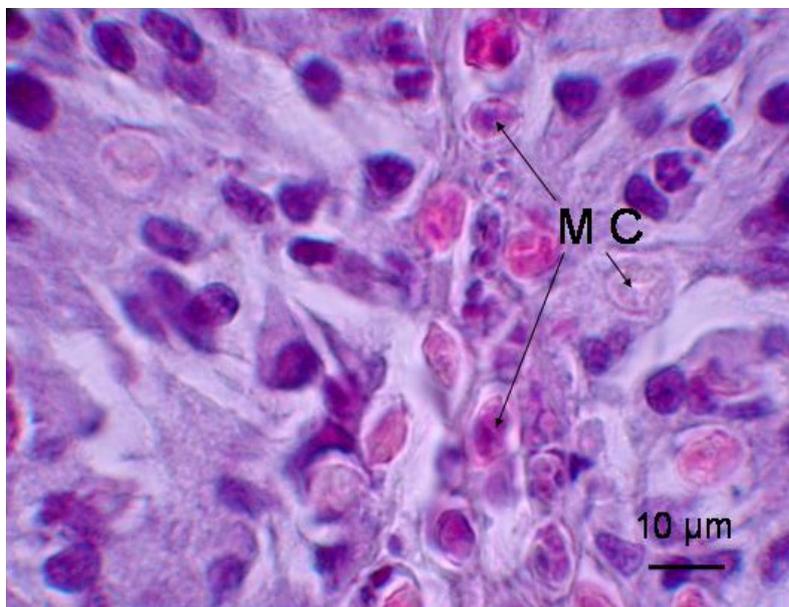
**Abb. 23: Stamm *DtLh*; 5.000 TAM/Fisch; °H=4; HE-Färbung**

Durch Granulom verdrängte und zerstörte Knorpelarchitektur.  
Rudimentärer Knorpelrest (K) in seiner ursprünglichen Struktur erhalten  
Zusammenfließende Herde der Knorpelnekrose. Granulome (G) mit  
*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) durchsetzt.



**Abb. 24: Stamm *DtLh*; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

Übergangszone (Ü) zwischen erhaltener Knorpelstruktur und Bereiche der Knorpellyse (KL). In den Lakunen des zerstörten Stützgewebes finden sich zahlreiche *Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) bzw. eosinophile Granulozyten (EG).



**Abb. 25: Stamm *DtLh*; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

Reife Parasitenstadien (MC) liegen in Knochengewebe vor.

#### 4.3.1.1.3 Stamm *DtHs*

##### **Infektionsdosis: 10 TAM/Fisch; 0,2 °H**

Hier fand sich in einem Fall ein einzelner Herd der Knorpeldegeneration mit Nekrose. Das Entzündungsgeschehen war ausschließlich in unmittelbarer Nachbarschaft der veränderten Stelle zu finden.

##### **Infektionsdosis: 100 TAM/Fisch; 0,8°H**

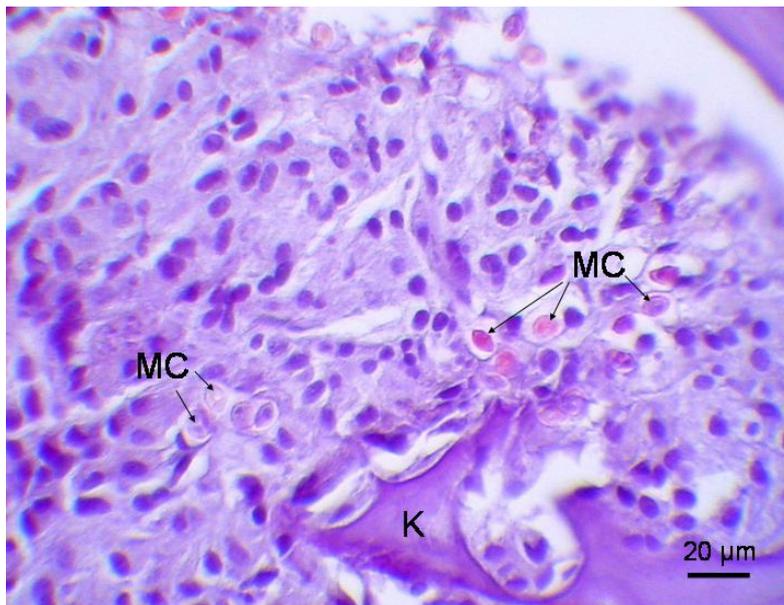
Einer der Probanden zeigte eine Stelle leichter Knorpeldegeneration ohne Leukozytenbeteiligung, bei drei weiteren fanden sich Veränderungen mit vergleichbar geringer räumlicher Ausdehnung und einer gemäßigten Anzahl Leukozyten.

##### **Infektionsdosis: 1.000 TAM/Fisch; 2,3°H**

Eine Infektion der *DtHs*-Regenbogenforellen mit je 1.000 TAM konnte bei drei von zehn untersuchten Probanden keine pathologischen Veränderungen hervorrufen. Eine Forelle hatte einen kleinen Focus nekrotischen Knorpels mit wenigen Entzündungszellen entwickelt, drei weitere zeigten ausgedehntere Bereiche pathologischer Veränderungen der erwähnten Art. Bei anderen drei infiltrierten die assoziierten Granulozyten weiträumig umliegendes Gewebe.

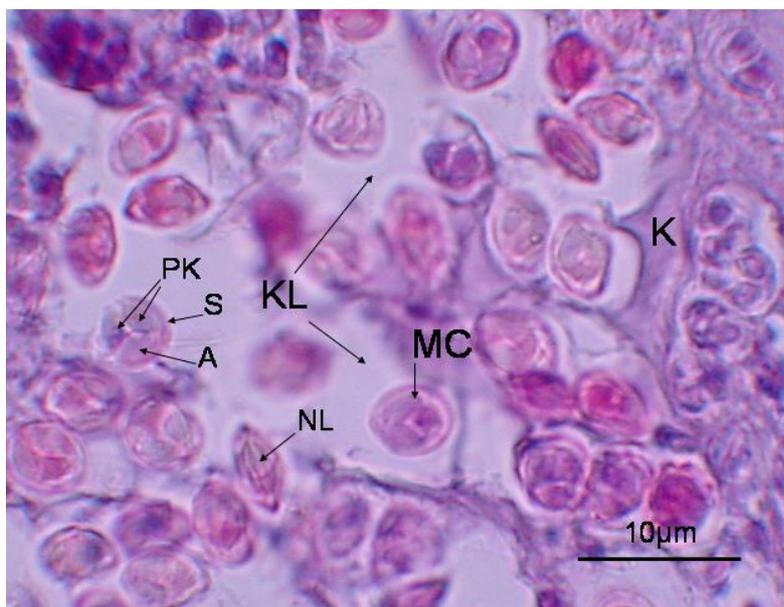
##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch; 2,1°H**

Auch eine Infektionsdosis von 5.000 TAM/Fisch vermochte bei drei der zehn untersuchten Regenbogenforellen des Stamms *DtHs* keine deutlich erkennbaren Wirtsreaktionen (Siehe Abb.26) hervorzurufen. In zwei Fällen konnten neben kleinen Herden der Knorpeldegeneration (Siehe Abb. 27) teilweise auch umsäumende Granulozyten detektiert werden. Bei drei weiteren Versuchstieren drangen diese Entzündungszellen, wie Abb. 28 zeigt, in umliegendes Gewebe ein und vier der untersuchten Regenbogenforellen zeigten mehrere, ausgedehnte und teilweise konfluierende Bereiche der beschriebenen Art mit massenhafter Granulozyteninfiltration (Siehe Abb. 29).



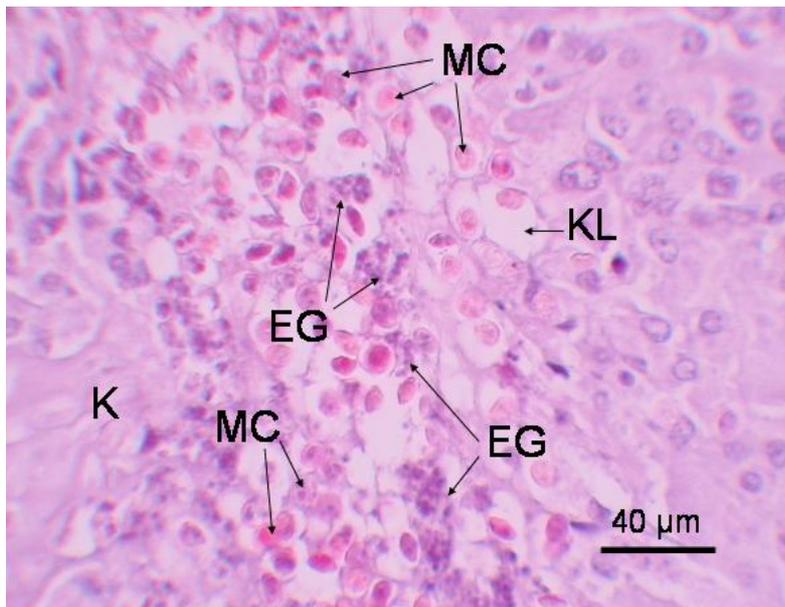
**Abb. 26: Stamm *DtHs*; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

Neben erhaltener Knorpelarchitektur (K) finden sich Sporen von *Myxobolus cerebralis* (MC).



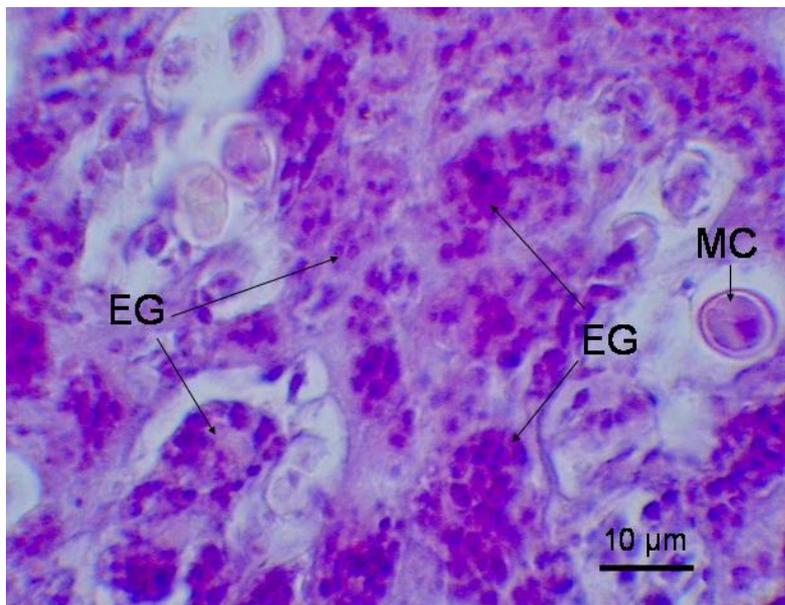
**Abb. 27: Stamm *DtHs*; 5.000 TAM/Fisch; °H=2; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis* Sporen (MC) lysieren den umliegenden Knorpel (K) und verursachen so das Bild einer blasigen Degeneration. An einer *Myxobolus cerebralis* Spore sind die Polkapselzellen (PK), die Schalenwand (S), die Amöboidkeimzellen (A), an einer anderen die Nahtlinie (NL) bezeichnet.



**Abb. 28: Stamm DtHs; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) liegen mit Granulozyteninfiltration (EG) (EG) in Bereichen zerstörter Knorpelarchitektur (K) vor. Erhaltene Knorpelreste sind mit (K) gekennzeichnet.



**Abb. 29: Stamm DtHs; 5.000 TAM/Fisch; °H=4; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) liegen assoziiert mit massiver Granulozyteninfiltration (EG) vor.

#### 4.3.1.1.4 Stamm *DtHa*

##### **Infektionsdosis: 10 TAM/Fisch; 0,1°H**

In dieser Gruppe fiel bei einem von zehn untersuchten Regenbogenforellen eine durch *Myxobolus cerebralis* verursachte umschriebene Veränderung in Form von Knorpeldegeneration auf.

##### **Infektionsdosis: 100 TAM/Fisch, 0,1°H**

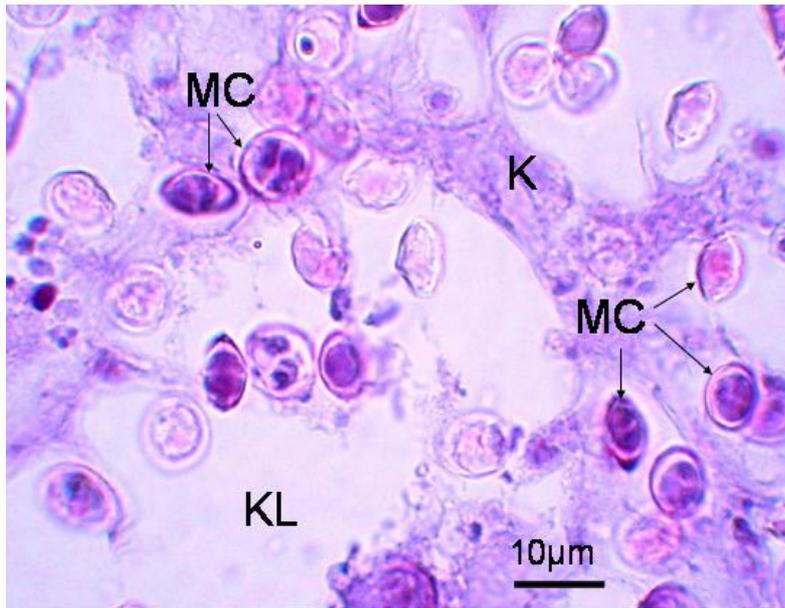
Auch 100 TAM/Fisch konnten bei Stamm *DtHa* Infektionsdosis keine ausgeprägtere Wirtsreaktion hervorrufen: Es zeigte sich ebenfalls bei einer Forelle ein kleiner, unauffälliger Herd der Knorpeldegeneration. Leukozytenassoziation bestand nicht.

##### **Infektionsdosis: 1.000 TAM/Fisch; 2,8 °H**

Zwei der untersuchten zehn Versuchstiere hatten im Fünfmonatszeitraum umschriebene Foci der Knorpelveränderung, jeweils in Verbindung weniger Granulozyten, entwickelt. In vier Fällen waren diese Herde von größerer räumlicher Ausdehnung. Die assoziierten Entzündungszellen drangen in benachbarte Textur ein. Bei drei weiteren Probanden konfluieren die Bereiche der Knorpeldegeneration, Leukozyten infiltrierten große Bereiche der umliegenden Gewebe.

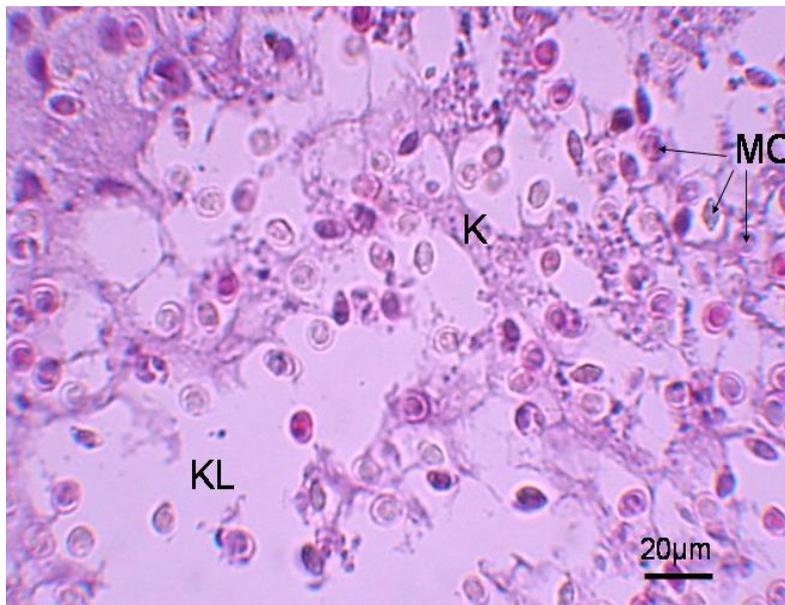
##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch; 2,8°H**

Während in dieser Infektionsgruppe lediglich ein Fisch keine durch *Myxobolus cerebralis* hervorgerufenen histopathologischen Veränderungen aufwies, zeigten die verbleibenden neun Probanden sowohl Knorpeldegeneration und Nekrose, als auch Wirtsreaktion in Form von Granulozyteninfiltration. In zwei Fällen waren diese Veränderungen nur von geringem räumlichen Ausmaß, bei vier Forellen fielen die pathologisch veränderten Bereiche durch ihre Ausdehnung und der großen Anzahl eingedrungener Entzündungszellen deutlicher ins Auge, bei zwei der Probanden konfluieren diese Herde der Knorpeldegeneration (Siehe Abb. 30 und 31) und bei einem der Versuchstiere (Abb. 32) bewirkten die Veränderungen in großen Bereichen den Verlust der normalanatomischen Knorpelarchitektur.



**Abb. 30: Stamm *DtHa*; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

Konfluierende Bereiche der Knorpeldegeneration. *Myxobolus cerebralis* Sporen (MC) liegen in weiträumig lysierten Bereichen (KL) vor. Gesunder Knorpelrest ist mit (K) gekennzeichnet.



**Abb. 31: Stamm *DtHa*; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

Zahlreiche reife Sporenstadien (MC) liegen in blasig degenerierten Knorpellakunen (KL) und weiträumig in seiner Normalstruktur komplett zerstörtem Knorpel (K) vor.



**Abb. 32: Stamm *DtHa*; 5.000 TAM/Fisch; °H=4; HE-Färbung**

Übersichtsaufnahme zerstörter Knorpelarchitektur, an der Stelle gesunden Knorpels (K) (in der oberen Bildmitte) hat sich ein mit *Myxobolus cerebralis*-Sporen durchsetztes Granulom (G) gebildet.

#### 4.3.1.1.5 Stamm *AmTL*

##### **Infektionsdosis: 10 TAM/Fisch; 0,3°H**

Bei einer Infektionsdosis von 10 TAM/Fisch hatten drei der Regenbogenforellen amerikanischer Abstammung vereinzelt unauffällige Herde der Knorpeldegeneration ausgebildet. Entzündungszellen waren nicht mit den pathologischen Veränderungen assoziiert.

##### **Infektionsdosis: 100 TAM/Fisch; 1,9°H**

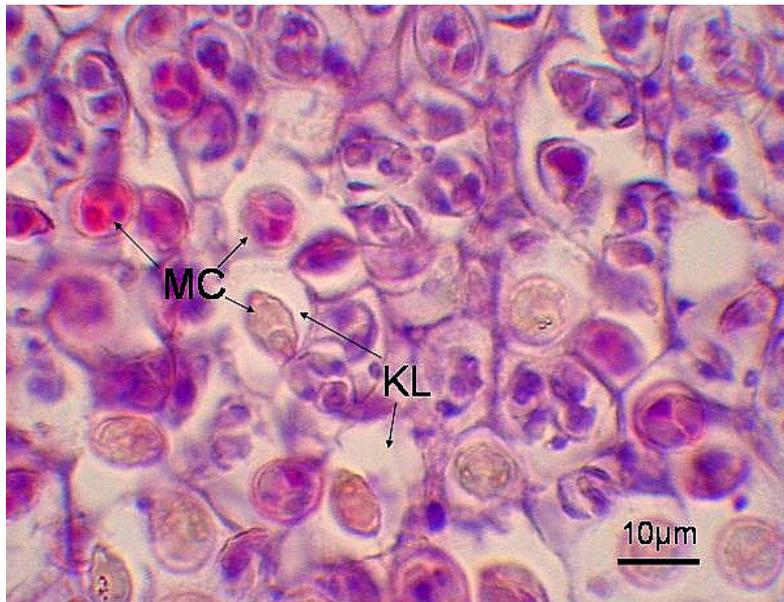
Hier zeigten drei der Probanden leichte Knorpelveränderungen ohne Wirtsreaktion. Bei drei der untersuchten Tiere konnten in der Umgebung kleiner lokal ausgedehnter Herde der Knorpeldegeneration eine gemäßigte Anzahl Entzündungszellen ausgemacht werden. Bei zwei weiteren amerikanischen Regenbogenforellen wurden mehrere dieser pathologischen Veränderungen, assoziiert mit vielen, die Umgebung infiltrierenden, Leukozyten gefunden. Ein Proband zeigte konfluierende Bereiche der Knorpelnekrose mit stark ausgeprägter Granulozytenbeteiligung. Bei einer Forelle konnten keine pathohistologischen Veränderungen diagnostiziert werden.

##### **Infektionsdosis: 1.000 TAM/Fisch; 3,5°H**

Räumlich stark begrenzte Herde der Knorpeldegeneration ohne Wirtsreaktion lagen bei einem Probanden dieser Infektionsdosis vor. Bei allen anderen konnten stellenweise Leukozyten in der Umgebung von Knorpelnekrosen ausgemacht werden. Hierbei beschränkte sich die durch *Myxobolus cerebralis* hervorgerufene Veränderung der Knorpelstrukturen bei einer der Forellen auf sehr kleine und nur wenige Bereiche (Abb. 33 zeigt Ansammlungen von *Myxobolus cerebralis*-Sporen ohne eindeutig erkennbare Wirtsreaktion), zwei zeigten multifokale Herde der Degeneration und Knorpelnekrose, bei vier der Versuchstieren flossen diese Bereiche zusammen und gingen mit massiver Leukozyteninfiltration einher und in zwei Fällen konnten kein gesundes Knorpelgewebe mehr gefunden werden-die Architektur dieses Stützgewebes war komplett zerstört.

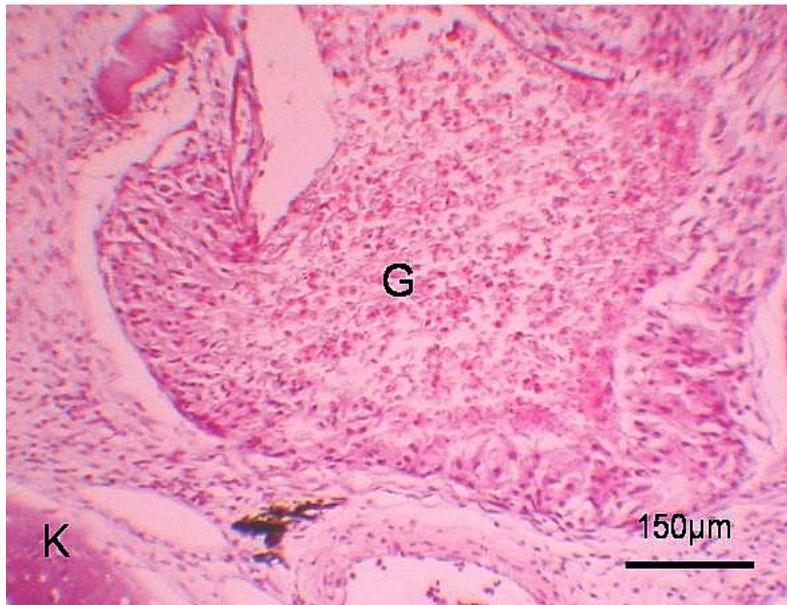
**Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch 3,5°H**

Alle untersuchten Regenbogenforellen dieser Infektionsdosis wiesen für *Myxobolus cerebralis* typische Veränderungen der Knorpeltextur verbunden mit Wirtsreaktion auf. In zwei dieser Fälle beschränkte sich die pathologische Veränderung auf kleine Herde der Knorpeldegeneration, auch war nur eine gemäßigte Anzahl an Entzündungszellen, wie aus Abb. 35 zu entnehmen, in deren Umgebung aufzufinden. Drei Regenbogenforellen wiesen multifokale Abweichungen mit zahlreichen, in umliegendes Gewebe eindringenden Leukozyten auf. Bei vier weiteren liefen diese Veränderungen zu ausgedehnten Bereichen der Knorpelnekrose zusammen und bei zwei war die Architektur des hyalinen Stützgewebes, wie in Abb. 34, 36 und 37 zu erkennen, zum größten Teil zerstört. Die mittlere Bewertung der histopathologischen Veränderungen entsprach der mit 1000 TAM infizierten Regenbogenforellen des Stamms *AmTL*.



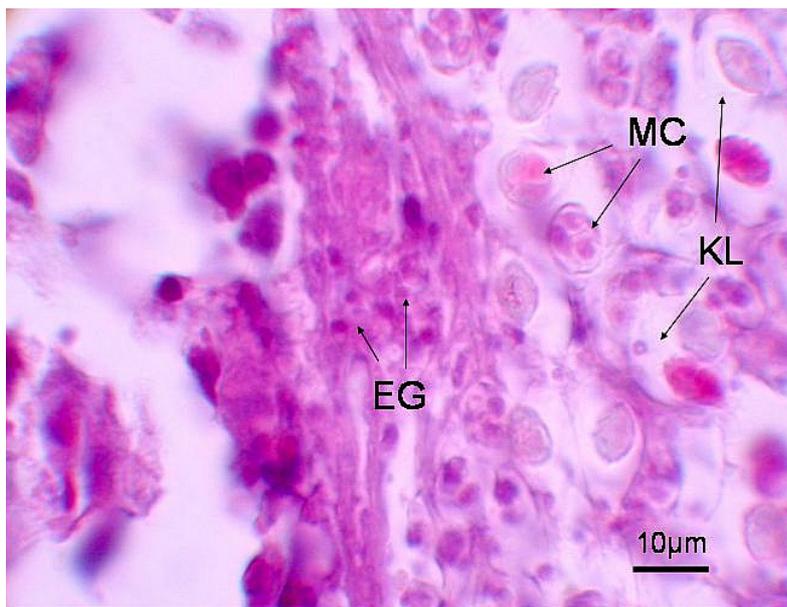
**Abb. 33: Stamm *AmTL*; 1.000 TAM/Fisch; °H=4; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis* -Sporen (MC) in Knorpellakunen (KL), an dieser Stelle ohne deutlich erkennbare Wirtsreaktion.



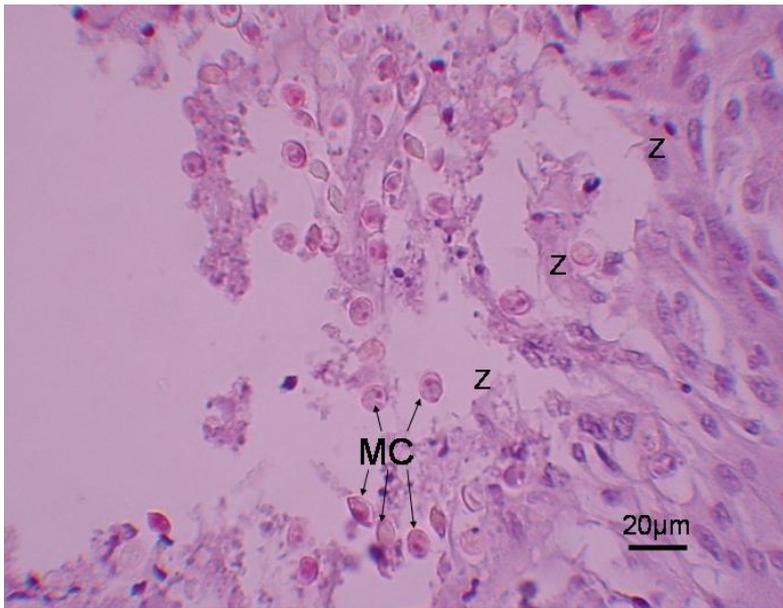
**Abb. 34: Stamm *AmTL*; 5.000 TAM/Fisch; °H=5; HE-Färbung**

Übersichtsaufnahme eines Granuloms (G), welches das physiologische Knorpelgewebe (K) zerstört und verdrängt hat.



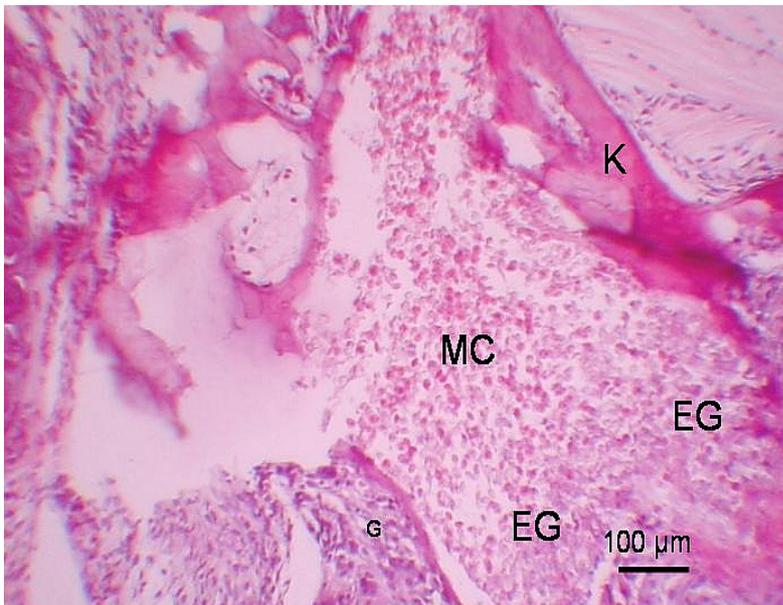
**Abb. 35: Stamm *AmTL*; 5.000 TAM/Fisch; °H=4; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis* Sporen (MC) in Knorpellakunen (KL), mit Leukozyteninfiltration (EG).



**Abb. 36:** Stamm *AmTL*; 5.000 TAM/Fisch; °H=5; HE-Färbung

Zone zwischen zerstörter und normaler Knorpel- bzw. Knochenarchitektur (Z).  
 Leukozytenassoziierte *Myxobolus cerebralis* (MC)-Sporensammlung,  
 Knorpelstrukturen dadurch weitgehend zerstört.



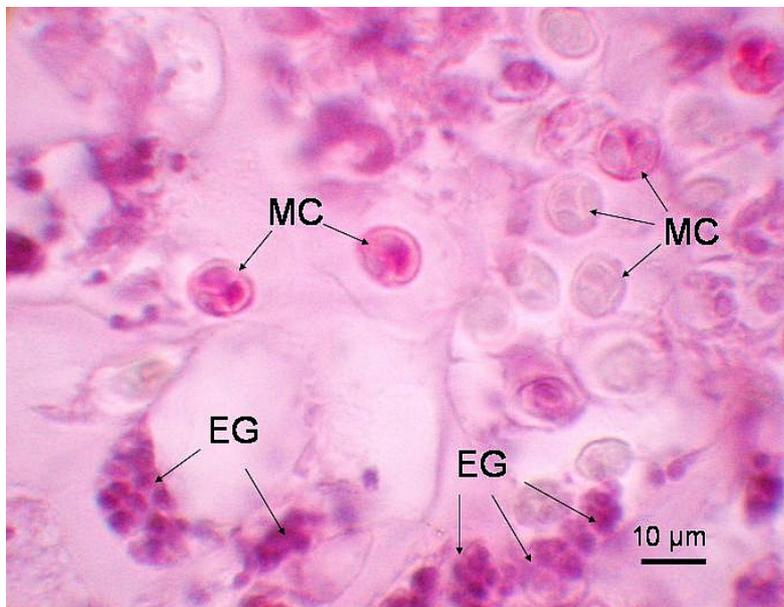
**Abb. 37:** Stamm *AmTL*; 5.000 TAM/Fisch; °H=5; HE-Färbung

Übersichtsaufnahme über die fast vollständig zerstörte Knorpelarchitektur (K),  
 massive *Myxobolus cerebralis*-Sporensammlung (MC) mit Granulozyten (EG)  
 durchsetzt, in linker Bildhälfte Granulom (G).

#### 4.3.1.1.6 Bachforelle

##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

Die Hälfte der untersuchten Bachforellen wiesen keinerlei Veränderungen histopathologischer Art auf. Bei einem Probanden konnte ein kleiner, jedoch unauffälliger Herd der Knorpeldegeneration ausgemacht werden, Wirtsreaktion blieb aus. Zwei der Versuchstiere zeigten neben einzelnen lokalen Herden der Nekrose des Knorpels auch leichte Wirtsreaktion in Form von lokalisiertem Entzündungsgeschehen (Siehe Abbildung 38). In einem Fall konnten multifokale Herde der beschriebenen Veränderung ausgemacht werden und bei einem Tier waren ausgedehnte Bereiche der Knorpeldegeneration von massiver Leukozyteninfiltration begleitet.



**Abb. 38: Bachforelle; 5.000 TAM/Fisch; °H=3; HE-Färbung**

*Myxobolus cerebralis*-Sporen (MC) in Lakunen zerstörten hyalinen Stützgewebes, Leukozytenbeteiligung (EG).

#### 4.3.1.2 II. Infektionsversuch

##### 4.3.1.2.1 Stamm *DtHo*

###### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

Im zweiten, zeitlich verschobenen Infektionsversuch konnte bei einer Regenbogenforelle des deutschen Stamms *DtHo* ein kleiner Herd der Knorpeldegeneration ohne Wirtsreaktion detektiert werden. Die anderen Probanden wiesen keine pathologischen Veränderungen auf.

##### 4.3.1.2.2 Stamm *DtHs*

###### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

*DtHs*-Regenbogenforellen zeigten in drei Fällen eine leichte Verformung der normalanatomischen Struktur des hyalinen Stützgewebes, bei zwei dieser Forellen konnten in der Umgebung der Knorpeldegeneration eine gemäßigte Anzahl an Leukozyten aufgefunden werden.

##### 4.3.1.2.3 Stamm *AmTL*

###### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

Sämtliche der amerikanischen Regenbogenforellen zeigten im zweiten Infektionsversuch Veränderungen in Form von Knorpeldegenerationen. Während bei zwei der zehn histologisch untersuchten Probanden keine Wirtsreaktion, konnten bei acht weiteren auch Leukozytenbeteiligung und mehrere Bereiche der Nekrose aufgefunden werden. In sechs dieser Fälle dehnte sich die Wirtsreaktion in umliegendes Gewebe aus.

### 4.3.1.3 III. Infektionsversuch

#### 4.3.1.3.1 Stamm *DtHo*

##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

Im dritten Infektionsversuch konnte ebenfalls bei einer Regenbogenforelle des Stammes *DtHo* ein kleiner Herd der Knorpeldegeneration, wiederum ohne Wirtsreaktion, ausgemacht werden.

#### 4.3.1.3.2 Stamm *DtHs*

##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

In sechs der untersuchten zehn Forellenköpfe konnten keine durch *Myxobolus cerebralis* verursachten Schädigungen entdeckt werden. In zwei Fällen lag eine leichte Form der Knorpeldegeneration ohne assoziierte Leukozyten vor. In einem Fall konnte auch Wirtsreaktion beobachtet werden und bei einem Probanden dehnten sich die Granulozytenansammlungen in benachbartes Gewebe aus.

#### 4.3.1.3.3 Stamm *AmTL*

##### **Infektionsdosis: 5.000 TAM/Fisch**

Der dritte Infektionsversuch vermochte bei allen Probanden des amerikanischen Stammes Veränderungen histopathologischer Art hervorzurufen: So fand sich in zwei Köpfen je ein kleiner Focus der Knorpeldegeneration ohne Reaktionen des Wirts, in vier Fällen Veränderungen mit ähnlicher Dimension, jedoch mit Leukozytenassoziation. Bei zwei der Regenbogenforellen waren die Veränderungen ausgedehnter Natur, und die Bereiche mit Granulozyten dehnten sich in umliegende Textur aus. Bei einer Forelle konfluieren die pathologisch veränderten Bereiche, so dass sich das Bild ausgedehnter Knorpelnekrosen mit einer großen Anzahl an Leukozyten ergab.

---

## 4.3.2 FELDEXPERIMENT

### 4.3.2.1 Stamm *DtHo*

Bei den im Teich gehaltenen Regenbogenforellen des Stammes *DtHo* konnten 120 Tage nach Versuchsbeginn keine durch *Myxobolus cerebralis* hervorgerufenen histopathologischen Veränderungen aufgefunden werden.

### 4.3.2.2 Stamm *DtLh*

Eine deutsche Regenbogenforelle des Stammes *DtLh* zeigte leicht degeneriertes hyalines Stützgewebe an einer Stelle ohne Wirtsreaktion. Bei zwei weiteren konnten neben diesen räumlich begrenzten Herden der Knorpeldegeneration einige umgebende Granulozyten ausgemacht werden.

### 4.3.2.3 Stamm *AmTL*

Die amerikanischen Forellen zeigten in zwei Fällen lokal begrenzte Stellen der Knorpeldegeneration, in einem Fall mit wenig Leukozyteninfiltration, in einem ohne Wirtsreaktion.

### 4.3.2.4 Bachforelle

Hier waren keine durch *Myxobolus cerebralis* hervorgerufenen histopathologischen Veränderungen aufzufinden.

## 4.4 Blutuntersuchungen

Im Folgenden werden die Auffälligkeiten der Ergebnisse der Differentialblutbilder, geordnet nach Stämmen und den verschiedenen Infektionsdosen, wiedergegeben.

### 4.4.1 LABOREXPERIMENT

#### 4.4.1.1 I. Infektionsversuch

Bei der Differenzierung der Leukozyten konnten bei den verschiedenen Stämmen und Infektionsdosen folgende Auffälligkeiten festgestellt werden.

##### 4.4.1.1.1 Stamm *DtHo*

Wie aus Abb. 39 ersichtlich, lag die Lymphozytenfraktion in allen Infektionsgruppen über 80%, Das Verhältnis zwischen stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten war bei den Infektionsdosen 10, 100 und 1.000 TAM/Fisch ausgewogen, die Regenbogenforellen, welche mit 5.000 TAM infiziert worden waren, zeigten eine Linksverschiebung (vermehrt junge Zellstadien im Blut).

##### 4.4.1.1.2 Stamm *DtLh*

Die Lymphozytenfraktion schwankte mit geringen Abweichungen (bis 3,7%) um die 80%-Marke, wobei keine zur Infektionsdosis proportionalen Veränderungen auffielen, in der Gruppe 100 TAM/Fisch lag der Anteil der jungen Granulozyten vergleichsweise höher als in den anderen Gruppen (siehe Abbildung 39).

##### 4.4.1.1.3 Stamm *DtHs*

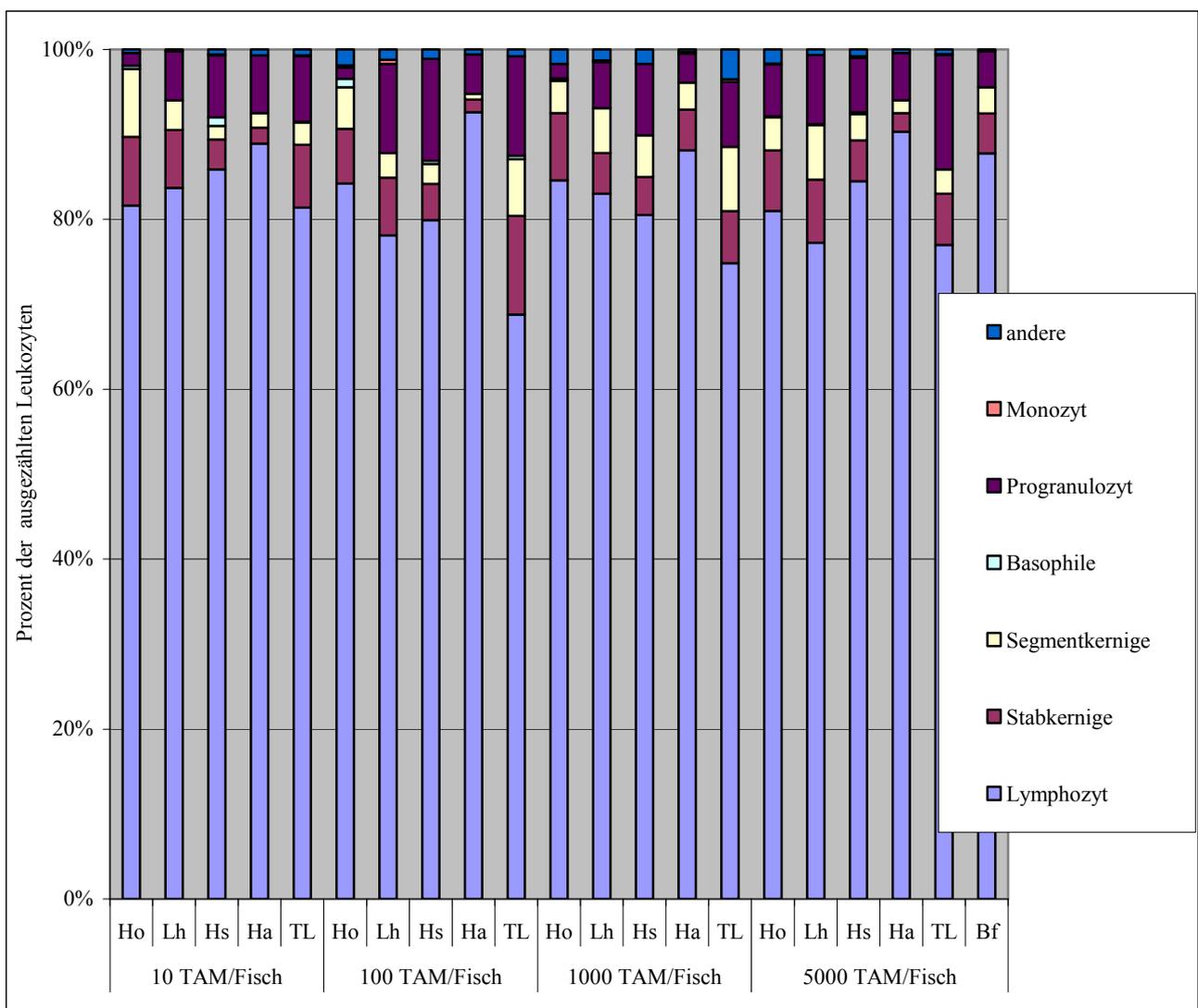
Die größten Anteile bei den Granulozyten stellten bei Stamm *DtHs* die Progranulozyten, auch hier konnten, wie die Übersicht in Abbildung 39 zeigt, keine zur Infektionsdosis proportionalen Veränderungen festgestellt werden. Die Lymphozytenfraktion lag immer über 80%.

4.4.1.1.4 Stamm *DtHa*

Dieser Stamm wies in allen Infektionsdosen die größte Lymphozytenfraktion auf (siehe Abb. 39). Zur steigenden Infektionsdosis proportionale Veränderungen des Differentialblutbilds konnten nicht festgestellt werden.

4.4.1.1.5 Stamm *AmTL*

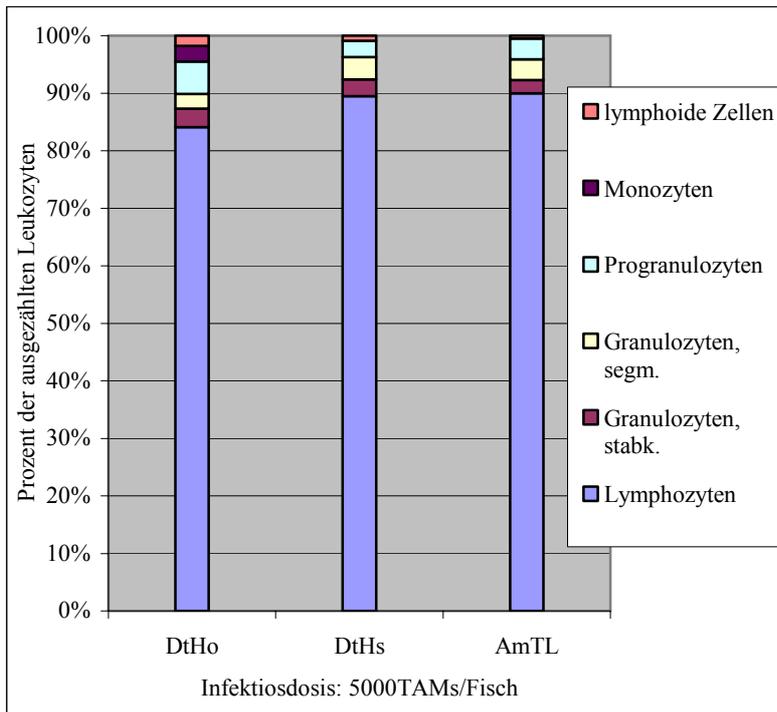
Wie Abbildung 39 verdeutlicht, erzielten die Lymphozyten der mit jeweils 100 TAM infizierten amerikanischen Forellen einen Wert von nur 68,8%, auch die beiden Infektionsgruppen 1.000 bzw. 5.000 TAM fielen durch Lymphozytenanteile von unter 80% auf.



**Abb. 39: Direkter Stammvergleich der Ergebnisse des Differentialblutbildes; Mittelwerte von je 10 ausgezählten Probanden pro Infektionsgruppe. Alle Laborversuche des ersten Infektionsversuchs.**

4.4.1. II. Infektionsversuch

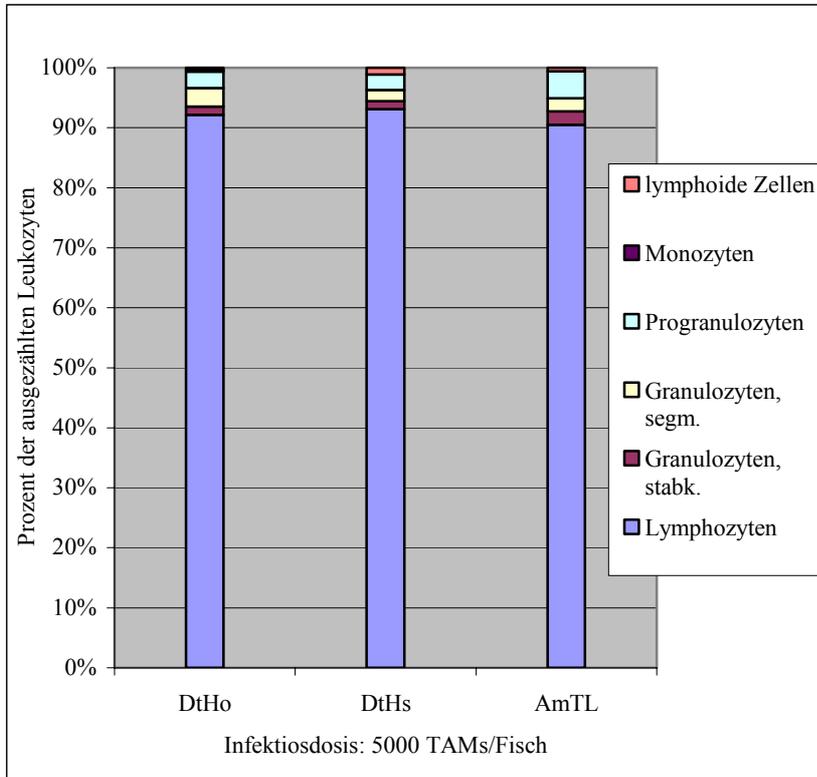
Die Differenzierung der weißen Blutzellen im Rahmen des zweiten Infektionsversuchs ergab, wie aus Abb. 40 ersichtlich, Lymphozytenfraktionen bei *DtHo* von 83%, sowie jeweils ca. 90% bei *DtHs* und *AmTL*. Die Fraktion der älteren Granulozyten verschob sich bei *DtHo* zuungunsten des Anteils der Progranulozyten. Des Weiteren fiel ein Anteil von 2,8% Monozyten auf (siehe Abb. 40), diese Zellart konnte bei *DtHs* und *AmTL* nicht bestimmt werden.



**Abb. 40: Differentialblutbild der Stämme *DtHo* *DtHs* und *AmTL* im II. Infektionsversuchs; jeweils Mittelwerte von 10 ausgezählten Probanden**

4.4.1.3 III. Infektionsversuch

Die Lymphozytenfraktionen aller drei Stämme lagen nach Beendigung des dritten Infektionsversuchs bei über 90%. Zweitgrößte Fraktion stellten bei *DtHs* und *AmTL* die Progranulozyten dar, bei *DtHo* die segmentkernigen Granulozyten (siehe Abb. 41).

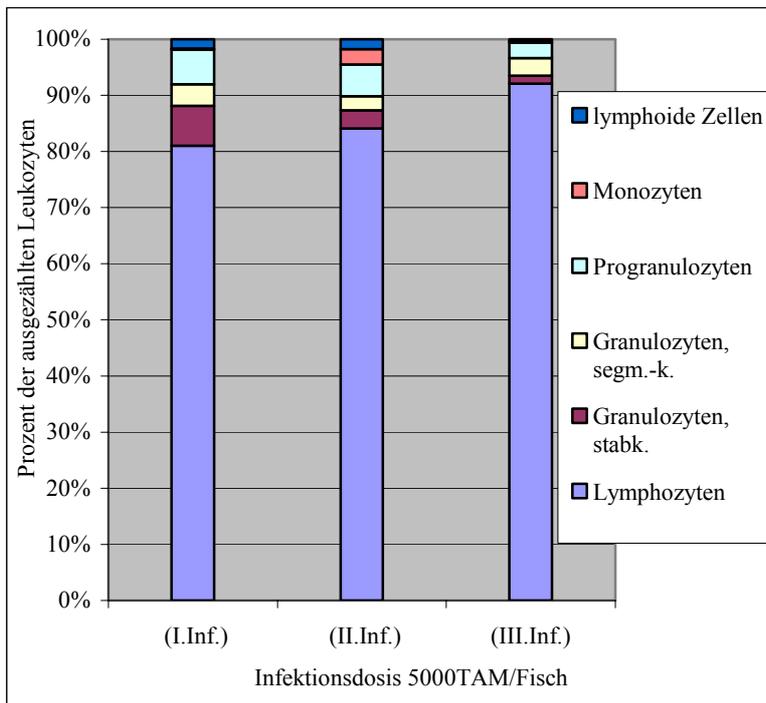


**Abb. 41: Differentialblutbild der Stämme *DtHo*, *DtHs* und *AmTL* im III. Infektionsversuchs; jeweils Mittelwerte von 10 ausgezählten Probanden**

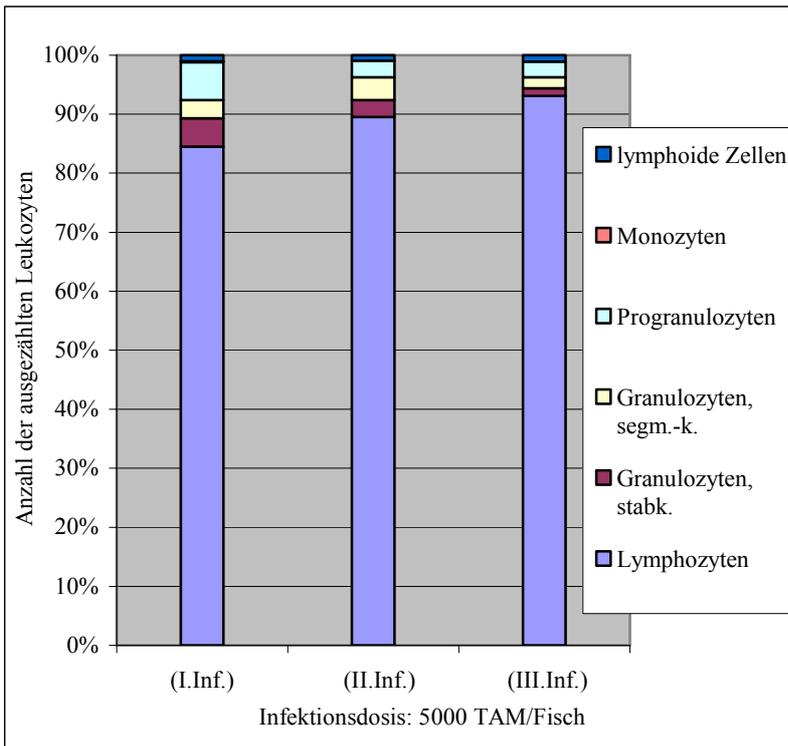
4.4.1.4 Gegenüberstellung des I., II. und III. Infektionsversuchs

Beim Vergleich der Blutbilder der ersten, zweiten und dritten Infektion fällt auf, dass bei allen drei Stämmen der relative Anteil der Lymphozyten in der II. und III. Infektion im Vergleich mit der I. ansteigt (Siehe Abb. 42: Stamm *DtHo*, Abb. 43: Stamm *DtHs* und Abb. 44: Stamm *AmTL*). Dies geschieht sowohl bei *DtHs* als auch bei *DtHo* der zulasten der Fraktion stabkerniger Granulozyten, bei Stamm *AmTL* zuungunsten der Progranulozyten.

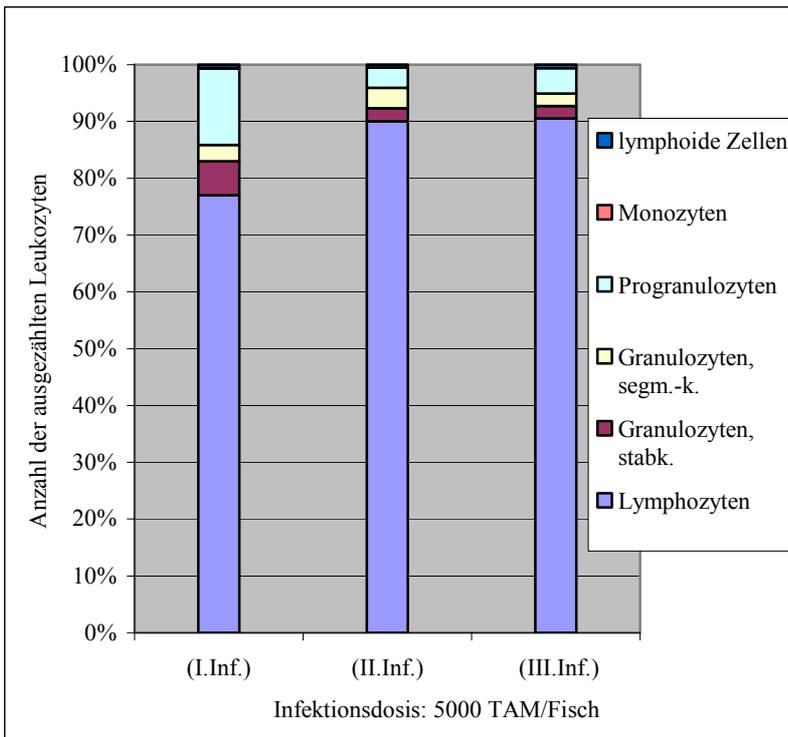
In keinem der Blutausstriche sind Fremdzellen bzw. Sporen von *Myxobolus cerebralis* gefunden worden.



**Abb. 42: Differentialblutbild des Stamms *DtHo* im I, II und III. Infektionsversuch; jeweils Mittelwerte von 10 ausgezählten Probanden**



**Abb. 43: Differentialblutbild des Stammes *DthS* im I., II. und III. Infektionsversuch; jeweils Mittelwerte von 10 ausgezählten Probanden**



**Abb. 44: Differentialblutbild des Stammes *AmTL* im I., II. und III. Infektionsversuch; jeweils Mittelwerte von 10 ausgezählten Probanden**

---

#### 4.4.2 FELDEXPERIMENT

Bei den Probanden des Feldversuchs konnte kein Differentialblutbild angefertigt werden, da die Blutgewinnung nur bei lebenden Probanden möglich ist, nach dem bereits beschriebenen Unfall jedoch nur noch verendete Tiere angetroffen wurden.

## V. DISKUSSION

### 1. Infektion der Forellenbrütlinge

Anhand der folgenden durchgeführten Untersuchungen konnte die Infektion der Forellenbrütlinge als erfolgreich bewertet werden:

Histologische Untersuchungen der Epidermis aller Stämme zeigten in den Infektionskonzentrationen 1.000 bzw. 5.000 TAM/Fisch Amöboidkeimzellen. Dieses Resultat wies somit auf eine erfolgreich verlaufene Infektion hin. Die Empfänglichkeit einzelner Stämme für die Drehkrankheit bereits nach der Menge der detektierten Sporen zu bewerten, empfahl sich nicht, da die Sporoplasmen nicht gleichmäßig in der gesamten Fischepidermis verteilt sind, sondern sich hauptsächlich in den Flossenbereichen sowie am Kiemendeckel finden: Die Anzahl der gezählten Sporoplasmen hängt somit sehr stark vom Flossenanteil der jeweiligen Schnittebene ab. Durchschnittlich wurden pro Fisch lediglich sieben Schnittpräparate ausgewertet, die Schwankungsbreite der Anzahl detektierter Amöboidkeimzellen war bei dieser kleinen Anzahl hoch. Trotzdem bleibt zu bemerken, dass sich in der höchsten Infektionskonzentration tendenziell mehr Parasitenstadien in der Epidermis von *AmTL* und *DtLh* befanden als bei den anderen Stämmen wie *DtHo* und *DtHs*, bzw. der Bachforelle- ein Ergebnis, zu dem in späteren Untersuchungsergebnissen Parallelen gezogen werden können. Bei Probanden, die mit weniger als 1000 TAM/Fisch auf Sporoplasmen in der Epidermis untersucht wurden, konnten keine positiven Ergebnisse erzielt werden. Laut EL-MATBOULI et al. (1995) sind parasitäre Stadien bei mit bis zu 1000 TAM/Fisch infizierten Salmoniden ohnehin sehr schwer in der Epidermis nachzuweisen.

Die Untersuchung des Infektionsbads ergab, dass nach drei Stunden 79,4% der Triactinomyxon-Sporen ihren Amöboidkeim und damit ihre Infektiosität verloren hatte. In als erfolgreich bewerteten Infektionsexperimenten von HEDRICK et al. (1999) verlieren routinemäßig durchschnittlich 80% der Triactinomyxon-Sporen ihre Infektiosität. Untersuchungen von EL-MATBOULI et al. (1999) zufolge verloren bei erfolgreich verlaufenen Infektionen 60-70% der Triactinomyxon-Sporen ihre Amöboidkeimzellen. Die Autoren folgern hieraus, dass die Sporen an die Fischepidermis anheften konnten. Aufgrund dieser Aussage wurde die Infektion auch bezüglich dieses Parameters als erfolgreich bewertet.

Bei den Stämmen *DtHa* und *AmTL* konnte das charakteristische Zucken der Regenbogenforellen bei Expositionsbeginn beobachtet werden. Nach EL-MATBOULI et al. (1999) ist dies als Abwehrverhalten auf die Injektion der Polfilamente in die Epidermis und das Eindringen der Amöboidkeimzellen in die Poren der Schleimzellen zu werten. Somit wies diese Beobachtung auf das Vorhandensein infektionstüchtiger Triactinomyxon-Sporen hin.

Wie in Abb. 10 zu erkennen, konnten rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Epidermis, wie erstmals nachgewiesen in der Arbeit von EL-MATBOULI et al. (1999), bei den Stämmen *DtHo* und *AmTL* das erfolgreiche Eindringen einzelner Triactinomyxon-Sporen in die Epidermis anzeigen.

## 2. Die Empfänglichkeit für die Drehkrankheit im Stammvergleich

Die Bewertung der Empfänglichkeit der einzelnen Stämme vollzog sich anhand folgender Parameter:

### A. Klinische Erhebungen:

Die Inkubationszeit, d.h. die Zeitspanne zwischen Sporenexposition und Eintritt in das klinische Stadium der Drehkrankheit, sowie die Symptomprävalenz, also der Prozentsatz der klinisch erkrankten Probanden, gemessen am Tag 100 post infectionem.

### B. Post mortem Erhebungen:

Die Infektionsprävalenz, d.h. der Prozentsatz der untersuchten Kopfknochen, welche mindestens eine reife *Myxobolus cerebralis* Spore aufwies und die dadurch verursachten Schäden in der Knochenarchitektur und das Ausmaß der Wirtsreaktion. Zum Schluss wurde auf stammbezogene Auffälligkeiten des Blutbilds der Probanden eingegangen.

## 2.1 Klinische Beobachtungen

### 2.1.1 Inkubationszeit

Erste konkrete Hinweise darauf, dass sich die einzelnen Stämme in ihrer Empfänglichkeit für die Drehkrankheit voneinander unterscheiden, gab die klinische Beobachtung der Entwicklung erster Krankheitsanzeichen. So wies *AmTL* in allen Infektionsdosen kürzeste Inkubationszeiten auf, in den beiden höchsten Infektionsdosen zusammen mit *DtLh*. Die Bachforelle zeigte in der höchsten

Konzentration die längste Inkubationszeit. Damit können nach diesem Parameter Aussagen von O'GRODNICK (1979) und HEDRICK et al. (1999) erneut bestätigt werden, welche die Bachforelle als resistenter im Vergleich zur Regenbogenforelle einstufen. Beim Vergleich allein der deutschen Stämme miteinander fällt die relativ kurze Inkubationszeit von *DtLh* ins Auge. Hier muss allerdings beachtet werden, dass dieser Stamm mit einem Tagesgradalter von 431-450 infiziert worden ist, während sich das Tagesgradalter am Tag der Infektion der anderen deutschen Stämme zwischen 646 und 998 bewegt. Nach Untersuchungen von RYCE et al. (2001) ist die Schwere der Krankheitsausprägung abhängig vom Alter des Fisches bei erster Sporenexposition und die Symptome entwickeln sich bei älteren Fischen vergleichsweise langsamer als bei jüngeren. So betrug nach ihren Aussagen die Inkubationszeit für die Drehkrankheit bei Regenbogenforellen, die im Alter von 456 T° infiziert wurden, ca. sieben Wochen, und bei 756 T° alten Forellen knapp 13 Wochen bei einer Infektionsdosis von jeweils 1.000 TAM/Fisch. Eine erneute Verschiebung des Infektionszeitpunktes (970T°) erbrachte in den Untersuchungen von RYCE et al. (2001) keine weitere Verlängerung der Inkubationszeit. Der Altersunterschied zwischen *DtHa*, *DtHs*, *AmTL* und *DtHo* sind nach den Resultaten der erwähnten Autoren als vernachlässigbar einzustufen. Während eine Infektionsdosis von 10 TAM/Fisch bei den drei letztgenannten deutschen Stämmen keine Symptomatik der Drehkrankheit auszulösen vermochte, zeigten amerikanische Forellen nach 102 Tagen erste Krankheitsanzeichen. Auch bei den beiden höchsten Infektionsstufen erwiesen sich die drei deutschen Stämme als in deutlich geringerem Maße von der Drehkrankheit betroffen als die amerikanischen. 5.000 TAM/Fisch vermochten zuletzt bei *DtHs* das klinische Stadium der Drehkrankheit auszulösen. *DtHo* erwies sich bei 100 und 1.000 TAM als der Stamm mit der längsten Inkubationszeit.

Die II. und III. Infektion bestätigten die Erkenntnis von RYCE et al. (2001), dass eine direkte Korrelation zwischen Infektionszeitpunkt und Inkubationszeit besteht. Im Stammvergleich erwies sich *DtHo* vor *DtHs* als unempfindlicher im Vergleich zum amerikanischen Stamm.

### 2.1.2 Symptomprävalenz

Für die Beurteilung der Krankheitsausprägung wurden die Daten der Symptomprävalenz des Kardinalsymptoms „pathologisches Schwimmverhalten“ am Tag 100 post infectionem im Stamm- und Infektionsdosenvergleich statistisch ausgewertet. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich das Maß der Ausprägung der Drehkrankheit am deutlichsten, da sich dieses Symptom, wie auch die

Schwarzverfärbung der kaudalen Körperpartie, in der Folgezeit wieder rückentwickeln kann (EL-MATBOULI et al., 1992).

Im Folgenden werden nun die amerikanischen Forellen mit den einzelnen deutschen Stämmen verglichen und im Anschluss daran die deutschen Stämme einander gegenübergestellt und ihre Empfänglichkeit für die Drehkrankheit auch mit der der Bachforelle verglichen.

### 2.1.2.1 I. Infektion

#### 2.1.2.1.1 Vergleich *AmTL*- deutsche Stämme

Regenbogenforellen der Stämme *AmTL* und *DtHo*, die mit 10 TAM/Fisch infiziert worden waren, zeigten keine Unterschiede bezüglich des pathologischen Schwimmverhaltens (in beiden Gruppen konnten keine Drehbewegungen provoziert werden).

In allen drei höheren Infektionsdosen erwies sich der Stamm *DtHo* als hoch bis sehr hoch signifikant resistenter (100 TAM:  $P=0,00000008$ ; 1.000 TAM:  $P=0,000054$ ; 5.000 TAM:  $P=0,007$ ) bezüglich dieses Parameters als die amerikanischen Regenbogenforellen. Diesem Ergebnis kann in der Beurteilung der Empfänglichkeit in Hinblick auf spätere Auswilderungsversuche des Stamms *DtHo* große Wichtigkeit eingeräumt werden: Eine Infektionsdosis von 1000 TAM/Fisch entspricht laut NEHRING und THOMPSON (1998) etwa der Sporenkonzentration, denen Regenbogenforellen in nordamerikanischen Gewässern ausgesetzt sind, und das pathologische Schwimmverhalten stellt aufgrund seiner das natürliche Fress- und Fluchtverhalten stark beeinträchtigenden Wirkung einen sehr wichtigen Parameter in der Bewertung der Suszeptibilität dar.

Beim Vergleich *DtLh* und *AmTL* bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Krankheitsausprägung in allen TAM-Dosierungen (10 TAM: kein Drehverhalten in beiden Stämmen; 100 TAM:  $P=1,3$ ; 1.000 TAM:  $P=1,4$ ; 5.000 TAM:  $P=1,19$ ).

Die Symptomprävalenz des Stammes *DtHs* ist nicht signifikant verschieden von der der *AmTL*-Forellen in den Infektionskonzentrationen 10 TAM/Fisch (beide Stämme subklinisch bezüglich Drehverhalten), 100 TAM/Fisch ( $P=0,81$ ) und 5.000 TAM/Fisch ( $P=0,47$ ), hoch signifikant niedriger jedoch in der Gruppe der mit dem laut NEHRING und THOMPSON (1998) natürlichen Infektionsdruck entsprechenden 1.000 TAM/Fisch ( $P=0,008$ ) infizierten Regenbogenforellen.

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den amerikanischen Regenbogenforellen und *DtHa* konnten in den Gruppen der 10 und 100 TAM/Fisch festgestellt werden (10 TAM: kein pathologisches Schwimmverhalten feststellbar; 100 TAM:  $P=0,3$ ), in den beiden höheren

Infektionsdosen zeigte der amerikanische Stamm sehr hoch signifikant häufiger pathologisches Schwimmverhalten als die *DtHa*-Forellen (in beiden Konzentrationen betrug  $P=0,00024$ )

Die mit 5.000 TAM infizierten amerikanischen Regenbogenforellen zeigten, wie zu erwarten, zu einem ebenfalls sehr hoch signifikant größeren Prozentsatz das Symptom Drehen als die Bachforellen der gleichen Infektionsdosis ( $P=0,00001861$ ).

#### 2.1.2.1.2 Vergleich der deutschen Stämme untereinander

Stamm *DtHo* wies keine signifikanten Unterschiede in der Symptomausprägung im Vergleich mit allen anderen Stämmen in der niedrigsten Infektionskonzentration auf (kein Drehverhalten zu beobachten). Im Vergleich mit *DtHa* konnten auch in den höheren Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede erkannt werden ( $P$  jeweils  $\geq 2$ ). Zu *DtHs* bestanden nur bei den mit 5.000 TAM infizierten Forellen hoch signifikante Unterschiede ( $P=0,0084$ ), die anderen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (100 TAM:  $P=0,93$ ; 1.000 TAM:  $P=0,3$ ). Die mit 5.000 TAM infizierten Probanden des Stamms *DtHo* zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Bachforelle bezüglich des Kardinalsymptoms am Tag 100. Dieses Ergebnis widerspricht bisherigen Untersuchungen von HOFMAN et al., 1962 und HEDRICK et al., 1999a, in deren Rahmen sich die Bachforelle bezüglich Symptomausprägung und Sporenentwicklung als resistenter verglichen mit der Regenbogenforelle erwiesen hat. Aufgrund dieser Ergebnisse wird die Bachforelle als der natürliche Wirt für *Myxobolus cerebralis* anerkannt. Jedoch muss bedacht werden, dass in beiden Untersuchungen amerikanische Regenbogenforellen als Versuchsmaterial dienten, welche auch im Rahmen dieser Vergleichsstudie anfälliger für die Drehkrankheit sind als die Bachforelle.

Verglichen mit den (sehr jung infizierten) *DtLh* Forellen differierte die Symptomausprägung bei *DtHo* in den beiden höheren Dosierungen in sehr hochsignifikanter Weise (1.000 TAM:  $P=0,00053$ ; 5.000 TAM:  $P=0,00007$ ), da die *DtLh* Forellen einen größeren Prozentsatz an klinisch erkrankten Forellen aufwiesen. Niedrigere Dosierungen vermochten keine signifikanten Unterschiede zu erzeugen (10 TAM: kein Drehverhalten in beiden Gruppen, 100 TAM:  $P=0,93$ ).

Bemerkenswert erscheint die Tatsache, dass sich trotz der Infektion in sehr jungem Alter die Ausprägung der Symptomatik bei den *DtLh* Forellen nicht signifikant von denen der Stämme *DtHs* in den Konzentrationen 10 TAM (kein Drehverhalten), 100 TAM ( $P=2$ ) und 5.000 TAM ( $P=0,47$ ) unterschied. Bei 1.000 TAM bestanden hier leicht signifikante Unterschiede ( $P=0,052$ ). *DtHa* unterschied sich von *DtLh* in den beiden niedrigen Infektionskonzentrationen nicht signifikant voneinander (10 TAM: kein Drehverhalten, 100 TAM:  $P=1,19$ ). Hochsignifikante Unterschiede bestanden in den mit 1000 TAM infizierten Forellen ( $P=0,002$ ), signifikante Unterschiede in den

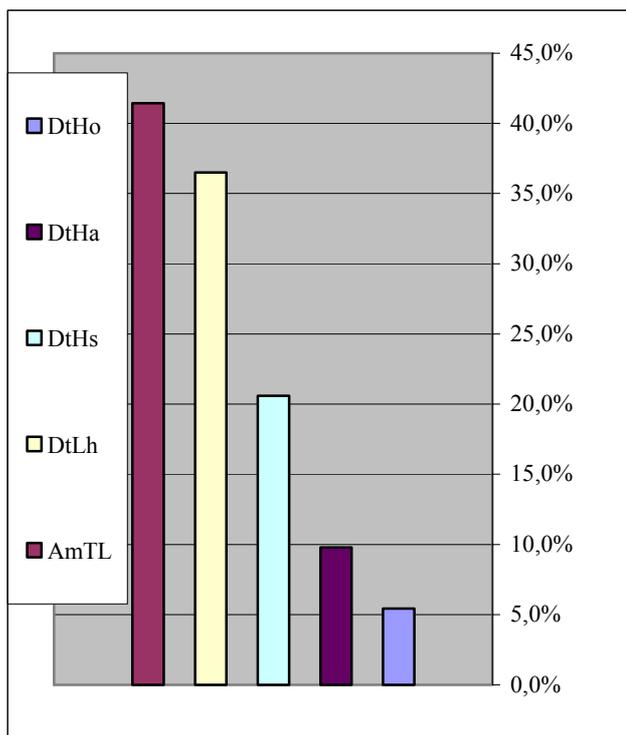
5.000 TAM-Gruppen ( $P=0,022$ ), da sich bei deutlich mehr *DtLh* Forellen schnelle Drehbewegungen bei Erschrecken provozieren ließen als bei *DtHa*. Auch in der Gruppe der Bachforellen hatten sehr hoch signifikant weniger Probanden pathologisches Schwimmverhalten als bei *DtLh* ( $P=0,000009$ ).

Verglichen mit der Bachforelle zeigte ein hoch signifikant größerer Prozentsatz der Regenbogenforellen des *DtHs*-Stammes die Symptomatik der Drehkrankheit ( $P=0,0027$ ).

Beim Vergleich der *DtHa*-Forellen mit den Bachforellen konnten keine signifikanten Unterschiede ( $P=1,385$ ) in der Krankheitsausprägung festgestellt werden.

### 2.1.2.1.3 Zusammenfassung der klinischen Symptomatik

Um einen einfachen Überblick über die unterschiedlich Ausprägung der klinischen Symptomatik bei den einzelnen Stämmen zu erstellen, wurden die Mittelwerte der Symptomprävalenzen der einzelnen Stämme aller Infektionsdosen am Tag 100 erstellt. Wie in Abb. 45 verdeutlicht, stellt sich der amerikanische Stamm als der empfänglichste vor *DtLh*, *DtHs*, und *DtHa* dar. *DtHo* repräsentiert, wie bei allen anderen Parametern auch, den resistentesten Stamm.



**Abb. 45: Hierarchische Gliederung der einzelnen Stämme der ersten Infektion bezüglich der Symptomprävalenz am Tag 100**

### 2.1.2.2 II. und III. Infektion

Wie erwartet, zeigten sich die Symptome mit zunehmendem Infektionsalter in abgeschwächter Form, sowohl hinsichtlich der Intensität der Ausprägung als auch der Prävalenz der Symptome. Dies entspricht somit den Berichten von SCHÄPERCLAUS (1931), der eine Proportionalität zwischen Alter und Anfälligkeit feststellte.

Die Ergebnisse der Beobachtung des Stammes *DtHo* können als Fortführung der Tendenzen angesehen werden, die im I. Infektionsversuch auffielen. So wies der Stamm im Stammvergleich niedrigste Symptomprävalenzen in der zweiten bzw. keine klinische Ausprägung der Drehkrankheit im letzten Infektionsversuch auf. Zwischen *DtHs* und *AmTL* konnte eine Infektion von älteren Regenbogenforellen jedoch keine signifikanten Unterschiede ( $P=1,21$ ) mehr hervorrufen.

### 2.1.2.3 Feldexperiment

Im Feldexperiment erwiesen sich wiederum die *DtHo*-Forellen als der widerstandsfähigste Stamm im Rahmen der klinischen Krankheitsausprägung. So konnten bis zum Ende des Feldversuchs keine Symptome der Drehkrankheit erkannt werden. Mit diesem Resultat erwiesen sich, wenn auch nicht signifikant ( $P=1,21$ ), die *DtHo*-Regenbogenforellen unter natürlichen Bedingungen als widerstandsfähiger als die Bachforelle (5% "Whirling behavior" am Tag 120), ein Ergebnis, das bisher durchgeführten Vergleichsstudien widerspricht, in denen die Empfänglichkeit der Regenbogenforelle an sich als grundsätzlich höher eingestuft wird als die der Bachforelle (HOFER, 1903; HOFFMAN et al., 1962; HOFFMAN, 1970; HALLIDAY, 1976; O'GRODNICK, 1979). Zu beachten bleibt jedoch, dass die Untersuchungen von HOFER (1903) am Anfang dieses Jahrhunderts gemacht wurden, zu einem Zeitpunkt, wo die Koexistenz zwischen Regenbogenforelle und *Myxobolus cerebralis* noch nicht lange währte, und sich so noch keine Resistenzmechanismen im Rahmen der natürlichen Selektion ausbilden konnten. In den erwähnten jüngeren Untersuchungen der anderen Autoren wurden keine deutschstämmigen Regenbogenforellen verwendet.

Als sehr hoch signifikant ( $P=0,00000001$ ) anfälligster Stamm erwies sich erneut *AmTL* (80% Drehverhalten) vor *DtLh* (50% Drehverhalten) und *DtHo* (0% Drehverhalten).

## 2.2 Post mortem Erhebungen

### 2.2.1 Gewicht und Größe

Es konnten keine Abhängigkeiten zwischen den Mittelwerten von Größe und/oder Gewicht und der Infektionsdosis festgestellt werden.

Beim Vergleich der Standardabweichungen vom Mittelwert fällt bei beiden Parametern jedoch auf, dass in den beiden höheren Infektionsdosen bei allen Stämmen außer bei *DtHa* die Abweichungen vom Mittelwert größer waren als in den Gruppen der mit 10 bzw. 100 TAM/Proband infizierten Forellen. Die größere Heterogenität dieser Parameter erklärt sich aus dem Umstand, dass die Ausprägung der klinischen Symptomatik der Drehkrankheit mit steigender Infektionsdosis bei den infizierten Individuen stark variierte. So litten manche der Regenbogenforellen, welche mit 1.000 bzw. 5.000 TAM infiziert worden waren, in dem Maße an der Symptomatik, dass die Futteraufnahme nur in sehr stark eingeschränktem Umfang möglich war: Durch die schnellen Drehbewegungen, welche die Tiere in Fütterungszeiten (=Stresssituationen) vollführten, konnte nur wenig Futter aufgenommen werden. Durch die Verformungen des Kiefers, welche bei einigen Individuen den Schluss der Maulspalte unmöglich machte, fielen oft die aufgenommenen Futterpellets wieder aus der Maulhöhle heraus. Gleiche Missgestaltungen beobachteten auch PLEHN (1904) und SCHÄPERCLAUS (1931). So stand den uneingeschränkt zur Futteraufnahme befähigten, teilweise klinisch völlig gesund wirkenden Beckengenossen relativ mehr Futter zur Verfügung als den Fischen der anderen niedrigeren Infektionsdosen, in denen die für jedes Becken gleich große Futtermenge gleichmäßiger unter den nicht so stark unter der Drehkrankheit leidenden Forellen verteilt wurde. Dadurch erreichten erstere größere Körpermaße als die Probanden der Gruppen niedrigerer Infektionskonzentrationen. Durch diesen Umstand, sowie durch die stark kümmernden wachstumsretardierten Probanden der 1.000 und 5.000 TAM-Fraktion entstanden die hohen Standardabweichungen in Gewicht und Größe. Diese Beobachtungen bestätigen Forschungsergebnisse von MARKIW (1992a), die herausfand, dass die Suszeptibilität für die Drehkrankheit auch innerhalb einer Fischpopulation stark variieren kann.

Auch in der II. und III. Infektion beeinträchtigten die durch die Drehkrankheit verursachten Deformationen einzelne Forellen des Stammes *AmTL* nachhaltig in der Futteraufnahme.

## 2.2.2 Infektionsprävalenz im Stammvergleich

Der Vergleich entsprechender Infektionsgruppen einzelner Stämme ergab nur bei 10 TAM/Fisch Unterschiede gemäß Chi-Square, da bei höheren Infektionsdosen jeden Stammes mindestens 60% der ausgezählten Probanden *Myxobolus cerebralis*-Sporen aufwiesen.

So ergaben sich in der mit 10 TAM/Fisch infizierten Gruppe leicht signifikante ( $P=0,05$ ) Unterschiede in der Infektionsprävalenz zwischen *DtHo* und *DtLh*, da bei *DtHo* nur zwei von 10 Probanden als infiziert einzustufen waren, bei *DtLh* dagegen acht. *DtHo* und der amerikanische Stamm differierten signifikant ( $P=0,014$ ) in dem erwähnten Parameter, da *AmTL* bereits in der Gruppe mit 10 TAM/Fisch eine Infektionsprävalenz von 90% aufwies.

## 2.2.3 Bewertung der Ergebnisse der quantitativen Sporenerfassung

### 2.2.3.1 I. Infektion

Die Auszählung der *Myxobolus cerebralis*-Sporen pro Kopf ergab bei einer Infektionsdosis von 10 TAM/Fisch keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Stämmen *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* ( $P=0,102$  bis  $0,652$ ). Die amerikanischen Forellen, welche nach *DtLh* die zweithöchsten Sporenkonzentrationen im Knorpel aufwiesen, unterschieden sich sehr hoch signifikant von *DtHo* ( $P=0,0006$ ), mit einem P-Wert von  $0,018$  signifikant von *DtHs* und leicht signifikant von *DtHa* ( $P=0,051$ ). Zwischen *DtLh* und *AmTL* konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ( $P=0,65$ ). Bei Stamm *DtLh* wurden an dieser Stelle mehr Parasitenstadien gezählt als bei *AmTL*, obwohl klinische Beobachtungen gleiche Symptomprävalenzen am Tag 100 (siehe Tabelle 13) ergab und die Infektionsprävalenz bei *AmTL* sogar leicht höher lag (Vgl. Tabellen 22 und 25). Diese Diskrepanz- auch zu den Ergebnissen höherer Infektionsdosen- kann entweder zufällig durch die Wahl der Probanden (es wurde jeweils 10 von 20 bzw. 22 noch lebenden Probanden verwertet) oder nach MARKIW (1992a) durch unterschiedliche Verteilung der Sporen im Wirtsgewebe verursacht worden sein. Diese Variable beeinflusst bei geringeren Größenordnungen stärker die Ergebnisse. Bei mit 100 TAM infizierten Regenbogenforellen hoben sich *DtLh* und *AmTL*, welche bezüglich der Sporendichte im Kopfknochen keine signifikanten Unterschiede untereinander aufwiesen ( $P=0,3451$ ), bereits deutlicher von den drei deutschen Stämmen *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* ab. Im Knochen der amerikanischen Regenbogenforellen konnten sich die meisten Parasitenstadien entwickeln. So waren sehr hoch signifikante Unterschiede zwischen *AmTL* und *DtHo* sowie *AmTL* und *DtHa* ( $P$  jeweils  $0,0001$ ) zu verzeichnen, hoch signifikante Unterschiede bestanden, wie

zwischen *AmTL* und *DtHs* ( $P=0,0099$ ). Veranschaulicht dargestellt finden sich diese Werte in Abb. 15.

Der Vergleich der drei deutschen Stämme untereinander ergab leicht signifikante Unterschiede zwischen *DtHo* und *DtHs* ( $P=0,062$ ) sowie *DtHs* und *DtHa* ( $P=0,066$ ). Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich beim Vergleich *DtHo* mit *DtHa* ( $P=0,977$ ).

Der sprunghafte Anstieg der Sporenkonzentration der mit 1.000 TAM pro Fisch infizierten *AmTL* verdeutlicht die Empfänglichkeit der amerikanischen Regenbogenforellen für die Drehkrankheit bei hohem Infektionsdruck. Den mit dieser Sporenkonzentration infizierten Regenbogenforellen ist besonderes Augenmerk zu widmen, da, wie bereits erwähnt, eine Infektionsdosis von 1.000 TAM/Fisch etwa dem natürlichen Infektionsdruck in den nordamerikanischen Gewässern (NEHRING und THOMPSON, 1998) entspricht. So unterschieden sich die Ergebnisse der quantitativen Sporenerfassung bei der amerikanischen Regenbogenforelle in sehr hoch signifikanter Weise von den drei deutschen Stämmen *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* ( $P=0,0001$ ). *DtLh*, der Stamm, der sehr jung infiziert worden war und bei niedrigerem Infektionsdruck Sporenmengen in ähnlichen Dimensionen wie die amerikanische Regenbogenforelle aufwies, blieb bei einer Sporenexpositionsdosis von 1.000 TAM deutlich hinter *AmTL* zurück (siehe Abb. 15). Von den drei deutschen Stämmen unterschied er sich jedoch auch sehr hoch signifikant ( $P=0,0001$ ); ein Umstand, der ebenfalls durch das junge Infektionsalter der *DtLh*-Forellen erklärbar ist.

In der Gruppe der mit jeweils 5.000 TAM infizierten Probanden finden sich ähnliche Tendenzen wie in niedrigeren Infektionsdosen. Eine Infektionsdosis von 5.000 TAM vermag bei *AmTL* hoch signifikant höhere Sporenkonzentrationen im Kopfknochen als bei *DtHo* ( $P=0,0014$ ) und *DtHa* ( $P=0,0036$ ) hervorzurufen, die Unterschiede zur Bachforelle ( $P=0,0001$ ) und zum Stamm *DtHs* ( $P=0,0009$ ) erwiesen sich als sehr hoch signifikant. *DtLh* und *AmTL* zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die Bachforelle, welche als ursprünglicher bzw. resistenterer Wirt für *Myxobolus cerebralis* eingestuft wird als die Regenbogenforelle (HOFER, 1903), entwickelte bei einer Infektionsdosis von 5.000 TAM/Fisch sogar mehr reife Parasitenstadien als die drei deutschen Regenbogenforellenstämme *DtHo*, *DtHs* und *DtHa*. Signifikante Unterschiede bestanden jedoch zu keinem der deutschen Stämme. Im Vergleich zu den amerikanischen Regenbogenforellen entwickelte die Bachforelle sehr hoch signifikant weniger Sporen. Mit diesen Ergebnissen werden die Resultate bisheriger Vergleichsstudien, in welchen ebenfalls amerikanische RBF als Fischmaterial verwendet wurden, bestätigt (HOFFMAN et al., 1962; HOFFMAN, 1970; HALLIDAY, 1976; O'GRODNICK, 1979).

#### 2.2.3.2 II. Infektion

Auch in der zweiten Infektion konnten sich bei *AmTL* die meisten Parasitenstadien entwickeln. So erwies sich hier die amerikanische Regenbogenforelle als sehr hoch signifikant empfänglicher für die Drehkrankheit als *DtHo* und signifikant empfänglicher als *DtHs*. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen *DtHo* und *DtHs* ( $P=0,227$ ).

#### 2.2.3.3 III. Infektion

Der dritte Infektionsversuch, welcher wiederum bei den amerikanischen Regenbogenforellen höhere Sporenkonzentrationen als bei den deutschen Regenbogenforellen hervorrief, gestaltet sich in der GLM-Prozedur wie folgt: Sehr hoch signifikante Unterschiede bestehen zwischen *DtHo* und *AmTL* ( $P=0,0001$ ), hoch signifikante zwischen *DtHs* und *AmTL* ( $P=0,0211$ ). Die beiden deutschen Stämme unterschieden sich in signifikanter Weise voneinander ( $P=0,011$ ).

#### 2.2.3.4 Feldexperiment

Im Stammesvergleich ähnelt der Feldversuch tendenziell den Laborversuchen höherer Infektionsdrücke. Auch hier konnten bei *DtHo* die wenigsten Parasiten das Stadium der reifen Spore erreichen. Die amerikanischen zeigten sich als der empfänglichste Stamm vor *DtLh* und der Bachforelle. Diese Ergebnisse widersprechen erneut den Resultaten von bisher durchgeführten Vergleichsstudien, in welchen die Bachforelle als natürlicher Wirt für *Myxobolus cerebralis* weniger Sporen als die Regenbogenforelle entwickelte (HOFFMAN et al., 1962; HOFFMAN, 1970; HALLIDAY, 1976; O'GRODNICK, 1979).

#### 2.2.3.5 Stammvergleich der Sporendichte im Knorpel

In den Infektionsdosen 10 und 1.000 TAM/Fisch sowie in der II. und III. Infektion und im Feldexperiment erwies sich *DtHo* als der resistenteste Stamm bezüglich der quantitativen Sporenerfassung.

*DtLh* erwies sich als der anfälligste unter den deutschen Stämmen (Siehe Abb. 45). Wieder in Relation zum Infektionsalter gesetzt, ist jedoch beachtlich, dass sich im Vergleich zu den amerikanischen Forellen vor allem bei hohem Infektionsdruck bei diesen Forellen weniger

*Myxobolus cerebralis*-Sporen entwickelten, obwohl die amerikanischen Regenbogenforellen bei der Infektion deutlich älter waren als die *DtLh*-Forellen.

Der Stamm *DtHs* wies bei 10 und 5.000 TAM/Fisch die geringste Sporendichte im Knorpel auf, bei den mittleren Infektionskonzentrationen lag er jeweils zwischen *DtHo* und *DtHa*.

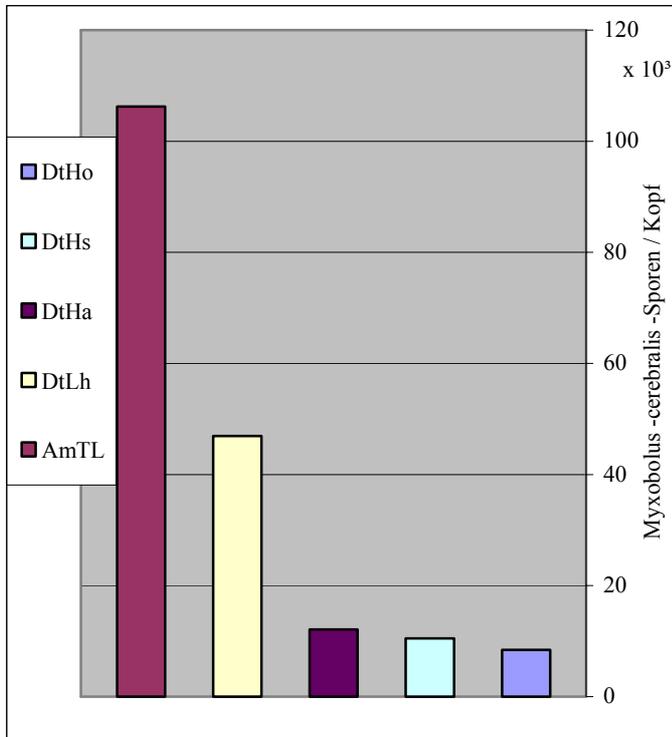
Wie aus Abb. 15 ersichtlich, konnten in der zweiten und dritten Infektion bei *DtHs* mehr Sporen im Vergleich zum anderen deutschen Stamm, jedoch weit weniger (6,4x) als bei *AmTL* gezählt werden.

Im Vergleich zu den anderen Stämmen erwies sich *DtHa* bei einer Konzentration von 100 TAM/Fisch als der Stamm mit der niedrigsten Sporenkonzentration. In den anderen Infektionsdosen stellte er sich jeweils an die dritte Stelle vor *DtHs* und *DtHo*.

Ab einer Infektionsdosis von 100 TAM/Fisch konnten bei den amerikanischen Regenbogenforellen die meisten Parasitenstadien das Sporenstadium erreichen (siehe Abb. 15). So wurden in der 1.000 TAM Gruppe durchschnittlich 15,1 x mehr Sporen detektiert als bei *DtHo*, *DtHa* und *DtHs*, und in der mit 5.000 Sporen infizierten Gruppe 5,9mal mehr. Auch in der zweiten und dritten Infektion konnten die meisten Sporen jeweils bei den amerikanischen Forellen aufgefunden werden (siehe Abb. 15).

Die Bachforelle, welche von HOFFMAN et al. (1962), HOFFMAN (1970), HALLIDAY (1976) und O'GRODNICK (1979) als ursprünglicher und daher resistenterer Wirt als die Regenbogenforelle für *Myxobolus cerebralis* eingestuft wird, entwickelte bei einer Infektionsdosis von 5.000 TAM/Fisch mehr reife Parasitenstadien als die drei deutschen Regenbogenforellenstämme *DtHo*, *DtHs* und *DtHa*. Signifikante Unterschiede bestanden jedoch zu keinem der deutschen Stämme. Dies kann dadurch begründet werden, dass bei den Untersuchungen der erwähnten Autoren keine deutschen Regenbogenforellenstämme als Vergleichsmaterial verwendet wurden. Im Vergleich zu den amerikanischen Regenbogenforellen entwickelte die Bachforelle auch im Rahmen dieser Dissertation nämlich sehr hoch signifikant weniger Sporen. Zusammenfassend kann demnach festgestellt werden, dass der amerikanische Stamm *AmTL* die Stellung des empfänglichsten Stamms bezüglich der Sporenentwicklung einnimmt (Siehe Abb. 46). Diese Tendenz verstärkt sich mit zunehmender Infektionsdosis, eine Beobachtung, welche auch HEDRICK et al. (1999) bei Vergleichsstudien von Regenbogenforellen mit Bachforellen machen konnte. Um einen Überblick über die Stammhierarchie zu bekommen, wurden Mittelwerte aller gezählten Sporen der ersten Infektion gebildet und miteinander verglichen (Siehe Abbildung 46). Hieraus ist deutlich ersichtlich, dass die Stämme *DtHo*, *DtHa* und *DtHs* eindeutig weniger Sporen

im Kopfknochen aufweisen als *DtLh* und *AmTL*, welcher deutlich mehr Sporen entwickelte als alle anderen Stämme.



**Abb. 46: Hierarchische Gliederung der einzelnen Stämme der ersten Infektion bezüglich der *Myxobolus cerebralis* Konzentration im Kopfknochen**

#### 2.2.4 Bewertung der Ergebnisse der histologischen Untersuchung

Vergleicht man die Anzahl der Parasiten, die das Sporenstadium erreichen konnten, mit der Bewertung der histopathologischen Veränderungen nach der MacCONNELL-BALDWIN Numerical Scale, so fallen deutliche Parallelen auf. Eine Korrelationsanalyse (hierbei wurden sämtliche Einzelwerte der Ergebnisse der Sporenzählung mit den Einzelwerten der histopathologischen Beurteilung verglichen) ergab signifikante (Stamm *DtHo*,  $P=0,0044$ ) bis hochsignifikante (Bachforelle,  $P=0,0005$ ) Korrelationen für die Parameter "Sporenanzahl" im Knochen und "Histograd" ( $^{\circ}H$ ). Beurteilt wurde die Wirtsreaktion nach Anzahl und Ausprägung der Nekroseherde, und der Menge der assoziierten Entzündungszellen und deren Ausbreitung in umliegendes Gewebe (Siehe Material und Methoden Pkt. 2.5.3.2.) Die histopathologische Beurteilung der Regenbogenforellen im Rahmen dieser Korrelationsanalyse ergab eine proportional zur Infektionsdosis und Sporenkonzentration im Knochen anwachsende Wirtsreaktion. Diese

verhältnisgleich zu den Sporenkonzentrationen anwachsende Ausprägung der Knorpelläsionen bei der Regenbogenforelle erkannten auch HEDRICK et al. (1999) in ihren Untersuchungen. Für die Autoren implizieren diese Ergebnisse, dass das granulomatöse Entzündungsgeschehen, welches meist mit dem Parasiten assoziiert ist, den Parasiten nicht effizient abzuschwächen oder gar aufzuhalten vermag. In diesen Untersuchungen von HEDRICK et al. (1999a) wurden ebenfalls Bachforellen- jedoch mit mehreren verschiedenen Konzentrationen von *Triactinomyxon*-Sporen infiziert. Hier konnte keine signifikante Relation der Infektionsdosis zur Sporenkonzentration im Knorpel festgestellt werden, da die Sporenanzahl nicht proportional zur Infektionsdosis anstieg, sondern bei 10.000 Sporen/Kopf generell eine Art Plateau fand. Eine größere Präsenz an Entzündungszellen in Nerven- und Knorpelgewebe der Bachforelle verglichen mit Regenbogenforellen sind für die Autoren ein Hinweis darauf, dass diese zelluläre Komponente des Immunsystems bei der Bachforelle auf effektivere Weise den Parasiten abzuschwächen vermag als bei der Regenbogenforelle. Eigene Untersuchungen, bei welchen die Bachforellen mit nur einer Infektionsdosis infiziert wurden, ergaben hier eine höhere Einstufung bezüglich des Histogrades als bei *DtHo* (siehe Abb. 18), jedoch auch eine höhere *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration. Im Vergleich mit allen anderen Stämmen dieser Infektionsdosis fanden sich bei der Bachforelle dagegen weniger ausgeprägte Wirtsreaktionen, obwohl die Stämme *DtHs* und *DtHa* mehr Sporen im Knorpel aufwiesen. Somit können im Rahmen dieser Dissertation die von HEDRICK et al. (1999a) festgestellten Gesetzmäßigkeiten (Mehr detektierte Entzündungszellen bei der Bachforelle limitieren die Anzahl der Sporen) nicht in dem Umfang bestätigt werden. Zu bedenken bleibt jedoch, dass in den erwähnten Untersuchungen nur Fischmaterial amerikanischer Herkunft verwendet wurde. Verglichen mit der amerikanischen Regenbogenforelle waren in diesem Dissertationsprojekt deutlich weniger Sporen sowie eine geringere Wirtsreaktion bei der Bachforelle zu verzeichnen. Diese Ergebnisse geben Anlass zu der Annahme, dass zusätzliche humorale oder zelluläre Komponenten des Immunsystems den Erreger der Drehkrankheit bei der Bachforelle wirksam abzuschwächen vermögen. Diese Vermutung hegen auch HEDRICK et al. (1999a) in den erwähnten Untersuchungen.

#### 2.2.4.1 I. Infektion

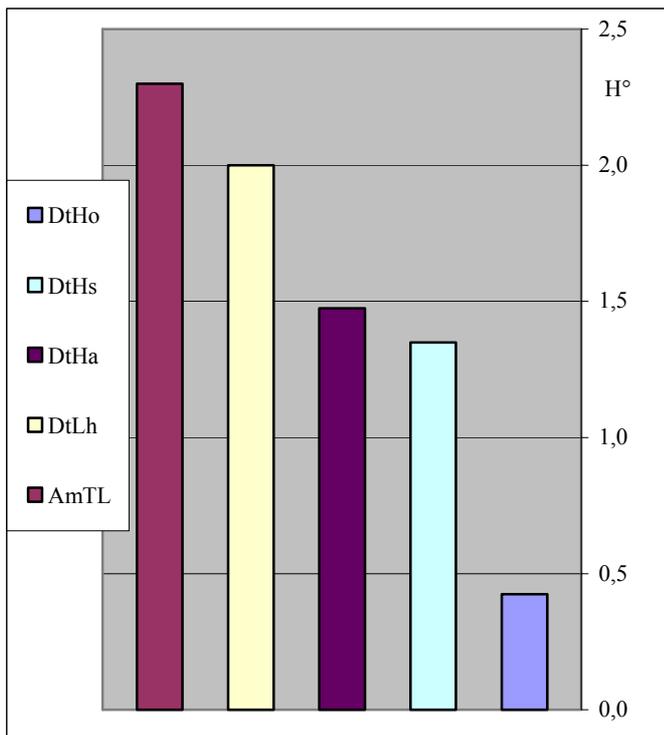
Bei geringem Infektionsdruck von 10 TAM/Fisch erwiesen sich die beiden deutschen Stämme *DtHo* und *DtHa* als die Stämme mit der geringsten Wirtsreaktion. *DtLh* und die amerikanischen Regenbogenforellen wiesen bereits deutlichere Entzündungsreaktionen und Nekrosen auf, während *DtHs* zwischen den erwähnten Stämmen rangierte.

Während eine Verzehnfachung der Infektionsdosis bei *DtHa* keine Veränderung in der histopathologischen Bewertung auszulösen vermochte, konnte bei den anderen Stämmen eine stärkere Reaktion auf den Parasiten diagnostiziert werden. *DtHo* zeigte sich hier mit einem Histogramm von 0,3 °H als reaktionsträge im Vergleich zu *DtHs*, *DtLh* und vor allem *AmTL*, welcher sich bei 100 TAM als der Stamm mit der stärksten Wirtsreaktion (1,9°H) erwies.

Bei einer Infektionsdosis von 1.000 TAM/Fisch erwies sich *DtHo* als der Stamm mit der geringsten Wirtsreaktion. Die *DtHa*-Forellen, bei welchen niedrigere Infektionsdosen nur verhältnismäßig wenig Wirtsreaktion auszulösen vermochten, musste hier deutlich höher eingestuft werden und rangierte zwischen *DtLh* und *AmTL*, welche wiederum am deutlichsten ausgeprägte Entzündungsreaktionen zeigten.

Auch in der mit jeweils 5.000 TAM infizierten Gruppe konnte *DtHo* als der Stamm eruiert werden, welcher Nekroseherde mit der geringsten Ausprägung und Leukozyteninfiltrationen mit kleinster Ausbreitung aufwies. Auch waren bei vielen untersuchten Forellen große Gebiete der Knorpeltextur ohne erkennbare Schäden. Mit einem ermitteltem Histogramm von 0,9 °H zeigte *DtHo* weniger Wirtsreaktion als die Bachforelle. Die Stämme *DtLh*, *DtHa* und *AmTL* rückten näher zusammen als bei einer Inf.-Dosis von 1.000 TAM, auch hier erwies sich der amerikanische Stamm als der mit der stärksten Wirtsreaktion. Häufig war keine physiologische Knorpelarchitektur mehr erkennbar, massive Leukozytenansammlungen waren immer mit den *Myxobolus cerebralis*-Sporen vergesellschaftet.

Um auch an dieser Stelle eine hierarchische Gliederung der einzelnen Regenbogenforellenstämme bezüglich der Bewertung der Histopathologie vornehmen zu können, wurde in Abb. 47 die Summe sämtlicher Mittelwerte der Histogramme der ersten Infektion gebildet. Stellt man diese Abbildung den Mittelwerten der Ergebnisse der quantitativen Sporenzählung (Abb. 46) gegenüber, wird die enge Korrelation zwischen dem Grad der histopathologischen Veränderungen und der Anzahl der detektierten reifen Sporen im Knorpel der erkrankten Forellen deutlich.



**Abb. 47: Hierarchische Gliederung der einzelnen Stämme der I. Infektion bezüglich der histopathologischen Bewertung in Histograden (°H).**

#### 2.2.4.2 II. und III. Infektion

In der II. und III. Infektion war jeweils *AmTL* der Stamm mit der deutlichsten Wirtsreaktion, und sowohl bei *AmTL* als auch bei *DtHo* wiesen die Forellen des II. und die des III. Infektionsversuchs den gleichen Histograd auf. Erstaunlicherweise zeigte *DtHs* bei den älteren Forellen sogar eine stärkere Wirtsreaktion. Vergleicht man in diesem Zusammenhang die Sporenkonzentrationen, fällt eine Reduktion der Sporenanzahl bei allen drei Stämmen im Vergleich II. zu III. Infektionsversuch bei gleich bleibender Wirtsreaktion auf. Eventuell ist die ältere Forelle besser in der Lage, durch Entzündungsreaktionen die Sporen zu eliminieren. Diese Ergebnisse decken sich mit den Aussagen von HOFMAN et al. (1962) und PUTZ und HOFFMAN (1966), die bereits erkannten, dass *Myxobolus cerebralis* selektiv den Knorpel als Zielorgan auswählt und die Drehkrankheit aus diesem Grunde vor allem junge Salmoniden betrifft.

#### 2.2.4.3 Feldexperiment

Im Feldversuch konnten bei *DtHo* und bei der Bachforelle keine mit *Myxobolus cerebralis* verbundenen histopathologischen Abweichungen aufgefunden werden.

Die amerikanischen Regenbogenforellen zeigten mit einem Histograd von 0,5°H wiederum die deutlichste Entzündungsreaktion vor *DtLh* (0,3°H). Dieses Ergebnis lässt eine Parallelenziehung zu den Ergebnissen der quantitativen Sporenerfassung zu.

## 2.3 Differentialblutbilder

### 2.3.1 Stammvergleich im Rahmen der I. Infektion

Im Diskussionsteil werden nur relevante Auffälligkeiten einzelner Stämme bzw. proportionale Veränderungen des Differentialblutbilds zur Infektionsdosis besprochen.

Wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, war bei Stamm *DtHo* das Verhältnis zwischen stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten in den Infektionsdosen 10 und 100 TAM/Fisch ausgewogen, die Regenbogenforellen, welche mit 1.000 bzw. 5.000 TAM infiziert worden waren, zeigten eine Linksverschiebung. Die Funktion des segmentkernigen Granulozyten ist bis heute nicht restlos geklärt. Sie nehmen an Entzündungsgeschehen teil und ihnen werden phagozytotische Eigenschaften zugesprochen (ELLIS et al. 1989). Eine Linksverschiebung könnte also durch das Abwandern der älteren Granulozyten in infiziertes Gewebe erklärt werden. Diese Korrelation zwischen steigender Infektionsdosis und abnehmender Prozentzahl segmentkerniger Granulozyten konnte bei anderen Stämmen nicht in der Form festgestellt werden. Stamm *AmTL* zeigte in der höchsten Infektionsgruppe eine deutliche Linksverschiebung, die anderen Infektionsdosen ließen jedoch keine Gesetzmäßigkeiten erkennen.

### 2.3.2 Gegenüberstellung der I., II. und III. Infektion

Beim Vergleich der Differentialblutbilder der Stämme, die an allen drei Infektionsversuchen teilgenommen haben, sind Regelmäßigkeiten festzustellen. So fällt auf, dass die Lymphozytenfraktion bei den später infizierten Regenbogenforellen größer ist als bei vergleichsweise jung infizierten Fischen. Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von DENSMORE et al. (1999) überein, welche herausfand, dass infizierte Forellen eine erniedrigte Gesamtleukozytenzahl aufweisen. Eine ebenfalls verringerte Lymphozytenzahl führen die Autoren auf die Tatsache zurück, dass die Lymphozytenfraktion einen Großteil der Leukozyten beim Fisch darstellt. Diese Werte liegen wahrscheinlich einer vermehrten endogenen Corticosteroidproduktion

drehkranker Fische zugrunde. Eine Lymphopenie kann allgemein als ein Charakteristikum eines sog. Stressleukogramms angesehen werden. Sie wird durch einen erhöhten Kortisolspiegel hervorgerufen und kann auch direkt in Verbindung mit einer Immunantwort auf ein Pathogen vorkommen (CAMPBELL, 1988; STOSKOPF, 1993).

Die konstatierte Hyperglykämie und die erhöhte Infektanfälligkeit drehkranker Fische kann, falls Parallelen zum Säugetier bestehen, auf die gluconeogenetische bzw. immunsuppressive Wirkung der Hormone der Nebennierenrinde (Glucocorticoide) zurückzuführen sein (DENSMORE et al., 1999).

Eine entsprechende Beobachtung, also eine Verkleinerung der Lymphozytenfraktion mit steigender Infektionsdosis beim Vergleich der Stämme der ersten Infektion, konnte jedoch nicht gemacht werden.

## 2.4 Schlussfolgerung

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die empirische Beobachtung, nach welcher sich deutsche Stämme als signifikant resistenter gegen die Drehkrankheit zeigten, durch Infektionsversuche unter Laborbedingungen wissenschaftlich untermauert werden konnte. So erwiesen sich die deutschen Stämme *DtHo*, *DtHs* und *DtHa* als signifikant resistenter gegen die Drehkrankheit als die amerikanischen Regenbogenforellen.

Bis heute konnten keine amerikanischen Stämme ausfindig gemacht werden, die eine signifikante Resistenz gegen die Drehkrankheit aufweisen (HEDRICK et al., 1998; 1999b; DENSMORE et al., 2001). Begründet liegt dies wahrscheinlich darin, dass 50 Jahre der Koevolution der Regenbogenforelle mit dem Parasiten in den Vereinigten Staaten die Mechanismen der natürlichen Selektion noch nicht in dem Maße wirken ließen wie 110 Jahre in Deutschland.

Welche Faktoren die höhere Resistenz der deutschen Regenbogenforelle sowie der Bachforelle gegenüber der Drehkrankheit bedingen, ist bis heute ungeklärt. Korrelationsanalysen im Rahmen dieses Dissertationsprojektes ergaben, dass die Wirtsreaktion signifikant proportional zur Sporendichte im Knorpel sowohl bei der Bachforelle als auch bei den Regenbogenforellen ansteigt, und ihr somit keine den Parasiten limitierende Wirkung zugesprochen werden kann. Somit müssen andere, bisher unbekannte Mechanismen der zellulären oder humoralen Abwehr für die unterschiedliche Qualität der Krankheitsausprägung verantwortlich sein.

---

Durch die vergleichende Untersuchung der Differentialblutbilder konnten keine stammesbezogenen Unterschiede eruiert werden, durch welche eine unterschiedliche Empfänglichkeit verschiedener Regenbogenforellenstämmen in ausreichendem Maße erklärt werden könnte.

Die Auswanderung resistenter deutscher Regenbogenforellenstämmen könnte die Parasitenbürde von *Myxobolus cerebralis* in nordamerikanischen Gewässern entscheidend verringern. Resistenz gegenüber einer einzigen Krankheit stellt jedoch nur ein Kriterium dar, welches bedacht werden muss, wenn Tiere oder Pflanzen von einem komplexen Ökosystem in ein anderes verbracht werden sollen. Weiterführende Forschungsprojekte sollen daher die Resistenz dieser Regenbogenforellenstämmen gegenüber anderen Pathogenen, die vornehmlich in Nordamerika vorkommen eruiieren, sowie im Vorfeld klären, ob der Import von Eiern resistenter Regenbogenforellen aus Deutschland die dort beheimatete Fauna gefährden kann.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene deutsche und ein amerikanischer Regenbogenforellenstamm sowie Bachforellen mit *Myxobolus cerebralis*, dem Erreger der Drehkrankheit, infiziert.

Die Infektionsversuche gliederten sich in Laborexperimente und ein Feldexperiment. Die Laborexperimente beinhalteten drei zeitlich versetzte Infektionen mit ausgewählten Stämmen: Im Rahmen des ersten Infektionsversuch wurden fünf verschiedene Regenbogenforellenstämme (vier deutsche und ein amerikanischer) mit verschiedenen Infektionsdosen infiziert, der zweite und dritte jeweils zeitlich versetzte Infektionsversuch wurde mit der höchsten Infektionsdosis der ersten Infektion zur Bestimmung der Altersabhängigkeit von der Empfänglichkeit durchgeführt. Hier wurden je drei Regenbogenforellenstämme ausgewählt (zwei deutsche, ein amerikanischer). Im Feldversuch wurden zwei deutsche und der amerikanische Regenbogenforellenstamm sowie Bachforellen in einen mit *Myxobolus cerebralis* kontaminierten Teich eingesetzt.

Die Empfänglichkeit für die Drehkrankheit wurde anhand folgender Parameter bewertet:

Im klinischen Teil durch die Länge der Inkubationszeit sowie den Prozentsatz der klinisch erkrankten Probanden über einen Fünf-Monats-Zeitraum. Post mortem wurden die Infektionsprävalenz, die quantitative Erfassung der *Myxobolus cerebralis*-Sporenkonzentration im Kopfknochen, die Bewertung der durch die Wirtsreaktion und die Sporen hervorgerufenen pathologischen Veränderungen und das Erstellen eines Differentialblutbildes in die Beurteilung der Empfänglichkeit einbezogen.

Den empirischen Beobachtungen entsprechend erwiesen sich die deutschen Forellen als widerstandsfähiger gegen die Drehkrankheit als die amerikanischen.

So zeigten die amerikanischen Regenbogenforellen im klinischen Teil die kürzesten Inkubationszeiten und höchste Symptomprävalenzen, der deutsche Stamm *DtHo* erwies sich bei höherem Infektionsdruck bezüglich dieser Parameter als vergleichbar mit der Bachforelle. Die anderen deutschen Stämme rangierten zwischen den beiden ersterwähnten.

Laboruntersuchungen post mortem ergaben bei den amerikanischen Forellen höchste Infektionsprävalenzen. Deutlich zeigten auch die Ergebnisse der quantitativen Sporenerfassung und der histopathologischen Beurteilung der Wirtsreaktion, dass der amerikanische Stamm signifikant empfänglicher war als die deutschen Stämme. So entwickelten sich im Kopfknochen der *AmTL*-Regenbogenforellen bei einer dem natürlichen Infektionsdruck nordamerikanischer Gewässer entsprechenden TAM-Dosis die 25fache Anzahl reifer Parasitenstadien verglichen mit dem Stamm

*DtHo*. Ein proportionaler Anstieg der Wirtsreaktion zur Sporendichte im Knorpel impliziert, dass sie nicht in der Lage ist, den Parasiten wirksam abzuschwächen. Die granulomatösen Entzündungsvorgänge und assoziierten Nekrosen bedingen jedoch in hohem Maße den Grad der Krankheitsausprägung (Deformation und pathologisches Schwimmverhalten).

Die Tatsache, dass einer der deutschen Stämme (*DtLh*) bei allen Parametern eine Art Zwischenstellung zwischen den amerikanischen und den anderen deutschen Forellen einnahm, erklärt sich aus dem frühen Infektionszeitpunkt dieses Stammes, der aufgrund seines jungen Alters bei Sporenexposition dem Parasiten vergleichsweise mehr Zielgewebe zur Verfügung stellte als alle anderen Stämme. Seine Widerstandsfähigkeit ist somit generell ähnlich wie bei den anderen deutschen Stämmen einzustufen.

Die Ergebnisse der zeitlich versetzten Infektionen untermauerten tendenziell bisherige Forschungsergebnisse, nach denen die Empfänglichkeit der Regenbogenforelle mit zunehmendem Alter sinkt. Die unterschiedliche Empfänglichkeit der einzelnen Stämme blieb dabei erhalten. Die Erstellung eines Differentialblutbildes ergab keine verwertbaren Ergebnisse im Stammvergleich.

Der Feldversuch ergab, dass sich der deutsche Stamm *DtHo* bezüglich klinischer Ausprägung und quantitativer Sporenerfassung als widerstandsfähiger als die Bachforelle erwies. Auch hier waren die amerikanischen Forellen in klinischer Ausprägung, Sporenkonzentration und Wirtsreaktion am heftigsten von der Drehkrankheit betroffen.

Aufgrund dieser Ergebnisse können die deutschen getesteten Regenbogenforellen als deutlich widerstandsfähiger als die amerikanischen gegen den Erreger der Drehkrankheit, *Myxobolus cerebralis*, eingestuft werden. Der deutsche Stamm *DtHo* erwies sich als widerstandsfähigster Stamm gegen die Drehkrankheit.

## VII. SUMMARY

Investigation into the susceptibility of different strains of rainbow trout to *Myxobolus cerebralis*, the causative agent of whirling disease in salmonids

This study involved experimental infection of different strains of German rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), one American strain of rainbow trout, and brown trout (*Salmo trutta*) with the myxozoan parasite *Myxobolus cerebralis*, the causative agent of whirling disease.

Infection experiments had both laboratory and field components. The laboratory experiments were comprised of three stages. In the first stage, five different strains of rainbow trout (four German and one American) were exposed to different dosages of the triactinomyxon stage of *M. cerebralis*. Brown trout were included also in the highest dosage experiment. The second and third stages used the highest infection dose of the first stage to determine whether susceptibility to infection was age dependant. These two stages used three strains of trout (two German and one American). In the field experiment, three strains of rainbow trout (two German and one American strain) as well as brown trout were exposed to natural infection by *M. cerebralis* in a fish pond.

Susceptibility to whirling disease was gauged using the following two parameters:

(i) incubation time, and (ii) percentage of fish exhibiting clinical signs of the disease over a five month period.

Post-mortem investigation involved: (i) determination of prevalence of infection, (ii) quantitative measure of spores of *M. cerebralis* in the head cartilage of the fish, (iii) evaluation of the host's response to the parasite through histopathological changes, and (iv) quantitative measure of blood cell types.

The empirical results indicated that the German rainbow trout strains were less susceptible to whirling disease than the American strain. In the American strain, the disease had the shortest incubation time and lead to the most severe clinical symptoms. At higher dosages, the German strain *DtHo* was comparable to brown trout in the above parameters. Other German strains fell between these values.

In laboratory experiments, the American strain had the highest prevalence of infection. Quantitative spore count and histopathological assessments showed that the American strain was significantly more susceptible to the disease than the other strains. Indeed, the American fish had 25 times more spores develop in their head cartilage than the German strain *DtHo*, at a dosage comparable to that present naturally in infected waters in North America. In all trout strains and species, reaction of the

host was proportional to the number of spores in the cartilage, indicating that the host was ineffective at minimising the parasitic infection. Granulomatous inflammation and associated necrosis was responsible for the degree to which infected fish exhibited clinical signs of the disease (skeletal deformation and whirling behaviour).

One German strain (*DtLh*) exhibited consistently higher susceptibility across all parameters than the other German strains, but not as great as the American strain. However, these fish were exposed to the parasite at an earlier age when more cartilage is available for infection. It is supposed that had these fish been infected at the same age as the other German strains they would have exhibited a similar resistance to infection.

Results of the second and third stage experiments are generally consistent with those obtained in other studies by other research groups: ie. older rainbow trout are less susceptible. The pattern of susceptibility to infection for each of the different strains was same for stages two and three. Assessment of blood cell type revealed no meaningful data.

In the field experiment, the German strain (*DtHo*) showed the greatest resistance (as determined by clinical signs and spore count), even more so than brown trout. The American strain showed the greatest clinical response to the infection, had the highest spore count and most severe histopathological results.

This investigation demonstrated that German strains of rainbow trout possess significantly greater resistance to whirling disease than the American strain. The German strain *DtHo* was the most resistant strain overall.

## VIII. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destillata (=Destilliertes Wasser)
Aqua font.	Aqua fontana (=Leitungswasser)
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
DK	Drehkrankheit
EG	Eosinophile Granulozyten
EGZ	eosinophile granuläre Zellen
g	Gramm
GLM-Procedure	General Linear Models Procedure
°H	Histograd (keine allgemeingültige Abkürzung)
HE	Hämatoxin-Eosin
Hkt	Hämatokrit
kV	Kilovolt
l	Liter
MC	<i>Myxobolus cerebralis</i>
MHC	Mittlerer Hämoglobingehalt pro Erythrozyt
MCV	Mittleres Zellvolumen
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
mg	Milligramm
o. A.	ohne Angabe
RBF	Regenbogenforelle (n)
SD	Standarddeviation (=Standardabweichung)
SPF	spezifisch pathogenfrei
TAM	Triactinomyxonspore (n)
Tab.	Tabelle
Vgl.	Vergleiche
$\chi^2$	Chi-Square
z. B.	zum Beispiel

## IX. LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS, S. M. (1990)

Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish.  
American Fisheries Society Symposium **8**: 1-8

ALDERMAN, D. J. (1986)

Whirling disease chemotherapy.  
Bulletin of the European Association of Fish Pathologists **6**(2): 38-40

AMLACHER, E. (1992)

Tagebuch der Fischkrankheiten, 6. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena

AMIN, A.B.; MORTENSEN, L. und POPPE, T.T. (1992)

Blood and Lymph.  
In: A.B. AMIN, L. MORTENSEN und T.T. POPPE: Histology Atlas. Verlag Akvapatologisk  
Laboratorium AS, Bodo-Norway: 84-93

ANDERSON, D. P. (1990)

Immunological indicators: effects of environmental stress on immune protection and disease outbreaks.  
American Fisheries Society Symposium **8**: 38-50

ANDREE, K. B.; MacCONNELL, E. und HEDRICK, R. P. (1998)

A polymerase chain reaction test for detection of *Myxobolus cerebralis*, the causative agent of salmonid whirling disease in fish, and a comparison to existing detection techniques.  
Diseases of Aquatic Organisms **34**(2): 145-154

ANTONIO, D. B.; ANDREE, K. B.; McDOWELL, T. S. und HEDRICK, R. P. (1998)

Detection of *Myxobolus cerebralis* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and oligochaete tissues by using a nonradioactive *In situ* hybridization (ISH) protocol.  
Journal of Aquatic Animal Health **10**: 338-347

BALDWIN, T. J.; PETERSON, J. E.; MCGHEE, G. C.; STAIGMILLER, K. D.; MOTTERAM, E. und DOWNS, C. (1997)

Distribution of whirling disease, caused by *Myxobolus cerebralis*, in salmonid fishes in Montana. In: Whirling Disease Symposium: Expanding the Database. Whirling Disease Foundation: 19-26

BALDWIN, T. J.; VINCENT, E. R.; SIFLOW, R. M. und STANEK, D. (2000)

*Myxobolus cerebralis* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*) exposed under natural stream conditions.

Journal of Veterinary Diagnostic Investigations **12**: 312-321

BARTHOLOMEW, J. L.; BALDWIN, T.; HEDRICK, R.; KATHMAN, D.; McMAHON, T.; MacCONNELL, B.; MOFFITT, C.; NEHRING, B. und WINTON, J.; along with contributions from Karl Andree, Mary George, Susan Higgins, Terry McDowell, Todd Sandell, Kathryn Sweeney, Richard Vincent, Eric Wagner, Pete Walker, and John Wood (2001)

Standard protocols for whirling disease research, **1**. Standardized Protocols Advisory Committee, Whirling Disease Foundation, and Fish Health Section, American Fisheries Society. Whirling Disease Foundation, Bozeman, Montana.

BARTON, B. A. und IWAMA, G.K. (1991)

Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.

Annual Revue of Fish Diseases **1**: 3-26

BJORKMAN, P. J. und PARHAM, P. (1990)

Structure, function and diversity of class I major histocompatibility complex molecules.

Annual Revue of Biochemistry **90**: 253-88

BLAXHALL, P.C. und DAISLEA, K.W. (1973)

Routine haematological methods for use with fish blood.

Journal of Fish Biology **5**: 771-781

BLÜM, V.; CASADO, J.; LEHMANN, J. und MEHRING, E. (1988)

Farbatlas der Histologie der Regenbogenforelle.

Herausgeber: Landesanstalt für Fischerei Nordrhein-Westfalen, Springer-Verlag.

BOLLARD, B.A.; PANKHURST, N.W. und WELLS, R. M.G. (1993)

Effects of artificially elevated plasma cortisol levels on blood parameters in the teleost fish *Pagrus auratus* (Sparidae).

Comparative Biochemistry and PhysiologyA **106**: 157-162

BRANSON, E. (1993):

Basic anatomy and physiology. In: L. Brown (Hrsg.): Aquaculture for Veterinarians.

Pergamon Press, Oxford, New York, Seoul, Tokyo: 1-30

BRUNO, D.W. und MUNRO, A. L. S. (1986)

Haematological assessment of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and atlantic salmon, *Salmo salar* L.; infected with *Renibacterium salmoninarum*.

Journal of Fish Diseases **9**: 195-204

CAMPBELL, T. W. (1988)

Fish Cytology and Hematology.

The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Medicine **18** (2): 349-364

DEMMELE, E. (1999)

Untersuchungen zu Immunreaktionen von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) bei der Drehkrankheit der Salmoniden.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU München

DENSMORE, C. L.; BLAZER V. S.; CARTWRIGHT, D. D.; SCHILL, W. B.; SCHACHTE, J. H.; PETRIE C. J.; BATUR, M. V.; WALDROP, T. B.; MACK, A. und POOLER, P.S. (2001)

A Comparison of Susceptibility to *Myxobolus cerebralis* among Strains of Rainbow Trout and Steelhead in Field and Laboratory Trials.

Journal of Aquatic Animal Health **13** (3), Sept. 2001

- DENSMORE, C. L.; BLAZER, V. S.; WALDROP, T. B. und SCHILL, W. B. (1999)  
Physiological and morphological Parameters of juvenile Rainbow Trout infected with  
*Myxobolus cerebralis*  
5<sup>th</sup> Annual Whirling Disease Symposium, February 18-20: 27-29
- DEUFEL, J. und PÖLLNITZ, C. V. (1977)  
Zytdiagnostik von Krankheiten bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri* Richardson).  
In: H.-H. Reichenbach-Klinke (Hrsg.): Fisch und Umwelt. Beiträge zur Histopathologie der  
Fische.  
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York: 15-24
- DOGIEL, V. A.; PETRUSHEVSKI, G. K. und POLYANSKI, Y. I. (1970)  
Parasitology of fishes.  
Oliver and Boyd, London
- ELLIS, A. E. (1976)  
Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronecta platessa*.  
Journal of Fish Biology **8**: 143-156
- ELLIS, A. E. (1977)  
The leucocytes of fish: a review.  
Journal of Fish Biology **11**: 453-491
- ELLIS, A.E.; ROBERTS, R. J. und TYTLER, P. (1989)  
The Anatomy and Physiology of Teleosts.  
In: R.J. Roberts (Ed.): Fisch Pathology, 2. Aufl. Bailliere Tindall, London, Philadelphia,  
Sydney, Tokyo, Toronto: 27-30
- EL-MATBOULI, M. (1996)  
Biologie und Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* Hofer 1903 (Myxozoa).  
Habilitationsschrift aus dem Institut für Zoologie, Fischereibiologie und Fischkrankheiten der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

---

EL-MATBOULI, M.; FISCHER-SCHERL, T. und HOFFMANN, R. W. (1992a)

Present knowledge on the life cycle, taxonomy, pathology, and therapy of some *Myxosporea* spp. important for freshwater fish.

Annual Review of Fish Diseases **3**: 367-402

EL-MATBOULI, M. und HOFFMANN, R. W. (1989)

Experimental transmission of two *Myxobolus* spp. developing bisporogeny via tubificid worms.

Parasitology Research **75**(6):461-464

EL-MATBOULI, M. und HOFFMANN, R.W. (1991)

Prevention of experimentally induced whirling disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Fumagillin.

Diseases of Aquatic Organisms **10**: 109-113

EL-MATBOULI, M. und HOFFMANN, R. W. (1991a)

Effects of freezing, aging, and passage through the alimentary canal of predatory animals on the viability of *Myxobolus cerebralis* spores.

Journal of Aquatic Animal Health **3**: 260-262

EL-MATBOULI, M. und HOFFMANN, R. W. (1998)

Light and electron microscopic studies on the chronological development of *Myxobolus cerebralis* to the actinosporean stage in *Tubifex tubifex*.

International Journal for Parasitology **28**:195-217

EL-MATBOULI, M.; HOFFMANN, R. W. und MANDOK, C. (1995)

Light and electron microscopic observations on the route of the triactinomyxon-sporoplasm of *Myxobolus cerebralis* from epidermis into rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cartilage.

Journal of Fish Biology **46**: 919-935

EL-MATBOULI, M.; HOLSTEIN, T. W. und HOFFMANN, R. W. (1998)

Determination of nuclear DNA concentration in cells of *Myxobolus cerebralis* and triactinomyxon spores, the causative agent of whirling disease.

Parasitology Research **84**: 694-699

---

ELSON, K.G. (1969)

Whirling disease in trout.

Nature **223**: 968

FLOS, R.; REIG, L.; TORRES, P. und TORT, L. (1988)

Primary and secondary stress responses to grading and hauling in rainbow trout, *Salmo gairdneri*.

Aquaculture **71**: 99-106

FRIEDRICH, C.; INGOLIC, E.; FREITAG, B.; KASTBERGER, G.; HOHMANN, V.; SKOFITSCH, G.; NEUMEISTER, U. und KEPKA, O. (2000)

A myxozoan-like parasite causing xenomas in the brain of the mole, *Talpa europaea* L.; 1758 (Vertebrata, Mammalia)

Parasitology 2000 Nov; **121** Pt 5: 483-92

GRIFFIN, B. R. und DAVIS, E. M. (1978)

*Myxosoma cerebralis*: Detection of circulating antibodies in infected rainbow trout (*salmo gairdneri*).

Journal of the Fisheries Research Board of Canada **35**: 1186-90

HALLIDAY, M. M. (1973)

Studies on *Myxosoma cerebralis*, a parasite of salmonids.I. The diagnosis of infection.

Nordisk Veterinaermedicin **25**: 345-348

HALLIDAY, M. M. (1973b)

Studies of *Myxosoma cerebralis*, a parasite of salmonids. The development and pathology of *Myxosoma cerebralis* in experimentally infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry reared at different water temperatures.

Nordisk Veterinaermedicin **25**: 349-358

HALLIDAY, M. M. (1974)

Studies on *Myxosoma cerebralis*, a parasite of salmonids. IV. Preliminary immunofluorescent investigation of the spores of *Myxosoma cerebralis*.

Nordisk Veterinaermedicin **26**:173-179

HALLIDAY, M. M. (1976)

The biology of *Myxosoma cerebralis*: the causative organism of whirling disease in salmonids.

Journal of Fish Biology **9**: 339-357

HANSEN, J. D.; STRASSBURGER, P. und DU PASQUIER, L. (1996)

Conservation of an  $\alpha 2$  domain within the teleostean world, MHC class I from the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*.

Dev. Compendium of Immunology **20**: 417-425

HEDRICK, R.P.; EL-MATBOULI, M; ADKISON, M.A. und MacCONNELL, E (1998)

Whirling Disease: Re-emergence among wild trout.

Immunological revue **166**: 365-376

HEDRICK, R. P.; MCDOWELL T. S.; GAY, M.; MARTY, G. D.; GEORGIADIS, M. P. und MacCONNELL, E. (1999a).

Comparative susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and brown trout *Salmo trutta* to *Myxobolus cerebralis*, the cause of salmonid whirling disease.

Diseases of Aquatic Organisms **37**: 173-183

HEWITT, G. C. und LITTLE, R. W. (1972)

Whirling disease in New Zealand trout caused by *Myxosoma cerebralis* (Hofer, 1903) (Protozoa: Myxosporidia).

New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research **6**: 1-10

HNATH, J.G. (1988)

Whirling Disease in Michigan: A historical Perspective.

For: Whirling Disease Management in North America, an Emergency Conference. Denver CO. April: 12-14

---

HOFER, B. (1903)

Über die Drehkrankheit der Regenbogenforelle

Allgemeine Fischereizeitung **28**: 7-8

HOFFMAN, G. L. (1970)

Intercontinental and transcontinental dissemination and transfaunation of fish parasites with emphasis on whirling disease (*Myxosoma cerebralis*). In: Symposium on Diseases of Fisheries and Shellfish. Sniezko S. F. (ed)

American Fisheries Society 69-81

HOFFMAN, G. L. (1974)

Disinfection of contaminated water by ultraviolet irradiation, with emphasis on whirling disease (*Myxosoma cerebralis*), and its effect on fish.

Transactions of the American Fisheries Society **103**: 541-550

HOFFMAN, G.L. (1990)

*Myxosoma cerebralis*, a worldwide cause of salmonid whirling disease.

Journal of Aquatic Animal Health **2**: 30-37

HOFFMAN, G. L. und DUNBAR, C. E. (1961)

Studies on *Myxosoma cerebralis* (Hofer) Plehn (Protozoa: Myxosporidea) the cause of whirling disease of trout. Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, Abstract 53, August 27-31, Lafayette, IN.

Journal of Parasitology **47**(4, Section II): 29

HOFFMAN, G. L.; DUNBAR, C. E. und BRADFORD, A. (1962)

Whirling disease of trouts caused by *Myxosoma cerebralis* in the United States.

United States Fish and Wildlife Service, Special Scientific Report-Fisheries, **427**: 1-14

HOFFMAN, G. L. und PUTZ, R. E. (1969)

Host susceptibility and the effect of aging, freezing, heat, and chemicals on spores of *Myxosoma cerebralis*.

The Progressive Fish Culturist **31**: 35-37

HOFFMAN, G. L.; SNIESZKO, S. F. und WOLF, K. E. (1968)

Approved procedure for determining absence of viral hemorrhagic septicemia and whirling disease in certain fish and fish products.

U. S. Fish and Wildlife Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, West Virginia, Fish Disease Leaflet **9**

HOFFMANN, R. W.; EL-MATBOULI, M. und HOFFMANN-FEZER, G. (1991)

Nachweis von Antikörpern gegen *Myxobolus cerebralis* bei Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Fachgruppe Fischkrankheiten (Hrsg.) Tagung Schmiedefeld/Thüringen, 14.-16. 11. 1990: 135-139

HOFFMANN, R. W. und EL-MATBOULI, M. (1996)

Interactions between Hosts and Parasite in Whirling disease. In: Whirling disease Workshop Proceedings: Where do we go from here?

HOLLAND, J. W. und ROWLEY, A. F. (1998)

Studies on the eosinophilic granule cells in the gills of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.

Comparative Biochemistry and Physiology **120**: 321-328

HOUSTON, A. H. (1990):

Blood and Circulation. In: C.B. SCHRECK and P.B. MOYLE (Hrsg.): Methods for Fish Biology.

American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, U.S.A.: 273-334

JANISZEWSKA, J. (1955)

Actinomyxidia. Morphology, ecology, history of investigations, systematics, development.

Acta parasitologica Pollonia **2**: 405-443

KATZNELSON, H. und JAMIESON, C. A. (1952)

Control of Nosema Disease of honeybees with Fumagillin.

Science **115**: 70-71

KAUFMAN, J. F.; AUFRAY, C.; KORMAN, A. J.; SHACKELFORD, D. A. und STROMINGER, J. L. (1984)

The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex

Cell **36**: 1-13

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW, J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S.; XIAO, C.; DEVLIN, R. H.; FEIST, S. W.; HEDRICK, R. P.; HOFFMANN, R. W.; KHATTRA, L.; HALLETT, S. L.; LESTER, R. J. G.; LONGSHAW, M.; PALENZUELA, O. und SIDDAL, M. (2001)

Recent advances in our knowledge of the Myxozoa.

Journal of Eukaryotic Microbiology **48**: 395-413

KENT, M. L.; MARGOLIS, L. und CORLISS, J. O. (1994)

The demise of a class of protists: Taxonomic and nomenclatural revisions proposed for the protist phylum Myxozoa Grassé, 1970.

Canadian Journal of Zoology **72**: 932-937

KLEIN, J. (1986)

Natural History of the Major Histocompatibility Complex.

New York: J. Wiley & Sons

LAGLER, K. F.; BARDACH, J. E.; MILLER, R.R. und PASSINO, D. R. M (1977)

Ichthyology, **2**. Aufl.

John Wiley und Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto: 506

LEHMANN, J.; HAMERS, R. und STÜRENBERG, F.-J.(1994)

Hämatologie des Karpfen (*Cyprinus carpio* L.).

Landesanstalt für Fischerei NRW, Fischphysiologie und Fischkrankheiten

LEHMANN, J. und STÜRENBERG, F. J. (1981)

Die Auswertbarkeit von Blutparametern und Methoden zu ihrer Bestimmung in der Fischttoxikologie.

Fisch und Umwelt **9**: 25-50.

LEHMANN, J.; STÜRENBERG, F.-J. und MOCK, D. (1989)

Changes in the haemogram of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) following an experimental infection with a strain of *Aeromonas salmonicida salmonicida*.

In: K. LILLELUND und H. ROSENTHAL (Hrsg.): Contributions to the Canadian-German Cooperation Programme. Hamburg/Bonn, Bundesministerium für Forschung und Technologie: 259-284

LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. E.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINGFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J. und WALLACE, F. G. (1980)

A newly revised classification of the Protozoa.

Journal of Protozoology **27**: 37-58

LOM, J. (1987)

Myxosporea: a new look at long-known parasites of fish.

Parasitology Today **3**(11):327-332

LOM, J. und DYVOKA, I. (1992)

Protozoan Parasites of Fish **26**. Elsevier, Amsterdam.

LOM, J. und DYVOKA, I. (1995)

Myxosporea (Phylum Myxozoa).

In Woo (editor): Fish Diseases and Disorders, **1** Protozoan and Metazoan infections, CAB International, Wallington: 97-148

LOM, J. und NOBLE, E. R. (1984)

Revised classification of the myxosporea Bütschli, 1881.

Folia Parasitologica, Prague **31**: 193-205

LUTZ, U. (1992)

Bekämpfung der Drehkrankheit der Salmoniden mit dem Antibiotikum Fumagillin (DCH)

Inaugural-Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der LMU München

---

MANDOK, C. (1993)

Entwicklung von *Myxobolus cerebralis* (Myxozoa: Myxosporea) in der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*)

Inaugural-Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der LMU München

MARGOLIS, M. L.; KENT, M. L. und BUSTOS, P. (1996)

Diseases of salmonids resembling myxosporean whirling disease, and the absence of *Myxosoma cerebralis*, in South America.

Diseases of Aquatic Organisms **25**: 33-37

MARKIW M. E. (1992a)

Salmonid Whirling Disease.

U. S. Fish and Wildlife Service. National Fisheries Research Center, Leetown. National Fish Health Research Laboratory. Fish and Wildlife Leaflet **17**

MARKIW, M. E. und WOLF, K. (1974)

*Myxosoma cerebralis*: isolation and concentration from fish skeletal elements-sequential enzymatic digestions and purifications by differential centrifugation.

Journal of the Fisheries Research Board of Canada **31**: 15-20

MARKIW, M. E. und WOLF, K. (1978)

*Myxosoma cerebralis*: Fluorescent antibody techniques for antigen recognition.

Journal of the Fisheries Research Board of Canada **35**: 828-832

MARKIW, M. E. und WOLF, K. (1983)

*Myxosoma cerebralis* (Myxozoa: Myxosporea) etiological agent of salmonid whirling disease requires tubificid worm (Annelida: Oligochaeta) in its life cycle.

Journal of Protozoology **30**: 561-564

MARQUÈS, A. (1984)

Contribution à la connaissance des Actinomyxidies: Ultrastructure, cycle biologique, systematique.

Languedoc, Université des Sciences et techniques, Thèse de Doctorat d'Etat

---

MATTHEWS, J. (1995)

"Chasing Our Tails"

Trout, Spring 1995: 24

MODIN, J. (1998)

Whirling Disease in California: A Review of its History, Distribution and Impacts, 1965-1997.

Journal of Aquatic Animal Health **10**: 132-142

MOLNÁR, K. (1979)

*Myxobolus Pavlovskii* (myxosporidia) infection in the silver carp and bighead

Acta Veterinaria Hungarica **27**: 207-216

NAKASHINI, T. und OTOTAKE, M. (1997)

Antigen uptake and immune responses after immersion vaccination.

Developmental Biological Standards **90**: 59-68

NEHRING, R. B. und THOMPSON, K. G. (1998)

Assessment of the *Myxobolus cerebralis* myxospore load of fish collected in Colorado streams or held as sentinel fish in the Colorado river and an analysis of the degree days required for myxospore formation.

Proceedings Whirling Disease Symposium, Lory Student Center, Colorado State University Fort Collins, Colorado, Feb. 19-21: 47-52

NICKUM, D. (1999)

Whirling Disease in the United States: A Summary of Progress in Research and Management.

Trout Unlimited Jan. 1999

O'GRODNICK, J. und GUSTAFSON, C.C. (1973)

A study of the transmission, life history, and control of whirling disease of trout.

Federal Aid to Fish Restoration Progress Report, F-35-R-5; Commonwealth of Pennsylvania, Pennsylvania Fish Commission

O'GRODNICK, J. (1979)

Susceptibility of various salmonids to whirling disease (*Myxosoma cerebralis*). Trans American Fisheries Society **108**: 187-190

PAULEY, G. B. (1974)

Fish sporozoa: extraction of antigens from *Myxosoma cerebralis* spores which mimic tissue antigens of rainbow trout (*Salmo gairdneri*).

Journal of the Fisheries Research Board of Canada **31**: 1481-1484

PELETEIRO, M. C. und RICHARDS, R. H. (1990)

Phagocytic cells in the epidermis of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Diseases **13**: 225-232

PICKERING, A. D.; POTTINGER, T.G. und CHRISTIE, P. (1982)

Recovery of brown trout, *Salmo trutta* L.; from acute handling stress: a time-course study.

Journal of Fish Biology **20**: 229-244

PLEHN, M. (1904)

Über die Drehkrankheit der Salmoniden [*Lentospora cerebralis*, (Hofer) Plehn].

Archiv für Protistenkunde **5**:145-166

POWELL, M. D.; WRIGHT, G. M. und BURKA, J. F. (1991)

Degranulation of eosinophilic granule cells induced by capsaicin and substance P in the intestine of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum).

Cell Tissue Research **266**: 469-474

PUND, R. P. (1997)

Anwendung hämatologischer Untersuchungsmethoden für Fischblut und Beeinflussung des Blutbildes von Bachforellen (*Salmo trutta f. fario*) durch Haltungs- und Umwelteinflüsse sowie endogene Faktoren

Inaugural-Dissertation, Veterinärmedizinische Fakultät der Freien Universität Berlin

---

PUTZ, R. E. und HOFFMANN, G. L. (1970)

Transmission of *Myxosoma cerebralis* (whirling disease)

Progressive Sport Fisheries Research, 1970: 93-99

ROSE, J. D.; MARRS, G. S.; LEWIS, C. und SCHISLER, G. (2000)

Whirling Disease Behavior and its Relation to Pathology of Brain Stem and Spinal Cord in Rainbow Trout.

Journal of Aquatic Animal Health **12**: 107-118

ROWLEY, A.F. (1990)

Collection, separation and identification of fish leucocytes.

In: STOLEN, J.S.; FLETCHER, T.C.; ANDERSON, D.P.; ROBERSON, B.S. und VAN MUISWINKEL, W.B. (Hrsg.): Techniques in Fish Immunology.

Fish Immunology Technical Communications **1**. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, 1990: 113-136

RUANE, N. M.; NOLAN, D.T.; ROTLLAND, J.; COSTELLOE, J. und WENDELAAR BONGA, S.E. (2000)

Experimental exposure of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the infectious stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) influences the physiological response to an acute stressor.

Fish and shellfish immunology **10**: 451-63

RYCE, E.; MacCONNELL, E. und ZALE, A. (1998)

U.S. Fish and Wildlife Service Bozeman Fish Technology Center and Montana State University. Effects of age, dose, and environmental stress on the development of whirling disease in rainbow trout.

Whirling disease Symposium, Research in Progress Booklet, Feb.19-21: 33-36

SCHÄPERCLAUS, W. (1931)

Die Drehkrankheit in der Forellenzucht und ihre Bekämpfung.

Zeitschrift für Fischerei **29**: 521-567

---

SCHÄPERCLAUS, W. (1990)

Fischkrankheiten

5. Auflage, Akademie-Verlag, Berlin

SCHILL, W. B.; BLAZER, V. und DENSMORE, C. (2002)

Class I MHC Alleles from Shasta strain rainbow trout resistant to *Myxobolus cerebralis*.

USGS National Fish Health Laboratory, Leetown Science Center

Aus: Whirling Disease Symposium 2002 Proceedings

SCHISLER, G. J. und BERGERSEN, E. P. (1998)

The effect of electrofishing injury and *Myxobolus cerebralis* infection on fingerling rainbow trout.

Colorado Cooperative Fish and Wildlife Research Unit.

Aus: Whirling Disease Symposium: Research in Progress 1998: 93-98

SCHLEGEL, M.; LOM, J.; STECHMANN, A.; BERNHARD, D.; LEIPE, D.; DYKOVA, I. und SOGIN, M. L. (1996)

Phylogenetic analysis of complete small subunit ribosomal RNA coding region of *Myxidium lieberkuehni*: evidence that Myxozoa are Metazoa related to the Bilateria.

Archiv für Protistenkunde **147**: 1-9

SHUM, B. P.; GUETHLEIN, L.; FLODIN, L. R.; ADKISON, M. A.; HEDRICK R. P.; NEHRING, R. B.; STET, R. J.; SECOMBES, C. und PARHAM, P. (2001)

Modes of salmonid MHC class I and II evolution differ from the primate paradigm.

Journal of Immunology **166**: 3297-3308

SIDDALL, M. E.; MARTIN, D. S.; BRIDGE, D.; DESSER, S. S. und CONE, D. K. (1995)

The demise of a phylum of protests: phylogeny of myxozoa and other parasitic cnidaria.

Journal of Parasitology **8**: 961-967.

SIRE, M. F. und VERNIER, J.-M. (1995)

Partial characterization of eosinophilic granule cells (EGC's) and identification of mast cells in the intestinal lamina propria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biochemical and cytochemical study.

Biology of the Cell **85**: 35-41

SMOTHERS, J. F.; von DOHLEN, C. D.; SMITH, L. H. Jr. und SPALL, R. D. (1994)

Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans.

Science **265**: 1719-1721

STOSKOPF, M. K. (1993)

Clinical Pathology. In: Fish Medicine. (M. Stoskopf, Editor),

W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.: 113-131

TAYLOR, R. E. L.; COLI, S. J. UND JUNELL, D. R. (1973)

Attempts to control whirling disease by continuous drug feeding.

Journal of Wildlife Diseases **9**: 302-305

USPENSKAYA, A. V. (1955)

Biology, distribution and economic importance of *Myxosoma cerebralis*, the causative agent of whirling disease of trout.

Lectures of the Academy of Science USSR **105**: 1132-1135

VAN ERP, S.H.M.; DIXON, B.; FIGUEROA, F.; EGBERTS, E. und STET, R. J. M. (1996)

Identification and characterization of a novel MHC class I gene from carp (*Cyprinus carpio* L.).

Immunogenetics **44**: 49-61

VINCENT, D. (1996)

Whirling Disease, the Montana Experience, Madison River. In: Whirling Disease Workshop Proceedings: Where do we go from here? Bergersen, E.P and Knopf, B.A. (ed)

Colorado Cooperative Fish and Wildlife Research Unit: 159

---

WALKER, P.G. und NEHRING, R. B. (1995)

An investigation to determine the cause(s) of the disappearance of young wild rainbow trout in the upper Colorado River in Middle Park, Colorado.

Colorado Division of Wildlife Report, Denver

WEDEMEYER, G.A.; BARTON, B.A. und McLEAY, D. J. (1990)

Stress and acclimation. In: C.B. SCHRECK und P.B. MOYLE (Hrsg.): Methods for Fish Biology.

American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA: 451-477

WILLIAMS, R.W. und WARNER, M.C. (1976)

Some observations on the stained blood cellular elements of channel cat fish, *Ictalurus punctatus*.

Journal of Fish Biology **9**: 491-497

WOLF, K. und MARKIW, M. E. (1984)

Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts.

Science **225**: 1449-1452

WOLF, K.; MARKIW, M. E. und HILTUNEN, J. K. (1986)

Salmonid whirling disease: *Tubifex tubifex* (Müller) identified as the essential oligochaete in the protozoan life cycle.

Journal of Fish Diseases **9**: 83-85

WOLF, K.; MARKIW, M. E.; MACHADO, J.; CRUZ, M.; GALHANO H.; EIRAS J. und HERMAN, R. L. (1981)

Non-myxosporidan blacktail of salmonids.

Journal of Fish Diseases **4**: 355-357

## X. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas, die gute Betreuung und bei vielen Fragestellungen gewährte Unterstützung meinem Doktorvater Dr. Dr. habil. Mansour El-Matbouli meinen herzlichen Dank aussprechen.

Ein Riesendankeschön an meine Arbeitskollegen- und mittlerweile Freunde- Annabelle Culas, Mitchi Meixner und Sandy Heyer. Mit ungezählten schönen Gesprächen und ihrer Fröhlichkeit haben sie sich einen festen Platz in meinem Herzen erschlichen.

Nicht nur für ihre Nachhilfe in englischer Sprache und die vielen guten Ratschläge rund um den Computer, sondern auch für ihren Beitrag zu einem schönen und entspannten Arbeitsklima und zu effektiver Teamwork möchte ich an dieser Stelle meinen Freunden von „Down Under“, Dr. Sascha Hallett und Stephen Atkinson, ganz herzlich danken.

Für ihre Unterstützung in den statistischen Auswertungen und ihrer Engelsgeduld mit meinem ausgeprägten mathematischen Grundverständnis gilt mein aufrichtiger Dank Herrn Prof. Dr. Osterkorn, Herrn Stanglmeier und Herrn Dr. Wolf.

Mein Dank gilt auch Frau Heidrun Schöl vom Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU für ihre Unterstützung bei den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen.

Mit besonderer Freude denke ich an den „Schlachterttag“ zurück, an welchem mir mein Vater Dietmar Küppers, meine Kollegen Dr. Sascha Hallett, Stephen Atkinson, sowie André Hohenegger und Heike Adam tatkräftig halfen, das Leiden meiner Probanden für immer zu beenden, und hierfür einen ganzen Tag ihrer wertvollen Zeit opferten. Teamwork at it's best!!!!

Für das geduldige Korrekturlesen dieser Dissertation danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern, Michael Meixner und meinem Cousinchen Nina Lenssen.

Bei allen Institutsangehörigen, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen, bedanke ich mich ganz herzlich. Hier gilt mein Dank an erster Stelle Herrn Prof. Dr. Dr. Hoffmann für das

---

freundliche zur Verfügung stellen aller Einrichtungen und Gerätschaften des Instituts, Werner Hoedt für die tatkräftige Unterstützung bei der Vorbereitung der Aquarien und den vielen Fütterungen am Wochenende, Denise Ebenrecht für ihre Hilfe in der Histologie und Dr. Markus Baur für einfach nur da sein und Aufheitern in der Kaffeeküche.

Meinen beiden Arbeitgebern in der Rinderpraxis, Toni und Georg, danke ich ganz herzlich dafür, dass ich meine Arbeitszeiten so flexibel einteilen und dadurch die Doktorarbeit immer als erste Priorität einordnen konnte.

Für die immer gern gewährleistete moralische Unterstützung ein Riesendankeschön an meine beiden Lieblingsschwestern Anja und Viola und an alle meine Freunde.

Zu guter Letzt mein größter Dank an die besten Eltern der Welt... **für alles!!!**

---

## XI. LEBENS LAUF

### Persönliche Daten:

Name: Miriam Pia Küppers  
Geburtsdatum: 27.05.1974  
Geburtsort: Nürnberg  
Vater: Ernst Dietmar Küppers, chem. Dipl.-Ing.  
Mutter: Pia Küppers, geb. Lenssen, Hausfrau  
Geschwister: Anja Küppers, Rechtsanwältin  
Viola Haus, Dipl.-Graphik-Designerin

### Schulbildung:

1980- 1984: Grundschule "Institut der Englischen Fräulein" Nürnberg  
1984- 1985: Melanchthon-Gymnasium Nürnberg  
1985- 1994: Neues Gymnasium Nürnberg  
Mai 1994: Abitur

### Akademische Ausbildung:

1994- 1997: Studium der Tiermedizin an der Ludwig Maximilians  
Universität München  
Nov. 1997- März 1998: Studium der Tiermedizin an der Ecole Nationale Vétérinaire  
de Toulouse, Toulouse in Frankreich  
Mai 1998- Dez. 1999: Studium der Tiermedizin an der Ludwig Maximilians  
Universität München  
Dezember 1999: Abschluss mit Staatsexamen  
Approbation: Juni 2000  
Seit 2000: Promotionsstudium