

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

HALEGÉSZSÉGÜGYI DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATOKRA ALAPOZOTT KUTATÁSOK FŐBB HAZAI EREDMÉNYEI (1975–2003)

Készítette

Dr. Csaba György

Országos Állategészségügyi Intézet

2004

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Iskolavezető Dr. Rudas Péter
egyetemi tanár, az MTA doktora

Készült 8 példányban. Ez a ... sz. példány

.....
Dr Csaba György

TARTALOMJEGYZÉK

A kitűzött feladat tudományos előzménye és összefoglalása	1
A vizsgálatok anyaga és módszere	2
Protozoológiai vizsgálatok	2
Bakteriológiai vizsgálatok	3
Helmintológiai vizsgálatok	3
A témához tartozó saját közlemények jegyzéke	4
Az úszóhólyaggyulladás kórokozójának kimutatását megelőző vizsgálatok (a <i>Sphaerospora renicola</i> vérben élő alakjának fölfedezése)	6
Anyag és módszer	6
Eredmények	6
Az organizmus elektronmikroszkópos vizsgálata	7
Megbeszélés	7
A <i>Sphaerospora renicola</i> elkülönítése a ponty vérében előforduló egyéb organizmusoktól	8
A ponty úszóhólyag-gyulladás	13
Irodalmi áttekintés	13
Anyag és módszer	13
Eredmények	14
Az úszóhólyag protozoológiai vizsgálata (a <i>Sphaerospora renicola</i> fejlődési alakjai az úszóhólyagban)	14
A vese protozoológiai vizsgálata (A <i>Sphaerospora renicola</i> /synonyma: <i>S. angulata</i> / fejlődése a vesében)	16
A <i>Sphaerospora renicola</i> elkülönítése a Giemsa szerint festett veselenyomatokban észlelhető egyéb véglényektől	16
A <i>Dermocystidium</i> elkülönítése	16
A <i>Hoferellus cyprini</i> elkülönítése	16
Megbeszélés	17
Az amoeba első hazai kimutatása a díszhalak granulomatosisában	29
A pontyok téli bőrelváltozása	35
Natív és festett preparátumok	35
Szövetteni vizsgálatok eredményei	35
Az elektronmikroszkópos vizsgálatok eredménye	36
Megbeszélés	36

A kártétel csökkentésének lehetőségei	38
A pontyok fekélyes bőrgyulladásása és a kórokozó vizsgálata	49
Történeti áttekintés	49
Anyag és módszer	50
Eredmények	52
Megbeszélés	53
Összefoglalás	54

Irodalom jegyzék	65
Képek jegyzéke	73
Képek és ábrák készítői	77
Saját közlemények	
An unidentifiable extracellular sporozoan parasite from the blood of the carp	/2/
Ultrastructural observation on a carp blood parasite of uncertain taxonomic position - Fish, Pathogens and Environment in European Polyculture, Szarvas, 1981.	/6/
Studies into the possible protozoan aetiology of swimbladder inflammation in carp fry Fish Dis. - 1984.	/14/
Study of the postulated identity of <i>Hofferellus cyprini</i> (Doflein, 1898) and <i>Mitraspora cyprini</i> Fujita, 1912. Acta Veterinaria Hungarica, 1986.	/24/
Granulomatosis of common carp (<i>Cyprinus carpio</i> L.) Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. - 1986.	/31/
Septicaemia in silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> Val.) and bighead carp (<i>Aristichthys nobilis</i> Rich.) caused by <i>Pseudomonas fluorescens</i> - Fish, Pathogens and Environment in European Polyculture, Szarvas, 1981.	/34/
A pizstráng vörösszájbetegsége (Redmouth disease of Trout) Magyarországon. Magyar Állatorvosok Lapja 1991.	/43/
Observation on the causative agent of carp erythrodermatitis in Hungary Bull. - Off. int. Epiz. - 1980.	/47/
Some aspects of the histopathology of carp erythrodermatitis (CE) Fish Diseases, Third COPRAQ-session, ed. by Ahne, 1980.	/52/
Mykobakteriose der Fische I. Die Eigenschaften der aus Fischen isolierten Mykobakterienstamme Schweiz. Arch. Tierheilk. - 1979.	/58/
Mykobakteriose der Fische II. Massenerkrankung in einer <i>Macropodus opercularis</i> Zucht Riv. It. Piscic Ittiop. - 1982.	/62/
Új fonálféreg, az <i>Anguillicola crassus</i> megjelenése Magyarországon. Halászat, 1991.	/66/
Az <i>Anguillicola crassus</i> (Nematoda, Anguillicolidae) fonálféreg és szerepe az 1991. évi balatoni angolnapusztulásban. Magyar Állatorvosok Lapja, 1993.	/68/
Pathological and histopathological studies of the swimbladder of eels <i>Anguilla anguilla</i> infected by	/75/

Anguillicola crassus (Nematoda: Dracunculoidea) /
Dis. aquat. Org. - 1993.
Unknown organisms causing winter skin disease on
common carp (*Cyprinus carpio*). European Association
of Fish Pathologists VIII-th International /81
Conference „Diseases of Fish and Shellfish” /
Edinburgh, Heriot-Watt University 1997.

RÖVIDÍTÉSEK

EPC = Epitheloma Papulosum Cyprini sejtvonal
FHM = Fathead Minnow, egy amerikai halfajból készült
sejtvonal
PBS = Phosphate Buffered Salt Solutio

A KITŰZÖTT FELADAT TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYE ÉS ÖSSZEFOGLALÁSA

Hazánkban a halkórtani vizsgálatok az Állatorvosi Főiskola Kórbonctani Intézetében, Rátz István professzor munkásságával kezdődtek. Rátz professzor 1906-ban Intézetén belül Halkórtani Állomást létesített, ami közel 10 éven át eredményesen működött. Ebben az időben Betegh László állatorvos halak mycobacteriummal kapcsolatos közleménye (Betegh, 1910) is figyelemfelkeltő volt. Az I. világháború után a hal-egészségügyi feladatokat haltenyésztők és biológus szakemberek vállalták magukra. Közülük kiemelkedik Jaczó Imre munkássága, aki 1955-től az Állatorvosi Főiskolán, mint a Haltenyésztési Kutatóintézet munkatársa önálló tantárgyként oktatta a hal-betegségeket. A rendszeres állatorvosi diagnosztikai munka a 31/1961. (VIII.12.) Korm. számú rendelet alapján a hatósági állategészségügyi szolgálat feladatává tette a halbetegségek elleni védekezés irányítását (Ősz, 1963).

Az Országos Állategészségügyi Intézetben a Hal- és Méhkórtani Osztályt, ezen belül a halkórtani diagnosztikai munkát Buza László szervezte meg és irányította 1957-1980 között. Ebbe a diagnosztikai munkába kapcsolódtam be 1975-ben. Szerepem az osztály tevékenységének megfelelően a halkórtan különböző szakterületeinek művelésére terjedt ki, ezért módomban volt a vírusok, baktériumok, gombák és paraziták okozta betegségek területén - a diagnosztikai és tanácsadói munka mellett - kutatási feladatokat is elvégezni (publikációmra 2003-ig 213 hivatkozást kaptam).

Az alábbiakban az elmúlt 30 év diagnosztikai vizsgálataira alapozott kutatásaim főbb eredményeit foglalom össze.

Elsőként mutattam ki hazánkban a *Flexibacter columnaris* (Csaba-Békési, 1977), pisztrángok vörösszájbetegségét (red mouth disease) előidéző *Yersinia ruckeri* baktériumot (Csaba et al., 1991).

A busák *Pseudomonas fluorescens* szeptikémiáját a világon elsőként írtuk le (Csaba et al., 1981a).

A pontyok fekélyes bőrgyulladására bakteriális kóroktanára vonatkozó vizsgálataink (Csaba et al., 1980, 1981b) elsőként támasztották alá zágrábi kutatók hasvízkóról komplex kóroktanáról vallott felfogását (Fijan, 1972).

A díszhalak mycobacterosiával két közelményünk foglalkozott (Körmendy et al., 1979; Csaba et al., 1982).

Legjelentősebb eredményeim közé sorolom a nyálkaspórák egysejtűek (Myxosporea) területén tett felismeréseimet, így

a *Sphaerospora renicola* vérstádiumainak, a „Csaba-féle vérelősködő” első kimutatását (Csaba, 1976).

Ugyancsak ezen a vonalon sikerült új eredményeket elérni a pontyok úszóhólyag-gyulladására, a C-vérprotozoonok és a veseelősködő *Sphaerospora renicola* egy kórképként való összefoglalásában (Csaba et al., 1984).

A fenti téma megoldása segítette elő a *Hoferellus cyprini* fejlődési stádiumok felismerését, a jellegzetes téli spóraürítés kiderítését, s a *Hoferellus* genus azonosítását a *Mitraspora* genus-szal (Molnár et al., 1986).

Ugyancsak az úszóhólyag-gyulladással kapcsolatos kutatások hívták fel a figyelmet a pontyok (Kovács et al., 1986) és díszhalak granulomatózisára (Csaba és Rátz, 1994). Ezek a belső szervekben, de igen gyakran az úszóhólyagban megtelepedő élősködők mind a mai napig bizonytalan rendszertani helyű szervezetekként vannak számon tartva. Ebbe a körbe tartozik a ponty lépduzzanattal járó irodalomban nem szereplő kórképe, amit a fehérvérsejtekben élő, ismeretlen organizmus okoz (Csaba et al., 2003).

A fenti munkáktól témájában és metodikájában merőben eltérő kutatásra egy természetes vizekben fellépő és jelentős veszteségeket okozó betegség, az anguil-licolosis készített.

Az értekezés e témákból részletez néhányat. Így foglalkozom a nemzetközi reakció nyomán is legfontosabbnak tartott úszóhólyag-gyulladás etiológiájára végzett kutatásokkal. Fontosnak tartom a ponty téli bőrelváltozás kórképét, melynek gazdasági hatása napjainkban is nagy jelentőségű. E témát az Európai Halpatológusok Társasága, VII. Nemzetközi Konferenciáján, 1997-ben Edinburgh-ban adtam elő. Ezen kívül a ponty erythrodermatitis kóroktanára vonatkozó gyakorlatban folyamatosan hasznosuló vizsgálataimat is részletesebben ismertetem.

A vizsgálatok anyaga és módszere

A diagnosztikai munkát a halkórtanban nemzetközileg elfogadott bakteriológiai és parazitológiai módszerekkel (Bauer et al., 1969; Cowan, 1975; Schäperclaus, 1979; Roberts, 1982; és Macfaddin, 1978) végeztem.

A bakteriológiai és parazitológiai munkám során elért eredményeimet elsősorban egy a diagnosztikában régebben gyakran használt, de mára jórészt elfelejtett, sokak által korszerűtlennek tartott módszer következetes alkalmazásával értem el. Ez a módszer a lenyomati készítmények Giemsa szerint történő festése. E festés, mivel az egysejtű parazitákat metachromasiás festődésük révén a környezetükből kiemeli, a parazitológiai munkában elengedhetetlen.

Külön kiemelem a fekélyes bőrgyulladás kórokozójának, az *Aeromonas salmonicida* forma achromogenesnek az izolálási technikáját. Ez a baktérium a konvencionális 24 órás bírálati módszerekkel nem detektálható, mert a fekélyekben mindenkor jelen lévő *A. hydrophila* baktériumok a lassan fejlődő kórokozót túlnövik. Ugyanakkor a fekélyek kivörösödött széléről vett mintában a kórokozó a tipikus tünetek jelentkezése esetén az esetek többségében kimutatható.

A vizsgálati anyag a rutin diagnosztikai vizsgálatra beérkezett vagy kiszállítás során begyűjtött halminta volt. A halakat parazitológiai, bakteriológiai, kórbonctani és kórsvetettani, és szükség esetén ultrastruktúrális, valamint virológiai módszerekkel is vizsgáltuk. A vizsgálati módszerek közül újra hangsúlyozni kell a Giemsa-festés különös jelentőségét e munkában.

Protozoológiai vizsgálatok

1975-ben felfigyeltem arra, hogy a melegvérű állatok esetében bevált Giemsa-festés a halkórtani diagnosztikai vizsgálatokban csak ritkán, alkalmoszerűen szerepel. Mivel a Giemsa-festés mind a protozoológiai, mind a bakteriológiai eredetű megbetegedések estében gyors eredménnyel szolgál, és az eredmény a tovább végzendő vizsgálatokat tekintve orientálja a vizsgálót, ezért a rutin munkában a mindennapok gyakorlatává tettem. A Giemsa-festést a vérkenetek és a szervlenyomatok rendszeres vizsgálatára egyaránt alkalmazni kezdtem. A festés rutinszerű alkalmazása nem várt eredményekkel szolgált: a ponty vérében addig ismeretlen véglényt találtam. Ennek magyarázatát abban látom, hogy a protozoológiai kutatások klasszikus korszakában a legfontosabb betegségek (malária, álomkór, leishmaniosis, babesiosis, stb.) tanulmányozásakor a kutatások tárgyát nem képezte a halak vizsgálata - ezek intenzív vizsgálata csak a 20 század második felére tehető. Ekkorra a Giemsa-festés módszere, a monoton mikroszkópos vizsgálat már nem tűnt elég korszerűnek a halak rendszeres vizsgálatában. Csak ezzel magyarázható az a tény, közleményem megjelenése után, az általam fölfedezett (Csaba, 1976, Bucsek és Csaba, 1981) - később a nemzetközi irodalomban Csaba body", „Csaba parazita”, „C protozoon” néven idézett - fejlődési alakot a körülöttünk lévő országok pontyaiban és pontyféléiben, sőt más földrészek Sphaerosporákkal fertőzött egyéb halfajaiban egyre többen megtalálták. A pontyvérben észlelt parazita a ponty elváltozást mutató szerveiből származó Giemsa szerint festett lenyomatainak vizsgálata-tára inspirált. E további vizsgálatok vezettek oda, hogy a korábban nyugati kutatók által vírus eredetűnek diagnosztizált úszóhólyag

gyulladásról bebizonyosodott, hogy a *Sphaerospora renicola* Myxozoa idézi elő (Csaba et al., 1984).

A Giemsa-festés alkalmazása segítette elő annak bizonyítását is, hogy a ponty húgyvezetékéből kimutatott *Mytrasporea cyprini* a *Hoferellus cyprini* synonymája (Molnár et. al., 1984). A Giemsa-festés járult hozzá a pontyok granulomatózisát előidéző *Dermocystidium* sp. megtalálásához is (Kovács et. al., 1986). E festést al-kalmaztam a díszhalak granulomatózisa kórokozója, egy amoeba faj kimutatására is (Csaba és Rátz, 1994), az általa előidézett kórkép és az amoeba kimutása az érteke-zésben szintén szerepel.

Az értekezésben a ponty úszóhólyag-gyulladás oktanát feltáró munkát részletesen ismertetem, beleértve azokat a betegségeket - a ponty lépduzzanatával járó új kórképet (Csaba et al., 2003), a ponty granulomatózist (Kovács et. al., 1986), melyek differenciál diagnosztikai szempontból lényegesek.

Részletesen ismertetem a pontyok téli bőrelváltozását és a betegség kóroktanában szerepet játszó egysejtűt (egysejtű gombát). Az organizmus tenyésztése eddig nem járt sikerrel, ezért a kísérletes vizsgálatok végzésére nem volt lehetőség.

Bakteriológiai vizsgálatok

A baktérium okozta megbetegedések közül a busák *Pseudomonas fluorescens* okozta septikémiájának (Csaba et al., 1981) felismerése szintén a Giemsa-festésnek köszönhető. Közrejátszott a festési módszer a pisztráng „vörösszáj” betegség (Csaba et al., 1991) kórokozójának gyors kimutatásában is.

A pontyok fekélyes bőrgyulladásából izolált *Aeromonas salmonicida* szerepét a betegség kiváltásában mesterséges fertőzéssel is igazoltuk (Csaba et al., 1980), továbbá vizsgálatokat végeztünk a betegség kórszövettani sajátosságaira vonatkozóan is (Kovács, et al., 1980).

A ponty erythrodermatitis kóroktanára vonatkozó gyakorlatban folyamatosan hasznosuló vizsgálati eredmények részletesebb ismertetését a betegség elterjedtsége és az általa okozott kár indokolja.

A hazai díszhalak vizsgálata során észlelt gümőkóros esetekből *Mycobacterium marinum*, *M. aquae*, *M. terrae*, *M. fortuitum*, *M. parafortuitum*, *M. smegmatis* baktériumok tenyészték ki (Körmendy et al., 1979; Csaba et al., 1982). A gümőkóros esetek részletezése a jelen értekezés szövegében nem szerepel, de a hivatkozott cikkek a Saját Közlemények között olvashatók.

Helminológiai vizsgálatok

Az *Anguillicola crassus* fonálférget 1990-ben találtuk meg a Balatonban és megfigyeléseink alapján felhívtuk a figyelmet, hogy a fertőzött angolna fokozott stressz helyzetekben elhullhat (Csaba et al., 1991). Az elhullás 1991-ben be is következett. Az 1991. évi angolnapusztulás során végzett vizsgálataink szerint az *A. crassus* az elhullásban kiemelt szerepet játszott. Egyidejűleg bizonyítottuk, hogy a feltételezett kémiai szennyeződésnek az akkori angolnapusztulásban szerepe nem volt. Az angolna által okozott patológiai és kórszövettani elváltozásokról külön is beszámoltunk (Csaba et al. 1993; Molnár et al., 1993). A téma részletezése a jelen értekezés szövegében nem szerepel, de a hivatkozott cikkek a Saját Közlemények között olvashatók.

A témához tartozó saját közlemények jegyzéke

Csaba Gy.: An unidentifiable extracellular sporozoan parasite from the blood of the carp, *Parasitologia Hungarica*, 1976. 9. 21-24.

Hivatkozások száma: 47 publikációs faktor: 2,5
impakt faktor:-

Bucsek, J. Mária, **Csaba, Gy.:** Ultrastructural observation on a carp blood parasite of uncertain taxonomic position, *Fish, pathogens and environment in European polyculture*, Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas, 1981. 111-122.

Hivatkozások száma: 14 publikációs faktor: 1
impakt faktor:-

Csaba, Gy., Kovacs-Gayer Éva, Békési, L., Bucsek Mária, Szakolczai, J., Molnár K.: Studies into the possible protozoan aetiology of swimbladder inflammation in carp fry, *J. Fish Dis.*, 1984., 7. 39-56.

Hivatkozások száma: 51 publikációs faktor: 6
impakt faktor:1,298

Kovács-Gayer, É., **Csaba, Gy.,** Békési, L., Bucsek, M., Szakolczai, J., Molnár, K.: Studies on the protozoan etiology of swimbladder inflammation in common carp fry, *Bull. Eur. Ass. Fish Path.*, 2. 22-24. (1982)

Hivatkozások száma: 15 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,67

Kovács-Gayer, É., **Csaba, Gy.,** Békési, L., Bucsek, M., Szakolczai, J., Molnár, K.: A pontyivadék úszóhólyaggyulladásának protozoon-etiológiájára vonatkozó vizsgálatok, *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1982. 37. (6) 405-406.

Hivatkozások száma: 4 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,444

Molnár, K., **Csaba, Gy.,** Kovács-Gayer Éva: Study of the postulated identity of *Hofferellus cyprini* (Doflein, 1898) and *Mitraspora cyprini* Fujita, 1912, *Acta Veterinaria Hungarica*, 1986. 34. (3-4.) 177-181.

Hivatkozások száma: 8 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,511

Kovács-Gayer Éva, **Csaba, Gy.,** Ráztz, F., Békési, L., Szakolczai, J.: Granulomatosis of common carp (*Cyprinus carpio* L.) *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 1986. 6. 72.

Hivatkozások száma: 2 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,67

Csaba, Gy., Prigli, Mária, Kovács-Gayer Éva, Békési, L., Bajmóczy, E., Fazekas, B. : Septicaemia in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and bighead carp (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens*, Fish, pathogens and environment in European polyculture, Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas, 1981., 111-122.

Hivatkozások száma: 4 publikációs faktor: 1
impakt faktor: -

Csaba Gy., Szokolczai J., Tóth Lászlóné: A pisztráng vörösszájbetegsége (redmouth disease) Magyarországon, Magyar Állatorvosok Lapja 1991. 46. 305-401.

Hivatkozások száma: - publikációs faktor: 4
impakt faktor: 0,184

Csaba, Gy., Körmendy, B., Békési, L.: Observation on the causative agent of carp erythrodermatitis in Hungary, Bull., Off. int. Epiz., 1980. 92. (9-10), 1047-1053.

Hivatkozások száma: 8 publikációs faktor: 3
impakt faktor: -

Kovács-Gayer Éva, Békési, L., **Csaba, Gy.**: Some aspects of the histopathology of carp erythrodermatitis (CE), Fish Diseases, Third COPRAQ-session, ed. by Ahne, 1980. 127-136.

Hivatkozások száma: 4 publikációs faktor: 3
impakt faktor: -

Körmendy, B., Tuboly, S., Bánki, M., **Csaba, Gy.**, Békési, L., Kovács-Gayer Éva: Mykobakteriose der Fische, I. Die Eigenschaften der aus Fischen isolierten Mykobakterienstamme, Schweiz. Arch. Tierheilk., 1979. 121., 201-205.

Hivatkozások száma: 2 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,444

Csaba, Gy., Kovács-Gayer Éva, Békési, L., Tuboly, S., Bánki Mária- Körmendy, B.: Mykobakteriose der Fische, II. Massenerkrankung in einer *Macropodus opercularis* Zucht, Riv. It. Piscic Ittiop., 1982. 17. (2.) 84-88.

Hivatkozások száma: 2 publikációs faktor: 3
impakt faktor: -

Csaba Gy., Láng Mária, - dr. Székely Csaba: Új fonálféreg, az *Anguillicola crassus* megjelenése Magyarországon, Halászat, 1991. 84. 66-67.

Hivatkozások száma: publikációs faktor: 0,5
impakt faktor: -

Csaba Gy., Láng Mária, Sályi G., Ramotsa Julianna, Glávits, R., Rátz F.: Az *Anguillicola crassus* (Nematoda, Anguillicolidae) fonálféreg és szerepe az 1991. évi balatoni angolnapusztulásban. Magyar Állatorvosok Lapja, 1993. 48. 11-21.

Hivatkozások száma: 2 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 0,444

Molnár, K., Baska, F., **Csaba, Gy.**, Glávits, R., Székely, Cs.: Pathological and histopathological studies of the swimbladder of eels *Anguilla anguilla* infected by *Anguillicola crassus* (Nematoda: Dracunculoidea) Dis. aquat. Org., 1993. 15. 41-50.

Hivatkozások száma: 30 publikációs faktor: 6
impakt faktor: 1,653

Csaba Gy., Rátz F.: "Véglények szerepe a díszhalak granulomatózisában" XVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, 1994. június 16.

Csaba Gy., Majoros Gábor és Láng Mária: „Lépduzzanattal járó elváltozás és egy ismeretlen organizmus pontyokban”

Akadémiai beszámoló, Állatorvostudományi Egyetem, 2003.
január 22.

Csaba Gy., Láng Mária, Rátz F.: „Unknown organisms causing winter skin disease on common carp (Cyprinus carpio)” VII-th International Conference “Diseases of Fish and Shellfish” Edinburgh, Heriot-Watt University, 14-19 September 1997.

Közülük a fontosabbakat fénymásolatban az értekezés végéhez csatoltam.

AZ ÚSZÓHÓLYAGGYULLADÁS KÓROKOZÓJÁNAK KIMUTATÁSÁT MEGELŐZŐ VIZSGÁLATOK

(A *Sphaerospora renicola* vérben élő alakjának felfedezése)

1975 nyarán a pontyivadék vérének alakos elemeit tanulmányozva egy addig ismeretlen, a haemosporidiumokra emlékeztető véglényt találtam.

Az édesvízi halak vérében Shulman (1962) szerint a *Haemogregarina* és a *Hepatozoon* nemekbe tartozó egysejtűek fordulnak elő. Becker (1970) és Manwell (1964) a *Dactylosoma* faj előfordulását is említik. Az édesvízi halakban előforduló *Haemogregarina* fajokkal behatóan Nawrotzky (1914) és Becker (1962) foglalkozott. A tengeri halak vérében előforduló egysejtűekről Kohl-Yakimoff és Yakimoff (1915), Laird és Bullock (1969) munkáiban több adat szerepel. Becker (1970) és Kudo (1954) a halak vérével foglakozó protozoológiai tárgyú kézikönyvei és Ollenschlager (1975) közleménye csak a hal vérében intracellulárisan előforduló sporozoákat említ. Lainson, Landau és Shaw (1974) a hüllők vérében is csak intracellulárisan előforduló sporo-zoákról tesz említést.

Szmirnova (1971) a pony véréből egy *Haemogregarina cyprini* sporozoa fajt írt le.

Anyag és módszer

1975. július és 1976. január között 15 halgazdaságból származó, mintegy 400 különböző korú ponty vérének vizsgáltam. A pontyok egy részéből a laboratóriumba érkezésük alkalmával azonnal, más részükből több hónapig tartó akváriumi tartásuk során ismételten vettem vérmintát. A vérkenet készítéséhez a vérmintákat három mód-szerrel, a farok átvágását követő véreztetéssel, a hal kiirtása után közvetlenül a szívből, és a farok vénába szúrt heparinózott kapillárisal nyertem. A levegőn megszárított vérkeneteket 96 %-os etilalkoholban 10 percig fixáltam, és Giemsa szerint (100 ml forralt desztillált vízhez 1,5 ml Giemsa törzsoldat) 16 órán át festettem. A natív vérmintákat fedőlemez alatt csaknem minden alkalommal megvizsgáltam.

Eredmények

A vizsgált 15 halgazdaságból 9-ben észleltem a vérélősködőt, a pontyivadék 70 %-ából kimutatható volt. A kimutatás sikerét a vérmintavétel módszere nem befolyásolta. Az organizmus a Giemsa szerint festett kenetekben a jellegzetes me-tachromasiás festődés alapján könnyen észlelhető. A natív preparátumokban a fedőlemez alatt, az élősködő sajátos mozgása alapján vehető észre. Ez a mozgás

nem amoeboid, inkább helyben táncoló, gyorsan vonagló jellegű. A mozgás leginkább olyan horpadt, lyukas gumilabdához hasonlítható, amelyen a horpadás élénken, gyors egymás-utánban változtatja helyzetét.

A festett készítményekben a paraziták 3-15 μm átmérőjű, kerekded képletek, szemcsés citoplazmájuk kékre festődik, magjuk rózsaszín, a magban halványkék nukleolusz figyelhető meg. A parazitában jól elkülönült, orsó alakú vagy kerekded képletek találhatóak, melyek száma 1-8 lehet. E képletek belső kettéosztódással jönnek létre. Az orsó alakú képletek szabadon sohasem láthatók a vérplazmában, mindig csak a parazitán belül fordulnak elő (1. kép).

Az élősködő legkisebb alakja 3 μm , magja 2,5 μm átmérőjű. A mag mellett sötétvörös, pontszerű szemcse látható, amelyből előbb tûszerûen vékony, majd telt orsó alakú képlet alakul ki, az idõközben 4 μm nagyságúvá váló parazitában. Az orsóforma két vége mélykék lesz, középen rózsaszínûre festõdõ maggal. Az 5-6 μm nagyságúvá nõvekvõ parazitában az orsó 1 μm széles, és hossza megegyezik a parazita átmérõjével. A 10 μm nagyságot elérõ parazitában az orsó lekerekedik, majd osztódik. Az osztódás során a parazitában 2, 4, 6, 8 orsó, illetve kerekded képlet jön létre. A 15 μm nagyságúvá vált képletekben az orsók lekerekednek, közben belsõ szerkezetük is átalakul, és alakjuk a kiindulásnál leírt képletre emlékeztet. Az észlelt fejlõdési alakokból logikus sorrend állítható össze (3. kép).

Az organizmus elektronmikroszkópos vizsgálata

A ponty vérében élõ parazita fénymikroszkópos vizsgálatok alapján extra-cellulárisnak tartott fejlõdését kívánatos volt elektronmikroszkópos vizsgálattal is igazolni.

Elektronmikroszkópos vizsgálatra a vérkenet vizsgálatokkal igazoltan erõsen fertõzött pontyivadék vér- és szervmintáit két órán keresztül nátrium-kakodiláttal puffertolt (pH 7,4) 2.5 % -os glutáraldehidben fixáltuk, majd hideg, 1 %-os OsO_4 -ban egy órás utófixálás következett. A felszálló etanol sorozatban történt víztelenítést Durcupan ACM beágyazás követte. Az ultravékony metszeteket uranilacetáttal és ólom-citráttal kontrasztoltuk, és Philips 201 CS típusú elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

A parazita a szervek kapillárisaiban kizárólag extracellulárisan (2. kép) fordult elő, és a gazdasejtektől jellegzetes belső felépítése alapján jól elkülönült. A viszonylag csekély számú mitochondriumait az egysejtűekre jellemző vezikuláris típusú fölépítés jellemezte. A parazita *Haemogregarina* természetét kizárta, hogy Apicomplexa rendbe tartozó sejtorganellumokat nem lehetett benne találni. Ultastruktúrája alapján a Myxosporidiumokhoz közel álló élőlénynek véltük. Különösen nagy volt a hasonlósága a Daniels és munkatársai (1976) által a pisztráng bőréből kimutatott organizmushoz.

Megbeszélés

A megfigyelt extracellulárisan fejlődő parazita különbözik a halakban megismert spóráképző véglényektől. Emlékeztet a Szmirnova által 1971-ben leírt *Haemogregarina cyprini* véglényre. A *Haemogregarinák* azonban a halak vérsejtjeiben élnek, az általam megfigyelt parazita a vér fehér- és vörösvérsejtjeiben nem tartózkodik. A Szmirnova szerint ivaros szaporodási folyamatot képviselő sejtformák valójában egyazon orgánizmus változatos formájú fejlődési alakjai. Ezek a fejlődési alakok - különösen az orsó alakú képletekkel kitöltött stádiumok - bizonyos mértékig valóban emlékeztetnek, valamely egysejtű organizmus által megtámadott fehérvérsejtekre. A valóságban az organizmus növekedése közben a saját citoplazmáján belül hozza létre azon fiatal fejlődési alakokat, amelyek végül az anyasejtéből kiszabadulva, kiinduló pontjai lesznek a vérben zajló újabb ciklusban a vázolt folyamatnak (3. kép).

A Sphaerospora renicola elkülönítése a ponty vérében előforduló egyéb organizmusoktól

A C-protózoon megkülönböztetése a ponty vérében élő ostoros véglényektől (*Cryptobia cyprini* és *Trypanosoma danilewsky*) nem okoz nehézséget. A két ostoros faj megkülönböztetése az ostorok száma (a Cryptobiáknak 2 ostora, a Trypanosomáknak egy ostora van) alapján a Giemsa-festés elvégzése után egyszerű.

Az utóbbi 12 év rutín diagnosztikai és felmérő vizsgálataiban során a két és háromnyaras pontyokban egy lépduzzanattal járó elváltozásra figyeltem föl. E megbetegedést - az általam „ponty duzzadt lépbetegség” néven jelölt bántalmat - a hal-kórtani irodalom nem említi. A ponty elváltozott lépe kb. 5-6-szorosára duzzad, megszokott barnavörös színe elhalványul és téglavörös színű lesz (4. kép).

Egyidejűleg a vesék duzzanata is megfigyelhető. A lép és a vese Giemsa szerint festett lenyomataiban (5. kép), valamint a vérkenetekben (6. kép), a különben megszorodott fehérvérsejtek citoplazmájában nagyszámú 0,5-1,0 μm nagyságú képlet található. E képleteknek halványkék citoplazmája, vörösre festődő magja van.

Az organizmus az elektronmikroszkópos vizsgálatok során a perinucleáris térben, rendszerint rozettaszerű elrendeződésben található meg (7. kép). Az élőlény saját membránnal és több sejtmaggal rendelkezik.

Föltételezzük, hogy az organizmus tömeges megjelenése a fehérvérsejtekben a ponty immunállapotát gyengíti. Erre utal, hogy ezzel az organizmussal fertőzött, telelőben teleltetett tógazdasági pontyok között halmozottabb volt a chilodonellosis föllépése. Megfigyeltük, hogy környezeti ártalmak esetén, pl. kénhidrogén mérgezés, oxigénhiány alkalmával az elsőként felszínre úszó pontyok ezen organizmussal terhelt egyedek közül kerülnek ki.

A PONTY ÚSZÓHÓLYAG-GYULLADÁSA

Irodalmi áttekintés

Az úszóhólyag-gyulladás rendkívül elterjedt, gazdaságilag fontos pontybetegség. Magyarországon elsőként Szakolczai (1967) háromnyaras pontyok között észlelte, de a környező országokban már jóval korábban is ismerték (Hofer, 1904, Roth 1922).

A betegség etiológiájára vonatkozóan egymásnak ellentmondó irodalmi adatokat találunk. A szakemberek egy része vírusos betegségnek tartotta (Arshanica, 1969; Ahne, 1973; Bachman és Ahne, 1973). Mások (Neciporenko 1963; Kanaev és munkatársai, 1967; Szakolczai 1967; Markiewitz 1966; Mattheis és Kulow 1967; Kocylowski és munkatársai 1970) nagyszámú baktériumtörzset izoláltak úszóhólyag-gyulladásos esetekből, és a baktérium okozta etiológiát helyezték előtérbe. Szakolczai (1967) vizsgálatai során úszóhólyagból készült preparátumokban egysejtű élősködőkre (*Coccidia*, *Pleistophora*) emlékeztető képleteket talált, és fölvetette a parazitás etiológia gondolatát. Ezt a teóriát látszott megerősíteni Kanaev és Kuzmin (1970) kísérlete, akik szerint *Myxobolus* spórákat tartalmazó pontyszervek etetésével az úszóhólyag-gyulladás reprodukálható volt. Ugyancsak a parazitás etiológia lehetőségére gondolt Otte (1966), amikor az úszóhólyag-gyulladás előidézéséért a *Cryptobia cyprini* nevű vérflagellátát tette felelőssé. Molnár (1980), aki a pontyok vese-sphaerosporosisát tanulmányozta, rámutatott arra, hogy a sphaerospora fertőzöttség igen gyakran jelentkezik úszóhólyag-gyulladásban beteg halakban, és kifejtette azt a véleményét, hogy összefüggés kereshető az úszóhólyag-gyulladás, a vese-sphaerosporosis és a Csaba (1976) által leírt vér-protózoon (C vérprotózoon) előfordulása között. Waluga és Budzynska (1980) a ko-poltyú-sphaerosporosis okozó *S. carassii* fejlődési stádiumait a belső szervek véreibeiben találta meg, de nem föltételezte, hogy azonosak lennének a Csaba (1976) által leírt vérprotózoonnal.

A vesesphaerosporosis és az úszóhólyag-gyulladás közötti összefüggés két korábbi munka alapján is felvethető: Griscsenko (1967) úszóhólyag-gyulladásban beteg halak vesecsatornájában spóraszerű képletek előfordulásáról ad számot; Schäperclaus (1979) úszóhólyag falról közölt képet, ami valójában sphaerosporákat kitöltött vesecsatorna képe.

Anyag és módszer

A vizsgálatok az állategészségügyi ellenőrzésre folyamatosan érkezett rutin-diag-nosztikai pontyanyag, másrészt a kutatási célra laboratóriumba szállított pontyivadék feldolgozásán alapultak.

A vizsgálat előtt kiirtott halak vérmintáit a C- protozoon előfordulásának meg-állapítására natív állapotban fedőlemez alatt mikroszkóppal vizsgáltam. Az úszóhólyag első zsákjának külső rétegét eltávolítva ellenőriztem az úszóhólyag-gyulladás esetleges előfordulását, regisztrálva annak stádiumát; egyidejűleg a belső zsák felszínének érintésével lenyomatokat készítettem. A halak veséjét sphaerosporosis előfordulásának diagnosztizálása céljából ugyancsak natív el- és lenyomati készítményekben tanulmányoztam. A vérkeneteket és az úszóhólyagfal és a vesék lenyomati készítményeit Giemsa szerint festettem.

Az elváltozást mutató úszóhólyagokat injekciós tűn át, fecskendővel töltöttem fel, hogy eredeti alakját a fixálás után is megtartsa szövettani metszetek feldolgozásáig. A szervek rögzítése 10 %-os formalinban történt, a metszetek részben fagyasztva, részben parafinos beágyazással, majd hematoxilin-eozin és esetenként Giemsa-festéssel készültek. Elektronmikroszkópos vizsgálat céljára az úszóhólyag minták a C- protozoon fejezetben leírt módon kerültek fixálásra és feldolgozásra.

A bakteriológiai vizsgálat során minden úszóhólyag-gyulladást mutató, valamint arra gyanús hal májából, veséjéből, úszóhólyagjából végeztünk kioltást. A kioltás kaccsal közvetlenül véresagar lemezre, valamint Anacker és Ordal-féle (1959) táptalajra történt. A kimutatott baktériumok meghatározását Cowan (1975) és Macfaddin (1978) szerint végeztük.

Viroológiai vizsgálat céljára az úszóhólyagot és a hal egyéb szerveit antibiotikum tartalmú PBS-ben homogenizáltuk. Az ultracentrifugával baktériummentessé tett szervek homogenizátumát FHM és EPC sejt vonalakra, alkalmanként pontypetefészekből készült primer szövetre oltottuk.

Eredmények

Az úszóhólyag-gyulladás előfordulása és gyakorisága szezonálisan és gazda-ságonként változik. Általában 5-30 %-os fertőzöttség észlelhető. Az úszóhólyag-gyulladás legkorábban a 4-6 hetes ivadéokban, júliusban jelentkezik. Ezekben a pontyokban a vérben a C- protozoonokat és a vesékben a *Sphaerospora renicola* (*angulata*) fejlődési alakjait meg lehetett figyelni. Az elmúlt 20 évben ismételten megfigyelhetők voltak szeptember végi úszóhólyag-gyulladás esetek.

Az úszóhólyag-gyulladás kezdeti elváltozása az egyébként klinikai tünetektől mentes halak boncolásakor sokszor csak az úszóhólyag külső zsákjának levonása után figyelhető meg. Az úszóhólyag-gyulladás ilyenkor, a különben üvegszerűen átlátszó belső zsák (8. kép) falának füstszerű elhomályosodásában, egyidejűleg kisebb vérzések, faágszerű értágulatok megjelenésében nyilvánul meg (9. kép). Súlyosabb esetekben a vérzések már a hashártya felől, az úszóhólyag külső zsákjának levonása nélkül is láthatók (10. kép). Az úszóhólyag hátulsó zsákja az esetek többségében tünetmentes. Valamennyi úszóhólyag-gyulladásban beteg hal veséjéből *Sphaerospora renicola* Myxozoa pansporoblasztjait és spóráit mutattuk ki (11. kép). A megvastagodott, homályos falú úszóhólyagokon, a külső zsák alatt vékony, borostyánkő-sárga, a belső zsákhoz tapadó részben törmelékes anyag, feltételezhetően fibrin volt. Helyenként barna pontok árulkodtak a korábbi vérzések nyomairól (12. kép).

Az úszóhólyag protozoológiai vizsgálata

(a *Sphaerospora renicola* fejlődési alakjai az úszóhólyagban)

Az úszóhólyag-gyulladás heveny stádiumának vizsgálata során az úszóhólyag elülső zsákjának vérágas felületéhez érintett tárgylemezeken nagyszámú protozoon szervezet volt kimutatható (13. kép). A szövettani metszetekben az úszóhólyag kapillárisai kitágultak, egy részük körül vérzéseket láttunk (14. kép). A szöveti metszetekben a tunica interna tömött rostos kötőszövetében, de elsősorban a lazarostos kötőszövet érdús rétegében extravazálisan található meg a plazmódiumok (15. kép). Ezek többnyire 3-6 μm nagyságú magvak halmazainak tűntek és a halmazokban a magvak általában tizenöt-huszasával fordultak elő. Esetenként azonban 1-2 μm méretű fejlődési formák is megjelentek, amelyek magtöredezésre (rhexisre) emlékeztettek (16. kép).

A rhexisre emlékeztető képletek véglény természetét a lenyomati készítmények Giemsa festése igazolta. A lenyomati készítményekben a leggyakrabban előforduló, többségükben 17-30 μm méretű protozoon példányok jobbára halmazokba rendeződve, többedmagukkal fordultak elő (13. kép). Ezek egy buroksejt funkciót betöltő, egy magvú elsődleges sejtből és a bennük osztódással szaporodó, önálló plazmával rendelkező másodlagos sejtekből álltak (18. kép, bal oldali fiatal plazmódium). A másodlagos sejtek néha 40 fölötti számban voltak jelen az elsődleges sejten belül (17. kép).

A másodlagos sejtek átmérője 3-6 μm volt. A másodlagos sejtek halmazában, a föltehetően érett másodlagos sejteken belül, sejtenként 2-2 harmadlagos sejt is kialakult. A két

harmadlagos sejt a másodlagos sejt lényegesen nagyobb magjával együtt jellegzetes hármás alakzatot képzett (18. kép, jobb oldal, 19. kép).

A véglény Giemsa szerinti festődése a következő: az elsődleges sejt magva világos eozinofil festődésű (18. kép, baloldal), az elsődleges sejt plazmája alig észrevehető, halványkék. A másodlagos sejtek többnyire kerekded vagy orsó alakúak, magjuk élénkebb eozinofil festődésű és a másodlagos sejt plazmája az elsődleges sejt plazmájához viszonyítva sötétebb kékre festődik. A harmadlagos sejtek plazmaszegélye alig látható, magjuk igen erőteljes eozinofil festődést mutat.

A véglény kenetekben észlelt fejlődési formái logikus sorrendbe állíthatók. A legfiatalabb fejlődési stádiumokat a két sejtből, valamint az elsődleges és két másodlagos sejtből álló formák jelentették. A másodlagos sejtek többszörös belső osztódásával párhuzamosan a parazita plazmódiumának mérete is növekedett, és benne változó számú (20-46) másodlagos sejt (17., 18. kép) alakult ki. Ezután az elősködő plazmódiuma még kissé tovább növekedett, miközben a másodlagos sejtekben fokoza-tosan kialakultak a harmadlagos sejtek. A primer sejteken belül lévő másodlagos sejtek harmadlagossá válása az egyes primer sejteken belül nem volt szinkronban. A harmadlagos sejtek kialakulása idején az elsődleges sejt halvány magja csak ritkán található meg (19. kép) Az elsődleges sejt szétesése után a jellegzetes hármás alakzatok szét-szóródnak. Ezek a képletek adják a szövettani metszetekben látható rhexisre emlékeztető elváltozásokat (16. kép). A harmadlagos sejteket az elektronmikroszkópos vizsgálatok is kimutatták (20. kép)

A véglény elektronmikroszkópos vizsgálata során megállapítottuk, hogy parazita kerekded alakú. Sejthártyája szélesebb, cytoplazmája pedig sötétebb a környező gazda-sejteknél. A primér sejt változó számú másodlagos sejtet tartalmazott. A primér sejt magja a másodlagos sejtekkel nagyjából azonos nagyságú, benne nagy kerek nukleolus van, kromatin állománya viszonylag világos. A másodlagos sejtek egyszeres vagy kétszeres membránnal határoltak, erősebben denzsek a primér sejtnél, bennük esetenként még sötétebb harmadlagos képletek fordulnak elő. A parazita mitochondriumi vesicularis típusúak. A mitochondriumokon kívül a cytoplazma gyakran tartalmazott nagyszámú mikrotubulust is.

A bakteriológiai vizsgálatok során a heveny esetekből baktériumot kitenyésztetni egyáltalán nem lehetett. Az idült elváltozásokból az úszóhólyagból *Aeromonas hydrophila-punctata* csoportba, ritkábban *Flavobacterium* és *Pseudomonas*

genusba tartozó baktériumokat izoláltunk. Esetenként ugyanazon idült úszóhólyag-gyulladást mutató halból a megnevezett baktériumok egyéb szervekből (vese, máj, lép) is kitenyészttek.

A vese protozoológiai vizsgálata

(A *Sphaerospora renicola* /synonyma: *S. angulata*/ fejlődése a vesében)

A *S. renicola* fejlődését a vesecsatornában is nyomon lehetett követni. A megfigyelt fejlődési formák mind a sporogóniához tartozó fejlődési stádiumok, és előfordulásuk kizárólag a vesecsatornában figyelhető meg (21. kép).

A csatornahámban nincsenek fejlődési alakok. A fejlődés legkorábbi stádiuma-ként az egy anya és két leányegyedből álló egységet, a pansporoblast envelop sejtje által körülvevett sporontokat lehet kimutatni, melyek az úszóhólyagban talált véglény hármassá alakulnak. A sporontok magvai a továbbiakban növekednek, többszörösen osztódnak, amíg végül kialakul egy 13 magvat tartalmazó stádium. A 13 mag a pansporoblast egyetlen magjából és a párosan fejlődő spórák 6-6 elkülönült funkciójú sejtjeinek magvából tevődik össze. A fejlődés befejező szakaszaként a spórán belül a sarki tokot képző sejtek létrehozták az igen élénk eozinofil festődést adó sarki tokokat is (21. kép). Ez utóbbiak gyakran kihullottak a preparátumból, és helyükön kis vakuolum maradt vissza.

A *Sphaerospora renicola* elkülönítése a Giemsa szerint festett veselenyomatokban észlelhető egyéb véglényektől

A Dermocystidium elkülönítése

A C-protózoon leírását taglaló fejezetnél említett ostoros vérvéglények (*Cryptobia*, *Trypanosoma*) a vérárammal a pontyt valamennyi szervébe eljutnak, és fölbukkanhatnak a Giemsa szerint festett lenyomatokban. Ezek fölismerése a lenyomati készítményekben is egyszerű az ostorok alapján.

Gondot okozhat a ponty granulomatózisát előidéző bizonytalan rendszertani helyű, *Dermocystidium*-fajnak tekintett organizmus fölismerése. A *Dermocystidium*-faj testszerte granulómákat idéz elő a pontyban. A granulomatózis végső stádiumában a jellegzetes körbonctani elváltozások orientálják a vizsgálót (22. kép).

A szabad szemmel nem látható kezdeti elváltozások során a Giemsa szerint festett szervlenyomatokban a granulomatózist előidéző *Dermocystidium* fiatal fejlődési alakjai azonban megzavarhatják a vizsgálót (23. kép).

A *Dermocystidium* fiatal alakjai 3-8 μm nagyságúak, protózoon-szerű festő-désűek. Az érettebb alakjai 8-15 μm méretűek és egyöntetűen kékre festődnek, plaz-májuk vakuolizált (24. kép).

Elektronmikroszkópos vizsgálattal, miként a *Sphaerospora renicola* esetében is, az érett anyasejtek falán belül az eredeti, anyasejthez hasonló több leánysejt képződése figyelhető meg (25. kép)

A *Hoferellus cyprini* elkülönítése

A két- és háromnyaras pontyállományok *Sphaerospora renicola* fertőzöttség-gének kimutatására irányuló, rendszeres rutin diagnosztikai vizsgálataink során az uréter és az úszóhólyag belső faláról készített, Giemsa szerint festett lenyomatokban a *Sphaerospora renicola* sporogoniumaitól eltérő szerkezetű ovális, máskor szabálytalan alakú, 15-40 x 15-30 μm méretű plazmódiumokat is észleltünk a tél folyamán. Ez az észlelés további vizsgálatok elvégzését indokolta. A plazmódiumokkal fertőzött állományok célzott, két éven át rendszeresen végzett vizsgálata során a vese szövettani metszeteiben ősszel (októberben és novemberben) a Plehn (1924) által jellemzett *Hoferellus cyprini* góccokat lehetett kimutatni. A *Hoferellus cyprini* korai fejlődési stádiumai intracellulárisan, a vese csatornák hámjában voltak megfigyelhetők, belőlük 100-200 μm méretű, kerekded góccok képződtek. A vesecsatornák közvetlen szomszédságában fejlődő érett góccok tartalma végül a vese csatornák lumenébe került. A *Hoferellus* góccok száma ezért decembertől kezdve csökkenni kezdett, egyidejűleg az uréter belső faláról készült, Giemsa szerint festett lenyomatokban plazmódiumok jelentek meg. Az említett plazmódiumokban, az alsóbb húgyutakban, főként a húgyhólyag faláról vett lenyomatokban és a natív készítményekben spóráképződést figyeltünk meg. A spórák morfológiailag a Fujita által 1912-ben leírt *Mitraspora cyprini* spórákkal megegyeztek. A saját megfigyeléseinket összevetve az irodalmi leírásokkal arra a következtetésre jutottunk, hogy a *Mitraspora cyprini* a Doflein által 1898-ban leírt *Hoferellus cyprini* fajnak a synonymája.

A gyakorlatban a *Hoferellus cyprini* és *Sphaerospora renicola* fejlődésének eltérő szezonálisága, továbbá a *Hoferellus* faj hosszúkás spóráin lévő sörteszerű függelékek jól megkülönböztetik a parazitát a *Sphaerospora renicola* függelékeket nem viselő, inkább kerekded spóráitól.

Megbeszélés

Vizsgálatok eredménye szerint az észlelt fejlődési alakok egymással összefüggésbe hozhatók. A vérben észlelt protozoon és úszóhólyag-gyulladásból kimutatott protozoon,

valamint a vese *Sphaerospora* fertőzöttség egyidejű előfordulása azt sugallta, hogy a *Sphaerospora renicola* (syn. *S. angulata*) szerepet játszik az úszólyag-gyulladás kiváltásában. A *Sphaerospora renicola* vérben, úszóhólyagban és vesében föllelhető alakjainak fejlődését diagram ábrázolja (26. kép).

Ezt a feltételezést későbbi fertőzéses kísérletek megerősítették (Molnár és Kovács-Gayer, 1986). Az úszóhólyag-gyulladás *Sphaerospora renicola* eredete ma már nemzetközileg is elismert (Odenig, 1987; Dykova et al., 1990).

vacat

AZ AMOEBA ELSŐ HAZAI KIMUTATÁSA A DÍSZHALAK GRANULOMATOSISÁBAN

A díszhalak különböző szerveiben multiplex gócképződéssel járó megbete-gedésekben az irodalmi adatok szerint különböző kórokozók játszanak szerepet *Ichthyophonus* (McVikar, 1982), *Flavobacterium* (Kluge, 1965), *amoeba* (Voelker et al., 1977), *Mycobacterium* (Csaba et al., 1982).

Az aranyhal (*Carassius auratus gibelio*) idősebb példányainak és a yukatáni fogasponty (*Mollienisia sphenops*) „black molly”. változatának belső szerveiben igen gyakran figyeltünk meg sajátos felépítésű gyulladá-sos-elhalásos góccokat, melyek végül az állatok elhullásához vezettek.

Az aranyhal teleszkóp szemű változatának külső vizsgálata során, a betegség előrehaladott eseteiben szabad szemmel is észleltünk gócot a hal szemében (27. kép). Boncoláskor a tűszúrásnyi és az üveggombostű-fejnyi góccok testszerte előfordultak (28. kép). A hashártyán kívül a leggyakrabban érintett szerv a lép, a máj, a vese és a szív volt. A góccok gyulladá-sos-elhalásos jellegűek voltak. A haematoxin-eozinnal festett (30. kép) és perjód-savas Schiff szerint vörös reakciót adó, frissen keletkezett elhalások széle mentén (31. kép) nagyszámú halványan festődő, alig észrevehető képleteket lehetett látni. A góccokból baktériumokat kimutatni nem lehetett, sav- és alkoholálló pálcákat sem. Az érintett szervek Giemsa szerint festett lenyomataiban halványkék, vakuolizált citoplazmájú, kerekded képleteket figyeltünk meg (32. kép). A fény és elektronmikroszkópos vizsgálatok (33. kép) alapján az eseteinkben talált véglény morfológiája megegyezett az aranyhal granulomás megbetegedésének vizsgálata során más szerzők (Voelker et al., 1977) által leírt, közelebbről faj szerint nem azonosított, hartmanellák közé sorolt amoebával.

A különböző szervekben megjelenő, kötőszöveti tokkal körülvett, gyulladá-sos elhalásos góccok arra utalnak, hogy az organizmus a vérárammal kerül a szervekbe. Néhány alkalommal idegrendszeri tüneteket mutató aranyhalban az agyburkokon észleltük a góccokat és a Giemsa szerint festett lenyomatokban magát az organizmust is.

Figyelemre méltó, hogy tapasztalataink szerint a díszhalak gümőkórja esetében a szívben sohasem található specifikus gyulladá-sos-elhalásos góc, míg az amoeba okozta betegsége-re rendszerint a szív izomzatában lévő góccos elváltozások hívják föl a figyelmet (29. kép).

Meg kell jegyeznünk továbbá, hogy a díszhalakból kimutatott *amoeba* a pontyok garatulomatózisánál előforduló elváltozásokban jelenlevő, ún. *Dermocystidium*októl mind a fénymikroszkópos, mind az ultrasruktúrális vizsgálatok alapján jól megkülönböztethető.

27-28. kép

29-30. kép

31-32. kép

33. kép

A PONTYOK TÉLI BŐRELVÁLTOZÁSA

A pontyok téli bőrelváltozása 1978-ban jelentkezett először a hazánkban. Az addig soha nem látott és külföldön sem ismert betegség később többször ismétlődött. December, január hónapokban, a huzamosan vastag jégtakaróval borított teletől ta-vakban, főleg piaci és anyaponty állományokban szembetűnő bőrtünetekben megnyil-vánult meg.

A tóparton megfigyelhető tünetek és elváltozások a következők: a beteg pontyok a teletől borító jég közelében hosszasan agonizálnak, mozgásuk lelassul, a szem beesett (34. kép). A bőrön szürkésfehér opálos, tejüvegszerű bevonat látható (35. kép). A bőr elváltozása a még élő példányokon a víz felszín közelében lévő halakon látható legjobban (36. kép). A frissen elhullott tükrös pontyok bőre tarkázott, gyakran körkörös rajzolatú vagy térképszerű. A bőr a hám leválása után nyálkátlan, érdes tapintatú lesz; másodlagos bakteriális fertőzés következtében gyulladás lép fel (38., 39. kép). A tejüvegszerű bevonat a pikkelyes pontyok fején és úszóin jobban megfigyelhető, mint a pikkelyes bőrön. A szabad szemmel tejüvegszerű bevonatnak látszó elváltozás a szövettani vizsgálatok során valójában a hámréteg kiszélesedésének bizonyult. Az egészséges bőr nyálkasejtekben gazdag (40. kép). A beteg bőrből a nyálkasejtek eltűntek (41. kép). A kopoltyúkon elváltozást nem észleltünk. A belső szervek kór-bonctani és szövettani vizsgálatával kórjelző értékű elváltozásokat kimutatni nem lehetett.

A betegségről hazánkban először Szokolczai és Békési (1984) tudósított. A közlemény alapján a betegség oktanára vonatkozóan az volt a legvalószínűbb, hogy a kórkép hámszaporodási zavar, melyet vízszennyezés, illetve a víz túlhűlése indukál azáltal, hogy a ponty bőrének hámsejtjeiben lévő herpeszvírust aktiválja.

Natív és festett preparátumok

Az 1984 után több éven át végzett megfigyeléseim és vizsgálati tapasztalataim a herpeszvírus szerepétől eltérő, merőben más irányt mutattak. A betegség jelentkezési időszakában (december-február hónapokban) a klinikai tünetek, kórbonctani elvál-tozások a már említettek szerint alakultak. 1984-ben a károsodott bőrfelületről szár-mazó kaparékban natív vizsgálattal szintest nélküli, körte alakú, 5-6 μm széles, 8 μm hosszú organizmust találtam, amelyek 2-3 μm méretű fénytörő képletet tartalmaztak (42 kép). Az organizmus elkeskenyedő végéről gyökérszerű, finom fonalak indultak ki (43. kép). Az elváltozott

bőrterületeknek megfelelően az organizmus szőnyegszerűen bo-rította a hámot, és megtelepedésük helyén a hámsejtek megfogyatkoztak. A Giemsa szerint festett bőrkaparék készítményekben az organizmus határozott sötétkék festődése dominált, belső szerkezete és gyökérszerű képletei nem voltak láthatók (44. kép). Ziehl-Neelsen szerint az organizmus nem festődött.

Szövetteni vizsgálatok eredményei

Az elváltozott bőrterület szövetteni metszeteinek fixálására (beleértve az elektronmikroszkópos vizsgálathoz szükséges minta előkészítését is) külön módszert kellett alkalmazni, hogy bőr felületén lévő képletek megmaradjanak. E módszer a következő volt: a minta vétele előtt tojásfehérjével öntöttem le a bőrt, hogy a fixáló a bőrfelületre tapadt organizmust ne lemossa le. Az így előkészített bőrt szikével kivágtam, a kivágott mintát a szövetteni fixálás előtt Petri-csészébe fektettem, majd kevés fixálóban kezdtem el a rögzítést. Ezzel megelőzhető volt a minta zsugorodása és torzulása.

A haematoxilín-eozin festéssel az organizmus a benne lévő vakuolum területétől eltekintve sötétre festődött (41. kép). A beteg bőr hámrétege többszörösére szélesedett, a kiszélesedett hámból a nyálkasejtek eltűntek. A kiszélesedett hámrétegben a hámsejtek között ballonizáló elfajulást és hámsejt elhalást észleltük (45. kép). Az elhalásnak indult hámban megfigyelhető voltak az eozinophil sejtek. A toluidinkékkel festett félvékony metszetekben az organizmus sötétkék színűre festődött (46. kép). A pontyok egyéb szerveiben (kopoltyú, máj, lép, vese, bél, agyvelő, izomszövet) kórjelző értékű elváltozást nem észleltünk.

A kopoltyúkon az organizmust nem lehetett megtalálni. A hagyományos gomba, illetve baktérium táptalajokon sem szobahőn, sem 0 °C és 4 °C közötti hőmérsékleteken hónapokon át tenyésztve sem fejlődött. A beteg hám víruskimutatásra irányuló -ultracentrifugálást követő negatív kontraszt festéssel elvégzett -elektronmikroszkópos, valamint a vírusizolálásra irányuló, szövettenyészetten végzett vizsgálatok rendre negatív eredménnyel zárultak, annak ellenére, hogy az elmúlt 20 év alatt több ízben megismételtük azokat.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok eredménye

Az organizmus citoplazmája erősen ozmofil volt, olyannyira, hogy a citoplazmát körülvevő, párhuzamosan futó membránokból álló falnak és citoplazmának a szerkezete egyazon képen alig mutatható be; ugyanazon felvétel csak két különböző expozícióval készült nagyításban értékelhető (48. kép). Az organizmus fala membránokból áll. Egyes esetekben 12-13 membránt is megszámlálhattunk (51. kép). A körte alakú organizmus keskenyebb végén a citoplazmából gyökérszerű képlet, rhizoid lép ki (48., 51-52. kép). A több membránból álló fal a kilépő gyökérszerű képlet mellett visszahajlik (52. kép). A fal felszínét finoman szemcsézett elektrodenz anyag borítja (48. kép). A citoplazmában fénymikroszkóppal látható, erősen fénytörő képlet az ultrastrukturális vizsgálat során óriás vakuolumnak bizonyult, amit membrán vett körül. A vakuolumban nagy valószínűséggel táplálék raktárul szolgáló lipidcsepp van (47-48. kép). A sejtmagot ritkán lehetett megfigyelni (48. kép). A citoplazmában ribosomák (52. kép) és multivezikuláris képletek (47. kép) találhatóak. Mitochondriumot nem tudtunk megfigyelni. Az organizmus a pusztulófélben lévő hámsejtek közé bocsátja gyökér-szerűen elágazódó nyúlványait (49-50. kép). Az organizmus osztódásban lévő alakját nem észleltük, de egy közös falon belül megkettőzött példányait ismételtén megfigyeltük (49., 53. kép).

Megbeszélés

A nemzetközi irodalom áttekintése során pontyra vonatkozóan csupán egy téli bőrbántalomra utaló közleményt találtunk. Lengyelországból Staff (1925) 4 °C körüli alacsony hőmérsékleten telelő pontyokon a nyálkatermelés megnövekedését és penészedést észlelt.

Höglund et al. (1997) fiatal atlanti lazac (*Salmo salar*) állomány téli hónapokban, 5 °C alatti vízhőmérsékleten végzett rutin vizsgálata során *Democystidium* szerű organizmust mutattak ki. Az organizmust a beteg halak bőrének hámrétegén és kopoltyúkon egyaránt megtalálták. Az általuk közölt elektronmikroszkópos felvételen szereplő „*Democystidium*” rendkívül hasonlít az itt tárgyalt organizmushoz.

Napjainkban Brux és munkatársai (1999) előadásukban az 5. Nemzetközi Hal Parazita Symposiumon számoltak be Szászországban telente észlelhető heveny bőrmegbetegedéséről pontyokon. E szerzők a bőrelváltozást mint ismeretlen oktanú betegséget tárgyalják, de az általunk kimutatott organizmusról nem adtak számot, csupán a bőrben fejlődő *Sphaerospora molnári* pontyparazitáról.

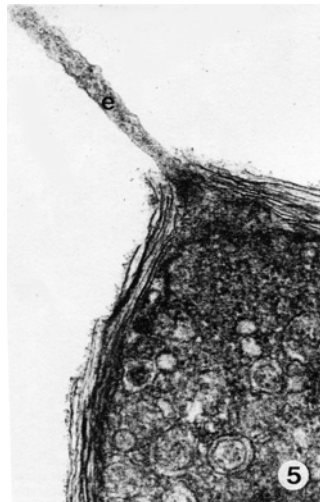
A betegségről és a kimutatott bizonytalan rendszertani helyű organizmusról az Európai Halpatológusok Társaságának VII. Nemzetközi konferenciáján, Skóciában Edinburgh-ban tartottam előadást (Csaba et al., 1997) és számos hazai fórumon ismertettem.

Az elmúlt húsz év rendszeres vizsgálataim során szerzett tapasztalatok, járványtani megfigyelések alapján a beteg bőrön következetesen jelenlévő organizmust tartjuk a ponty téli bőrelváltozás kórokozójának, annak ellenére, hogy erre vonatkozó kísérleti bizonyíték nem áll rendelkezésre. A pontyokkal egy telelőben tartott más halfajok megbetegedését nem észleltük. A pontyok súlyos fertőzöttsége esetén az együtt tartott, egyébként egészséges busák bőrén néha észlelt organizmus példányait kontaminációnak tekintjük.

A ponty bőrén megfigyelt klinikai kép, a gyűrű alakú elváltozások és azok egybeolvadása után létrejött térképszerű rajzolat, valamely gombaszerűen fejlődő organizmusra utal. Az irodalom áttekintése során csak a tengerben élő egysejtű gombák között találtam hasonló felépítésű organizmusokat. Alderman et al. (1974) ultrastruktúrális vizsgálatokon alapuló, rendszertani tanulmányában leírt, *Traustrochy-triaceae* családba sorolt tengeri gomba fajok (*Aplanochytrium kergulensis*, *Thraustochytrium kinnei*, *Schizochytrium aggregatum*) sporangiumainak számos membránból felépülő fala rendkívüli hasonlóságot

mutat az általunk a pontyokon észlelt és a Höglund (1997) által az atlanti lazacon talált, „*Dermocistidium*” fajként meghatározott organizmus falával, sőt a gyökérszerű képletek kitüremkedése is megfigyelhető ezeken a tengeri fajokon. A kitüremkedő anyagot ectoplazmás hálózatnak (ectoplasmic net) nevezik. Valószínűleg ezen hálózat finom nyúlványai láthatók a ponty bőrének hám-sejtjei között saját elektronmikroszkópos felvételeinken (50. kép).

A ponty ezen egysejtű élősködője rokonságban lehet a Dykstra (1984) által leírt *Diplophrys marina* tengervízben élő egysejtű gomba fajjal is. Az általunk gyökérszerű nyúlványnak nevezett képletet, a *Diplophrys marina* fajon Dykstra ectoplazmás elemként („ectoplasmic element”) tárgyalja. A hasonlóság érzékeltetésére a közlemény egy képét alább bemutatom.



Diplophrys marina

Az ectoplazás elem (e) kitüremkedése a sok membránból álló falon (EM 52 000 x)

A felvétel Dykstra (1984) közleményéből származik.

A hazai pontyokon talált organizmusra hasonlító tengeri fajok zoospórákkal is rendelkeznek, amelyek létezése a pontyon élő fajban is föltételezhető, és a bőrön való megtelepedést szolgálhatják. A pontos rendszertani azonosítás további vizsgálatokat igényel.

A betegség 30-40 %-os veszteséget is okozhat a pontyok között. E veszteségek az első években kizárólag a piaci korosztályt és az anyahalakat érintették. A bántalom az elmúlt években a kétnyaras állományokon, tavaly már pontyivadékon is megjelent.

A kártétel csökkentésének lehetőségei

A veszteségek a telelők kifogástalan (főként ammóniától és szerves anyagoktól mentes) vízellátásával, a ponty oxigénigényét még éppen kielégítő vízcserével (azaz a víz túlhűlését megakadályozó, mérsékelt // hozamú víztáplálással) csökkenthető. A víz visszaforgatása teljességgel kerülendő. A ponty telelő tavakban való elhúzódó, korábban megszokott tartása e bántalom miatt kockázatos. E lefagyott telelőkben folyamatos ellenőrzés szükséges, hogy a betegség jelentkezésekor az érintett állományok még egészséges halait soron kívül értékesíteni lehessen. A veszteségek elkerülésére egyre több gazdaság tavakban vészelteti át a pontyokkal a telet.

34-35kép

36-37. kép

38-39,

kép

40-41

42-43

44-45

46-47

48-49

50-51

52-53.kép

A PONTYOK FEKÉLYES BÖRGYULLADÁSA ÉS A KÓROKOZÓ VIZSGÁLATA

Történeti áttekintés

A *Cyprinidae* családba tartozó halfajok jelentős gazdasági kárt okozó megbetegedése a hasvízkór néven számon tartott betegség volt. Buza tanulmánya (1975) szerint elterjedt Európában és Ázsiában, de Amerikában is előfordult. Molnár és Szakolczai (1973) adatai szerint a betegséget már 1737-ben leírták Németországban.

A kóroktanára vonatkozó felfogás sokáig nem volt egységes: baktériumot, vírust és takarmányozási zavarokat jelöltek meg a betegség okaként (Buza, 1975). Schäperclaus (1930, 1942, 1956) szerint a betegség okozója az *Aeromonas punctata* nevű víz- és iszapbaktérium halakra adaptálódott változata, amellyel a hasvízkór összes tünete előidézhető. Tomasec (1942, 1966) jugoszláv kutató viszont ezt tagadta, és már 1966-ban határozottan a vírus szerepe mellett foglalt állást.

A tünetek és a kórtani elváltozások alapján a betegség heveny és - fekélyképződéssel járó - idült alakját különböztették meg. Bár a heveny és idült kórforma kóroktani háttere régóta vitatott, összehasonlítva a két kórforma irodalmát a két változatot sokáig kóroktani egységben tárgyalták. De ezen belül is többet foglalkoztak a heveny hasvízkórral (Schäperclaus, 1930, 1942, 1956; Jankov, 1968a, 1968b; Wunder-Dombrowski, 1953), és többnyire csak az 1970-es években jelentek meg nagyobb számban dolgozatok az idült alak önmagában való tanulmányozásáról (Fijan, 1966; Fijan és Petrinc, 1973; Bootsma, 1973, 1976; 1977, 1978; Bucke, 1975, Kölbl, 1978).

Hazánkban csak a heveny hasvízkór oktanát és kórfejlődését tanulmányozták tüzetesen (Szakolczai, 1966; Békési és Szabó, 1977), míg az idült alak önálló vizsgálatáról csak Csaba és mtsai (1980) tudósítottak.

Az irodalom alapján időrendben ismertetem azoknak a megfigyeléseknek és vizsgálatoknak a sorát - különös tekintettel a fekélyes kórformára -, amelyek a hasvízkór két alakjának önállóságára utalnak és a betegség szétválasztásához vezettek.

A fekélyes kórforma önálló előidézésére régóta törekedtek a kutatók. Goncsarov 1939-ben a beteg pontyok fekélyeinek anyagát egészséges pontyok skarifikált bőrébe dörzsölte; és az így fertőzött halak 100 %-a fekélyessé

vált (cit.: Fijan, 1966). Bár Wunder és Dombrowski (1953) a hasvízkört egységes kóroktanú betegségként tárgyalta, dolgozatuk két állítása is az idült alak önállóságára utalt. Egyfelől fekélyképződéssel járó kórforma egy Lengyelországból történt behurcolás után oly tömeges méreteket öltött, hogy ezt az alakot azóta is „lengyel” formának nevezték el Németországban. Másfelől az *Aeromonas punctata* baktériummal végzett fertőzési kísérleteik során nem tudtak fekélyeket előidézni, és ez szemben állt Schäperclaus eredményeivel. Amikor Fijan 1966-ban megismételte Goncsarov csaknem feledésbe merült kísérleteit és a skarifikálás módszerét alkalmazva akváriumban tartott pontyok között sorozatos átoltásokkal fenntartotta a fekélyes kórformát, a fekélyekből bakteriológiai vizsgálatot is végzett. *Aeromonas punctata* és *Pseudomonas fluorescens* törzseket izolált, de ezekkel nem tudott fekélyt kiváltani. Fijan és munkatársai (1967) a fekélyek halról-halra való passzálása közben a fertőzéshez használt fekély eredetű anyagot antibiotikumokkal és furazolidonnal kezelték. Chloramphenicol, streptomycin, oxytetracyclin, valamint furazolidon hatására a fertőzés nem eredt meg, ugyanakkor a penicillin és az ampicillin nem gátolta a fekélyképződést. 450 nm pórusnagyságú szűrőn a fekélyek homo-genizátumának baktériumszűrését is elvégezték, és a kapott szűrlettel nem tudtak fekélyeket okozni. A szűrlet virológiai vizsgálata során vírust kimutatni nem lehetett (Tec és Jakovleva, 1962; Fijan, 1967; Oszadcsaja, 1970; Bucke, 1975).

Fijan és munkatársai (1971) *Rhabdovirus carpio* néven leírtak egy vírust, de ezzel is csak a betegség tavaszi változatát sikerült előidézni. Ezt követően jelentette ki Fijan (1972), hogy a hasvízkór komplex betegség. A heveny alakot tavaszi virémiának nevezte (SVC = Spring Viremia of Carp), az idült, fekélyes változatot ponty erythrodermatitisnek (CE = Carp Erythrodermatitis). A korábbi vizsgálatokat összegezve Fijan az erythrodermatitis okozójaként egy dermatrop organizmust jelölt meg, ami 450 nm-nél nagyobb, nem érzékeny a penicillinre és közönséges táptalajon nem fejlődik.

Ennek a megállapításnak a birtokában további vizsgálatok kezdődtek a föltételezett baktérium kimutatására. Bootsma (1973) a pontyok fekélyeiből egy myxobaktériumot izolált, amivel fekélyeket tudott előidézni egészséges pontyokon. E fekélyek azonban nem voltak olyan kifejezetten, mint amelyek akkor képződtek, ha a fekélyek anyagával közvetlenül fertőzte a halakat. Bootsma (1976) ezt a jelenséget a *Flexibacter columnaris* baktérium virulencia csökkenésének tulajdonította.

1975-ben Zágrábban a FAO keretében működő Európai Édesvízi Halászati Tanács (EIFAC) halbetegségeket tanulmányozó értekezlete foglalkozott az erythrodermatitisszel. Bootsma (1975) egy kicsiny, nem mozgó Gram-negatív baktérium izolálásáról számolt be, és ezzel a baktériummal Fijan és Obradovic (1975) a fekélyes bőrgyulladás tipikus tüneteit idézte elő. Bootsma és mtsai (1977) az izolált baktériumot az *Aeromonas* genusba sorolták. Bootsma és Blomaert később (1978) megállapították, hogy a kérdéses baktérium az *Aeromonas salmonicida* komplexumhoz tartozik, és egyúttal beszámoltak a baktérium elektronmikroszkópos vizsgálatáról is. 1979-ben az Állatorvosi Világkongresszuson Pol és mtsai az izolált baktériumból származó exotoxint okolta a pontybőrgyulladásos elváltozásainak kialakulásáért. Közben Kölbl (1978) szintén izolált egy baktériumot, amivel a kérdéses fekélyeket előidézte, de ezt a baktériumot az *Arthrobacter* genushoz közelálló fajnak határozta meg.

Anyag és módszer

Vizsgálati anyagunkat az 1976 januárjától 1979 októberéig terjedő időszakban az Országos Állategészségügyi Intézetbe rutin vizsgálat céljára beküldött és kiszállások alkalmával gyűjtött, tógazdaságokból származó, fekélyes pontyok és - egy esetben - pontyokkal együtt tartott fekélyes ezüstkárászok képezték.

A halak parazitológiai és kórbonctani vizsgálata mellett bakteriológiai vizsgálatot is végeztünk: a belső szervekből és a fekélyek vérbő szegélyéből. A bakteriológiai vizsgálatok során használt táptalajok kiválasztásában és a további vizsgálatoknál kiindulási alapul szolgált az a fekélyekből származó, közelebbről meg nem határozott baktériumtörzs, amit Fijan professzortól kaptunk 1975 végén.

A primer tenyésztés véres agaron történt, de néhány esetben Anacker és Ordal (1959) táptalajára is oltottunk. A táptalajokat egyrészt a tipikus fekélyek vérbő szegélyéből (54., 55. kép) közvetlenül, 2,5 mm átmérőjű szélesztő kaccsal vett vizsgálati anyaggal, másrészt a fekélyek szegélyéből kivágott, fiziológiás konyhasóoldatban homogenizált (eldörzsölt) bőrrészlet kacsnyi mennyiségével oltottuk, majd váltott kaccsal alaposan szélesztettük a táptalaj felszínén. Ezt az oltási módszert követtük a mélyen az izomba terjedő súlyosabb elváltozások (56. kép) esetében is, de ilyenkor a fekélyek izomba terjedő részéből is elvégeztük a megadott módon a kioltásokat. A letöredezett uszonyok esetében az úszósugarak vérbő részeit és az úszókon előforduló göböket (57. kép) homogenizáltuk, s azután oltottuk táptalajra az ismertetett módon. A

beoltott lemezeket 48 órán át 28 C°-os termosztátban keltettük és ezután bíráltuk.

A Fijan professzortól kapott izolátumot, valamint a fekélyes halak elváltozásaiából általunk izolált 24 baktériumtörzs biokémiai tulajdonságait Cowan (1975) és Macfaddin (1978) kézikönyve alapján, morfológiai és fejlődésbeli sajátosságait az alábbiak szerint vizsgáltuk.

Az inkubálást mindig 28 C°-on termosztátban végeztük (ha a vizsgálat más hőfokon történt, külön megjelöltük). A baktériumok alakját és nagyságát 28 C°-on 48 óráig keltetett húsleves és 24 óráig keltetett véres agar tenyészetből, valamint véres agaron 10 C°-on 6 napig keltetett tenyészetből származó Gram szerint festett készítményekben tanulmányoztuk. A mozgást sötétlátóteres mikroszkópban és félfolyékony táptalajon vizsgáltuk.

Az izolátumok növekedését az alábbi táptalajokon ellenőriztük közönséges agar, véres agar, szérumos agar, Edwards-féle táptalaj, tryptosés agar, MacConkey-féle agar, Anacker és Oldal-féle agar. A különböző hőmérsékleten való fejlődés mértékét 5, 10, 20, 28, 33, 37 és 45 C°-on véres agaron vizsgáltuk és ugyanakkor a haemolysis jellegét is ellenőriztük. A közönséges agaron fejlődött telepekkel elvégeztük a brucellák R és S teleptípusainak elkülönítésére használatos White-Wilson (1951) festést. A törzsek antibiotikum érzékenységét a Humán Oltóanyagtelmelő és Kutató Intézet „Resistest” korongjainak felhasználásával véres agaron végeztük. A kapott gátlási gyűrűk nagyságát a standard baktériumtörzsekkel kapott gátlási zónaátmérők figyelembevételével az Országos Közegészségügyi Intézet módszertani útmutatója (1969) alapján értékeltük.

Minden egyes izolátummal mesterséges fertőzést is végeztünk: 72 órás véresagar lemeztenyészetek felületéről lemosott telepek szuszpenziójával vagy 72 órás leves-tenyészetrel egészséges tükrös pontyok tûvel hossz- és keresztirányban karcolt bőrét bedörzsöltük. A kárászból származó törzsszel szintén pontyot fertőztünk. A baktérium szuszpenziót tûvel általunk megszűrt úszó-sérülésekbe is bedörzsöltük. Egy alkalommal amurokat is fertőztünk: egykét pikkely eltávolítása után azok helyére dörzsöltük a baktériumtenyészetet. A halakat ötös csoportokban fertőztük és 25 literes levegőztetett akváriumban helyeztük el. Hasonló elhelyezést kaptak az azonos számú kontroll halak is, amelyeket a fertőzöttekhez hasonlóan szűrtünk és karcoltunk, de nem fertőztünk. A kísérletekben egy és kétnyaras halakat használtunk.

A fekélyekből egyidejűleg kitenyésztett *Aeromonas punctata* és *A. hydrophyla*, valamint *Flexibacter columnaris* törzsekkel az előbbivel megegyező elrendezésben végeztük a

fertőzési kísérletet. Pisztrángból származó, pigment termelő *Aeromonas salmonicida* törzsekkel is fertőztünk pontyokat. A fertőzéshez használt jelzés nélküli *Aeromonas salmonicida* törzsek jugoszláv és NDK eredetűek voltak. A jugoszláv törzset Fijan professzor, az NDK törzset a Haltenyésztési Kutató Intézet (Szarvas) bocsátotta rendelkezésünkre.

A megbetegített fekélyes pontyok egy részét az akvárium vizébe tett 50 mg/l mennyiségű chloramphenicollal vagy ugyanilyen mennyiségű Neo-Te-Sol pulvis készítménnyel gyógykezeltük.

Eredmények

Vizsgálataink során 23 olyan baktériumtörzset izoláltunk pontyok fekélyeiből, amelyekkel a fekélyes bőrgyulladást ki tudtuk váltani. 6 esetben háromnyaras, 15 esetben kétnyaras és 2 esetben egynyaras pontyok, 1 esetben kárász fekélyeiből tenyésztettük ki a baktériumot. A kárászból származó törzs a pontyokat fekélyes bőrgyulladásban szintén megbetegítette.

A parazitológiai vizsgálatok során a kérdéses baktériummal fertőzött kezdődő pontyfekélyekben egy alkalommal *Lernaea cyprinacea* rákot találtunk.

A baktériumot elsősorban fekélyek vérbő szegélyéből sikerült kitenyésztetni, de sikeres volt a tenyésztés az úszók göbös elváltozásaiból is. Az esetek zömében a fekélyek közepéből végzett tenyésztés alkalmával nem került elő ez a baktérium, kivéve az 55. képen látható súlyos eseteket. A belső szervekből (lép, máj, vese) *Aeromonas hydrophila* és *A.punctata* fajú baktériumokat csak súlyosan fekélyes, az általános ödéma tüneteit (szem kidülledés, pikkelyborzolódás, hasûri vizenyő) mutató pontyokból lehetett kimutatni.

A fekélyes bőrgyulladás szezonális eloszlása az 1976-1977 években az 1. ábrán látható. E vizsgálatokhoz képest a betegség szezonálisitása máig nem változott.

A fekélyes bőrgyulladást kiváltó 24 baktériumtörzs egységes tulajdonságokat mutatott és tulajdonságai megegyeztek a Fijan professzortól kapott izolátum jellemvonásaival is: A baktérium nem festődött Gram szerint, alakja pálca, szélessége: 0,4-0,6 μm , hosszúsága: 0,8-1,5 μm , nem mozog.

Nem fejlődött tryptosés agaron, MacConkey-féle agaron és Edwards-féle táptalajon sem. Jól fejlődött közönséges, véres és sérumos agaron. Az Flexibactérium tenyésztésére szolgáló Anacker és Ordal féle táptalajon 28 C^o-on keltetve csak egy hét elteltével fejlődött ki akkora telep, mint a fõlsorolt agarlemezek.

Véres agaron tenyésztve nem fejlődött 37 és 45 C^o-on, de 37 C^o-on 24 óráig keltetett tenyészetek szobai hőmérsékletre áttéve fejlődésnek indultak. 33 C^o-on már növekedett, de fejlődött 5 C^o-on is. 20 és 28 C^o-on 24 óra elteltével alig látható tûszûrásnyi telepeket képezett. Az általa okozott béta haemolysis 48 óra elteltével fõleg a szubkultúrákban volt jól látható (60. kép). 48 óra elteltével 0,4 mm átmérõjû száraz telepeket alkotott (58., 59. kép). Ugyanezt a fejlettséget 10 C^o-on 6 nap alatt, 5 C^o-on 22 nap alatt érte el (4. ábra).

A telepek félgömbszerûen domborodtak a táptalaj felszíne fölé és kacsával érintve valamennyit pikkelyszerûen

egészben lehetett leválasztani a talajról, illetve tovább tolni az agar felszínén (58., 59. kép).

Közönséges és szérumos agaron a telepek morfológiája azonos volt a véres agaron fejlődött telepekével. Pigmentképzés több hét elteltével sem mutatkozott. Élettani konyhasó oldatban a telepek nehezen szuszpendálódtak és néhány óra alatt a cső aljára ülepedtek. A White-Wilson szerint minden izolátumunk R típusú telepekben nőtt (61. kép).

Közönséges levesben tenyésztve szemcsés üledék képződött, amely a cső falára lerakódott. Halhúsból készült levesben az üledék nagyobb rögöket képezett. 6 % konyhasó tartalmú levesben és peptonvízben nem volt fejlődés.

A baktériumtörzsek egységesen rezisztensek voltak penicillinre, oxacillinre és methicillinre, valamint polymyxin B-re. Érzékenységet tanúsítottak a következő antibiotikumokkal és kemoterapeutikumokkal szemben: chloramphenicol, streptomycin, oleandomycin, tetracyclin, neomycin, erythromycin, oxytetracyclin, nitrofurantoin, sumetrolim, sulfotrim.

A ponty fekélyéből származó atipikus *Aeromonas salmonicida* baktérium azonosítása során elvégzett főbb vizsgálati eredményeket, összevetve a furunkulózist előidéző tipikus *Aeromonas salmonicida salmonicida* fajjal a 2. és 3. ábra tartalmazza.

A baktériummal történt fertőzés után az 5-6. napon jellegzetes bőrgyulladás alakult ki: a karcolás vonalát követő fekélyek alakultak ki (64. kép). A szúrásokkal felsértett bőrön vérbő göbök keletkeztek, melyek fokozatosan megnagyobbodtak, középső részük lassan elhalványult, elhalt, majd ellökődött, végül gyulladással udvarral körülvett fekély keletkezett. A fertőző ágens úszók sérüléseibe dörzsölve hasonló göbképződést kaptunk (62., 63. kép). A súlyosan fekélyes halak általános ödéma tünetei között (68. kép) hamarosan elhullottak. A bőr és az úszók elváltozásaiból a baktériumot visszanyertük, de a belső szervekből csak azokban a ritka esetekben, amikor a fekély a hasüreg perforációjához vezetett. A kontroll-halakon fekélyképződés nem volt.

Az amurok fertőzése nyomán az eltávolított pikkelyek környezetében egy hét alatt 1-2 pikkelyre terjedő bővérűség alakult ki. Göbképződést az uszonyokon itt is észleltünk. A bővérűség azonban mindkét esetben hamarosan eloszlott és elhullások nem voltak.

A kontroll-halakon fekély és göbképződés soha sem jelentkezett a kísérletek folyamán. A fekélyekből egyidejűleg izolált *A. hydrophila* és *A. punctata* törzsek, valamint a *Flexibacter columnaris* fekélyeket nem hozott létre.

A külföldi eredetű *A. salmonicida* törzsekkel sem tudtunk fekélyeket előidézni. Az akvárium vizéhez 50 mg/l mennyiségben adagolt chloramphenicol és Neo-Te-Sol pulvis a fekélyek gyógyulásához vezetett. A gyógyulás során elsőként a fekélyeket övező bővérűség tűnt el (64-67. kép) és csak ezt követően indult meg a hámosodás.

Megbeszélés

A bőr mesterséges sérüléseibe bedörzsölt 24 baktériumtörzsünk mindegyike kiváltotta a tipikus bőrgyulladást. Figyelemreméltó és járványtani szempontból jelentős, hogy a kárászból kitenyészett baktérium is kiváltotta pontyokban a fekélyeket.

E baktérium rendszertani helyét a *Vibrionaceae* család *Aeromonas* genusában határozhatjuk meg. Tulajdonságai az *Aeromonas salmonicida* speciesnek felelnek meg a leginkább, de az eddig leírt *A. salmonicida salmonicida*, *A. salmonicida . achromogenes* és *A.s. masoucida* subspeciesektől eltérnek. A Kölbl (1978) vizsgálataiban jelzett alacsony hőfokon végzett tenyésztésnél mutatkozó Gram-pozitívítást nem tapasztaltunk, ezért nem sorolhattuk a baktériumot az *Arthrobacter* genushoz.

Az a tény, hogy a fekélyek mélyéről a baktérium ritkán tenyészthető ki, azt mutatja, hogy a mélyre terjedő fekélyek létrehozásában más fajoknak is szerepe lehet. Kölbl (1978) szerint a gyógykezeléseknél az antibiotikum megválasztásánál ezeknek a baktériumoknak az érzékenységét figyelembe kell venni.

Felméréseink szerint a betegség csaknem az egész év folyamán előfordul. Halmozódása azonban a halak mozgatása következtében a tavaszi kihelyezés után és az őszi lehalászást követően fokozódik. A legmelegebb nyári hónapokban nem mutatkozott. Ez a szezonális egyezik jugoszláv szerzők gyakorlati megfigyelésével, akik szerint a lehalászáskor a válogató asztalon fertőződnek. Valóban, a lehalászáskor a halakat még kíméletes bánásmód mellett is érheti bőrsérülés, amely kaput nyit a kórokozó számára.

Halakban az immunitás kialakulása a hőmérséklet függvénye: immunválasz csak magasabb hőmérsékletű vízben jöhet létre. A zsúfolt telelőkben elhelyezett, ősszel fertőződött halakban a fekélyek a tél folyamán - immunitás híján - nem gyógyulnak, sőt ha lassan is, de tovább növekednek, hiszen a baktérium alacsony hőmérsékleten, 5 C°-on is képes fejlődni (4. ábra).

A fekélyek halmozott jelentkezésében a *Lernaea cyprinacea* parazitikus életmódú rák szintén szerepet játszhat, mert önmagában is súlyos sebeket képes ejteni a ponty bőrén. Ha ezekben a bőrsérülésekben a kórokozó elszaporodik, a *Lernaea* kilökődése után a gyógyulás helyett

fekélyes bőrgyulladás alakul ki, aminek parazitás eredetére legfeljebb a fekélyek predilekciós helyeződése utal.

A kórokozó kimutatása az ezüstkárászból (*Carassius auratus gibelio*) azt bizonyítja, hogy ez a halfaj szerepet játszhat a betegség terjesztésében. E halfajt már a kórokozó megismerését megelőzően sikeresen fertőzte Fijan (1966). Sikeres fertőzési kísérletünk az amur (*Ctenopharyngodon idella* Val.) fogékonyságát igazolja. Az amur mesterséges fertőzéséről szóló irodalmi adatról nincs tudomásunk.

Kocylowski és Miaczynski (1963) a hasvízkórra jellemző fekélyeket úgy tartja számon, hogy azok a heveny megbetegedés során képződő savós-véres izzadmánnyal telt bőrhólyagok helyén jönnek létre és a fekélyeket körülvevő, bővérű szegély vérzékeny szövetburjánzás következménye, valamint a gyógyulás jele.

A fekélyekből izolált baktérium és a velük végzett sikeres mesterséges fertőzés ellentmond Kocylowski és Miaczynski felfogásának. A fekélyeket övező bővérű szegély pedig éppen a baktérium aktív jelenlétének következménye, hiszen az antibiotikum kezelésekre hatására ez a bőrpír tűnik el elsőnek (65., 67. kép). A fekélyeket övező bővérűség magyarázatát Bootsma (1979) adta meg, amikor a jelenség kiváltásáért az általa elsőként izolált baktérium exotoxinját tette felelőssé.

Az *Aeromonas salmonicida* a pisztráng-félékben a furunkulózis nevű bántalmat idézi elő. Ez is fekélyképződésben nyilvánul meg, de csak a betegség idült szakaszában.

A kórokozó a vérrel kerül a bőrbe, ahol zárt góc keletkezik és ez csak később válik fekélyé.

A ponty fekélyes bőrgyulladásánál a fertőzés külső sérülésből indul ki. A fekélyek kialakulását göbképződés előzi meg, s ez a heveny hasvízkórtól függetlenül is létrejöhethet. A göbképződés az uszonyokon töredezettséget okoz. Az uszók töredezettségét Molnár és Szokolczai (1973) az idült hasvízkór jellegzetes tünetének tartották. Annak ellenére, hogy az uszókban lévő göböket már Wunder és Dobrowski 1953-ban leírta és róla rajzokat is közölt, kevés figyelmet fordítottak erre az uszonytöredezetést megelőző stádiumra, sőt CE agens göbökből történt izolálását az irodalomban e saját vizsgálatok előtt még nem említették.

Fontos a halegészségügyi szemlék alkalmával az úszók állapotát folyamatosan ellenőrizni, mert a göbök megjelenése az *Aeromonas salmonicida* jelenlétére hívhatja föl a figyelmet. E tekintetben gondot jelenthet az elkülönítő kórjelzés szempontjából a *Telohanellus nikolskii* Myxozoa okozta úszóelváltozás, ami ciszták képződésében nyilvánul meg. Ez a betegség elsősorban az ivadékot érinti; bővérűség a ciszták körül soha sincs és a

cisztatartalom mikroszkópos vizsgálata a spórák kimutatásával biztosítja a diagnózist.

Összefoglalás

A pontyok fekélyes bőrgyulladásából izolált baktériumtörzsek vizsgálata alapján megállapítható, hogy a kérdéses betegséget az *Aeromonas salmonicida* fajhoz közelálló baktérium idézi elő. Ez Bootsma et al. (1977) korábbi megállapításait erősíti meg. A mesterséges fertőzések során előbb kölesnyi vérbő göbök keletkeznek a ponty bőrén, középső részük lassan elhalványul, elhal és ellökődik, és végül gyulladással udvarral körülvett fekély képződik. A súlyosan fekélyes halak általános ödéma tünete között elpusztulnak. A göbképződés az úszókon az úszósugarak töredezésére vezet. A mes-terseges fertőzéssel kiváltó elváltozásokból a baktérium visszanyerhető. A fekélyekből izolálható egyéb baktériumfajokkal (*A. punctata*, *A. hydrophila*, *Flexibacter columnaris*) és pigment termelő *Aeromonas salmonicida* törzsekkel fekélyeket létrehozni nem lehetett.

54-55. kép

56-57. kép

58-59. kép

60-61. kép

62-63. kép

64-65. kép

66-67. kép

68-69. kép

1-2 ábra

3-4 ábra

IRODALOM JEGYZÉK

Ahne W. (1973) Zellkulturen an verschiedenen Süßwasserteleostergeweben und Untersuchungen über die Ätiologie der Schwimmblasenentzündung der Karpfen. Thesis, Ludwig Maximilian-Universität, München.

Alderman, D. J.- Harrison, J.L.-Bremer, G.B.-Jones E.G.B. (1974): Taxonomic revision of the marine biflagellate fungi: The ultrastructural evidence, *Marine Biology*, 25. 345-357.

Anacker, R.L. - Ordal, E.J. (1959): Studies on the myxobacterium *Chondrococcus columnaris* I. Serological typing. *J. Bacteriol.* 78. 25.

Arshanica N.M. (1969) [Data about epizootiology, diagnosis and prevention of swimbladder inflammation in carp.] *Izvestia GosNIORCH* 69, 15-46.

Bachmann P.A. - Ahne W. (1973) Isolation and characterisation of agent causing swimbladder inflammation in carp. *Nature*, London 244, 235-237.

Csaba Gy. - Békési L. (1977): *Flexibacter columnaris* előfordulása hazai halállományokban. Szarvas, II. Halászati tudományos napok, HAKI kiadvány, 100-103.

Bauer, O.N.-Musszeliusz, A. V. -Szterlkov, J. A. (1969): *Bolezni prudojih rib. Kolosz. Moszkva.*

Becker, C.D. (1962): A new haemogregarine from the blood of freshwater fish, *Catostomus macrocheilius* Giard, *J. Parasitol.* 48. 596-600

Becker, C.D. (1970): A symposium on diseases of fishes and shellfishes. Special Publication No. 5, American Fisheries Society, Washington, D. C.

Betegh L. (1910): Közlemények az Összehasonlító Élet Körtan Köréből, 9. 100.

Bootsma, R. (1973): An outbreak of carp (*Cyprinus carpio* L.) erythrodermatitis caused by a myxobacterium. *Aquaculture*, 2. 317.

Bootsma, R. (1975): Studies on the aetiology of carp erythrodermatitis. Presented FAO/EIFAC Meet.fish dis., September 29th-October 2nd, 1975. Zagreb, Yugoslavia. Draft report, FAO, Rome, p.6.

- Bootsma, R. (1976.): Columnaris disease of cultured carp *Cyprinus carpio* L. characterization of the causative agent. *Aquaculture*, 7. 371.
- Bootsma, R. - Blommaert, J. (1978): Zur Ätiologie der Erythrodermatitis beim Karpfen *Cyprinus Carpio* L. In *Fisch und Umwelt* Heft 5. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, NewYork.
- Bootsma, R. - Fijan, N. - Blommaert, J. (1977): Isolation and preliminary identification of the causitive agent of carp erythrodermatitis. *Veterinarski Arhiv*. 47. 291.
- Bucke, D. - McCarthy, D. - Hill, B. (1975): A report of suspected erythrodermatitis in carp in Great Britain. *J. Fish Biol.* 7. 301.
- Bucsek, J.- Mária. - Csaba, Gy. (1981): Ultrastructural observation on a carp blood parasite of uncertain taxonomic position, *Fish, pathogens and environment in European polyculture*, Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas,. 111-122.
- Buza, L. (1975): A halhústermelés fejlesztése 2. Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas
- Buza, L. (1978): Hal- és méhegészségügyi tevékenység, *Magyar Állatorvosok Lapja különszáma*, 1978 október.
- Cowan, S. T. (1975): *Cowan and Steel's Manuel for the Identification of Medical Bacteria*. Second Edition, University Press, Cambridge.
- Csaba, Gy. (1976): An unidentifiable extracellular sporozoon parasite from the blood of the carp. *Parasitologia Hungarica* 9. 21-24.
- Csaba, Gy. - Láng, Mária - Rátz, F.: Unknown organisms causing winter skin disease on common carp (*Cyprinus carpio*), *European Association of Fish Pathologists. VIII-th International Conference „Diseases of Fish and Shellfish“*, Edinburgh, Heriot-Watt University, 14-19 September 1997.
- Csaba, Gy. - Kovács-Gayer Éva - Békési, L. - Tuboly, S. - Bánki Mária - Körmendy, B. (1982): Mykobakteriose der Fische, II. Massenerkrankung in einer *Macropodus opercularis* Zucht, *Riv. It. Piscic Ittiop.*, 17. (2.) 84-88.

Csaba, Gy.- Prigli, Mária-Kovács-Gayer Éva- Békési, L. - Bajmóczy, E. - Fazekas, B. (1981a): Septicaemia in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and bighead carp (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens*, Fish, pathogens and environment in European polyculture, Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas, 111-122.

Csaba, Gy.- Körmendy, B. - Békési, L.(1981b): Observation on the causative agent of carp erythrodermatitis in Hungary, Fish, pathogens and environment in European polyculture, Haltenyésztési Kutatóintézet, Szarvas, 95-110.

Csaba, Gy. - Kovacs-Gayer Éva - Békési, L. - Bucsek Mária - Szakolczai, J. - Molnár, K. (1984): Studies into the possible protozoan aetiology of swimbladder inflammation in carp fry, J. Fish Dis., (7) 39-56.

Csaba, Gy. - Láng Mária - Székely, Cs. (1991): Új fonálféreg, az *Anguillicola crassus* megjelenése Magyarországon, Halászat, . 84. (2.) 66-67.

Csaba Gy.- Láng Mária - Sályi G. - Ramotsa Julianna - Glávits R. - Rátz F. (1993): Az *Anguillicola crassus* (Nematoda, Anguillicolidae) fonálféreg és szerepe az 1991. évi balatoni angolnapusztulásban. Magyar Állatorvosok Lapja, 1993. 48. (1) 11-21.

Csaba, Gy. - Szakolczai, J. - Tóth Lászlóné: A pisztráng vörösszájbetegsége (redmouth disease) Magyarországon, Magyar Állatorvosok Lapja 1991. 46. (7.) 305-401.

Csaba Gy. - Rátz F. (1994): „Véglények szerepe a díszhalak granulomatózisában” XVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas

Csaba Gy. - Majoros G. - Láng Mária (2003): „Lépduzzanattal járó elváltozás és egy ismeretlen organizmus pontyokban” Akadémiai beszámoló, Állatorvos-tudományi Egyetem, 2003. január 22.

Daniels, S.B.-Roger, R.H.-Burke, C.N. (1976): Fine structure of an unidentified protozoon in the epithelium of rainbow trout exposed to water with *Myxosoma cerebralis*, The Journal of Protozoology, 23. 402-410.

Dykstra, M.J. (1984): *Diplophrys marina*, a new scale-forming marine protist with Labirinthulid affinities, Mycologia, 76. (4) 626-632.

- Doflein, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. Zool. Jahrb. Anat. (1898) 2. 281-350
- Dykova, I. - Lom, J. - Körting, W. (1990): Light and electronmicroscopic observations on the swimbladder stages of *Sphaerospora renicola*, a parasite of carp (*Cyprinus carpio*), Parasitol. Res., 76. 228-237
- Fijan, N. N. (1966): Experimental Transmission of infectious dropsy of carp Bul. Off. int. Epiz. 65. 731.
- Fijan, N. N. (1972): Infectious dropsy in carp - a disease complex. Symp. Zool. Soc. Lond. No. 30. 39.
- Fijan, N. N. - Kunst, L. - Tomasec, I. (1967): O liecenju zarazne vodene bolesti sarasana nekim antibioticima i furazolidonom. Vet. Arhiv. Zagreb., 37. 34.
- Fijan, N. N. - Obradovic, J. (1975): Studies on the aetiology of carp erythroridematitis. Presented FAO/EIFAC Meet. fish dis., September 29th - October 2nd, 1975. Zagreb, Yugoslavia. Draft report, FAO, Rome, p.6.
- Fijan, N. N. - Petrinc, Z. (1973): Mortality in a pond caused by carp erythroridematitis. Riv. It. Piscic. Ittiop., 8. 45.
- Fijan, N. N. - Petrinc, Z. - Sulimanovic, D. - Zwillenberg, L. O. (1971): Isolation of the viral causative agent from acute form in infectious dropsy of carp. Vet. Arhiv., Zagreb. 41. 125.
- Fujita, T. (1912): Notes on new Sporozoan parasites of fishes, Zool. Anc. 39. 251-261
- Griscsenko, L.I. (1967) [The swimbladder inflammation of carps.] Veterinarija, Moskva 43, 78-79. (In Russian.)
- Heuschmann-Brunner, G. (1974): Zur bakteriologischen Diagnose der *Aeromonas salmonicida*-Infectionen der Fische. Berl. München. Tierärztl. Wschr., 87. 437.
- Hofer, B. (1904): Handbuch der Fischkrankheiten. München.
- Höglund, J.- Alfjorden, A. - Nikkilä, T. (1997): Infection of juvenile salmon *Salmo salar* with a *Dermocystidium*-like organism in Sweden, Diseases of Aquatic Organisms, 30. 171-176.

Jankov, G. Y. (1968a): Recherches sur la microflore intestinale des Carpes atteintes d'Hydropisie infectieuse. Bull. Off. Int. Epiz., 69. 1057.

Jankov, G. Y. (1968b): Etudes sur les propriétés pathogènes de quelques souches d'Aeromonas et de Pseudomonas et leur action sur des carpes saines. Bull. Off. int. Epiz. 69. 1095.

Kanaev, A.L. - Lobuncov, K. A. - Naumova, A.M. (1967): [Microflora and parasitofauna of carps diseased in swimbladder inflammation.] Ribnoje Hozjajsztvo, Moszkva 43, 16-18.

Kanaev, A.I. - Kuzmin, G.G. (1970) [The swim bladder inflammation of carp and the control measures against the disease.] Rosselchorisdat, Moszkva, 1-42. (In Russian.)

Kocylowski - Miaczynski (1963): Halbetegségek. Mezőgazd. Kiadó. Budapest.

Kocylowski, B.J. - Antychowicz, J. - Zelazny, J. (1970) Studies on the etiology and pathogenesis of carp swimbladder inflammation. Rivista Italiana de Piscicoltura e Ittiopatologia 3, 59-63.

Kohl-Yakimoff, N. - Yakimoff, W.L. (1915): Hämogregarinen der Seefische. Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I. Orig. 76. 135-146.

Kluge, J. P. (1965): A granulomatous disease of fish produced by *Flavobacteria*, Path. Vet. 2. 545-552.

Körmendy, B. - Tuboly, S. - Bánki, M. - Csaba, Gy. - Békési, L. - Kovács-Gayer Éva (1979): Mykobakteriose der Fische, I. Die Eigenschaften der aus Fischen isolierten Mykobakterienstämme, Schweiz. Arch. Tierheilk., 121., 201-205.

Kölbl, O. (1978): Bakterien als Ursache der Erythrodermatitis der Karpfen (Chronische Form der IBW). Österreichs Fischerei, 31. 201.

Kovács-Gayer, Éva - Békési, L. - Csaba, Gy. (1980): Some aspects of the histopathology of carp erythrodermatitis (CE), Fish Diseases, Third COPRAQ-session, ed. by Ahne. 127-136.

Kudo, R. R. (1954): Protozoology, 4th ed., Charles C. Thomas. Springfield, Illinois, U.S.A.

Landsberg, J.H. - Paperna, I. (1992): Systematic granuloma in goldfish caused by a Dermocystidium-like aetiological agent, *Diseases of Aquatic Organisms*, 13. 75-78.

Lainson, R. - Landau, I.- Shaw, J. J. (1974): Further parasites of the family Garniidae (Cocidia: Haemosporidiidae) in Brazilian lizards. *Fallisia effusa* gen. nov., sp. nov. and *Fallisia modesta* gen. nov., sp. nov. *Parasitology*, 68. 117-125.

Laird, M. - Bullock, W. L. (1969): Marine fish haematozoa from New Brunswick and New England, *J. Fish Res Board of Canada*, 26. 1075-1102

Macfaddin, J. F. (1978): Biochemical tests for identification of medical bacteria. The Williams and Wilkins Company, Baltimore

Manwell, R.D. (1964): The genus *Dactylosoma*. *J. Protozool.* 11. 526-530

Markiewicz, F. (1966) [Swimbladder inflammation - a new disease of carp.] *Gospodarka Rybna* 18. 8-9. (In Polish.)

Mattheis, T.H. - Kulow H. (1967) Die Schwimmblasenerkrankung des Karpfens. *Deutsche Fischerei-Zeitung* 14. 77-86.

McVikar, A. H. (1982): Ichthyophonous infections of fish In: *Microbial Diseases of Fish*, ed. by Roberts, R. J. Academic Press Inc., London, 1982. 243-269.

Molnár, K. - Szokolczai, J. (1973): *Halbetegségek*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

Molnár, K. (1980) Renal sphaerosporosis in the common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases* 3, 11-19.

Molnár, K. - Csaba, Gy. - Kovács-Gayer Éva (1986): Study of the postulated identity of *Hofferellus cyprini* (Doflein, 1898) and *Mitraspora cyprini* Fujita, 1912, *Acta Veterinaria Hungarica*, 1986. 34. (3-4.) 177-181.

Molnár, K. - Kovács-Gayer Éva (1986): Experimental induction of *Sphaerospora renicola* (Myxosporea) infection in common carp (*Cyprinus carpio*) by transmission of SB- protozoans. *J. Appl. Ichthyol.* 2. 86-94.

Nawrotzky, N.N (1914): Haemogregarina acipenseris. Zentr. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I. Orig. 73. 360-361.

Neciporenko, J.D. - Rudenko, A.P. - Karpenko, J.M. - Advosev, B.S. (1963) [The swimbladder inflammation of carp as the complication of dropsy.] Thesis IV. Ysesajuz. societies. po boleznyam ryb., Moszkva, 74-75. (In Russian.)

Ollenschlager, B. (1975): Blutparasiten bei Nutzfischn und ihre Übertragung, Tierärztl. Prax. 3. 99-107.

Országos Közegészségügyi Intézet: Módszertani útmutató. Budapest. 1969.

Oszadcsaja, E. F. (1970): Iszpoljzovanyie pervicsnih odnoszlojnyih kletocsnyih kultur karpa dlja vigyelenyija citopatogennovo agenta ot rib bolnyih krasznuhov. Ribnoe Hozjajsztvo. Kiev, 10. 99.

Odening, K (1987): Sphaerospora renicola (Myxosporidia), der Erreger der protozoären Schwimmblasenentzündung des Jungkarpfens, Merkl. Angew. Parasitenkd. Schädln. bekämpf. Jena, 30. S. 1-16.

Otte, E. (1966) Die eitrige Schwimmblasenentzündung des Karpfens. Wiener Tierärztliche Monatschrift 53. 401-403.

Ősz Gy. (1963): In: Kocylowski Miaczynsky: Halbetgségek, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

Plehn, Maria: Praktikum der Fischkrankheiten. Schweitzerbart'sche Verlagsbuch-handlung, München, 1924

Pol, J.M.A. - R. Bootsma - Berg-Blommaert, J.M. (1979): Pathogenesis of carp erythrodermatitis (CE): role of bacterial endo- and exotoxin. XXI. „World Veterinary Congress, Summaries. Moszkva.

Roth, W. (1922) Krankheiten der Aquarienfische und ihre Bekämpfung. Stuttgart.

Roberts, R. J. (1982): Microbial Diseases of Fish, ed. by. Academic Press Inc., London, .

Schäperclaus, W. (1930): *Pseudomonas punctata* als Krankheitserreger bei Fischen. Z.Fisch.Hilfswiss., 28. 289.

Schäperclaus, W. (1942): Beitrag zur Kentniss der Punctata Formen und zur Theorie der Entstehung der infektiösen Bauchwassersucht des Karpfens., Zbl. Bakt. Abt. II. Orig. 105. 49. Jena.

Schäperclaus, W. (1956.): Die Bauchwassersucht des Karpfens eine bakterielle Infektionskrankheit und neue Methoden zu ihrer erfolgreichen Heilung und Bekämpfung durch antibiotische Mittel. Arch. Fischereiwiss. 7. 9. Berlin.

Schäperclaus, W. (1979) Fischkrankheiten. Akademie-Verlag, Berlin.

Schubert, R.H.W. (1974): Aeromonas (II Genus/. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 6th ed. 345.

Shulman, S.S. (1962): Protozoa in: Opregelitel parazitov presnovodnyh rib U.S.S.R., Moskva, Leningrad.

Smirnova, L.I. (1971): Pathology of carp. Blood infested with Haemogregarina, Hydrobiologia, Den Haag, 37. 1-6.

Staff, F. (1925): Choroba nozdrzy u karpi jako przyczynek do fizjologii i patologii snu zimowego u ryb. Rocznik Ichthyob., Warszawa, 1. 2-47.

Szokolczai, J. (1967) Untersuchungen der Schwimmblasenentzündung bei Karpfen anhand von zwei Fällen in Ungarn. Zeitschrift für Fischerei 15. 139-151.

Szokolczai, J. (1969): Adatok a heveny pontyhasvízkór oktanához és kórfejlődéséhez. Kand.dissz., Budapest

Tec, V.I. - Jakovleva, G.S. (1962): Polucenie kultury tkanej karpa i ee primenenie pri izucenii etilogii krasnuhi ryb. Nauch. Tekhn. Byul. GosNIORH, 15. 73.

Tomasec, I. (1941): O biti t. zv. zarazne vodene bolesti (Pseudomonas infekcie) sarana.Vet. Archiv., Zagreb., 11. 257.

Tomasec, I. (1966): Considerations generales sur le probleme de l'étiologie de l'Hydropisie Infectieuse de la Carpe, Bull.Off. int. Epiz., 65. 721.

Voelker, F. A. - Anver, M. R. - McKee, A. E. - Casey H. W. - Breniman G. R. (1977): Amebiasis in goldfish, Vet. Pathol., 14. 247-255.

Waluga, D. - Budzynska, H. (1980) [Sphaerospora invasion as the cause of a massive mortality in carp populations.] Gospodarka rybna 7. 5-7. (In Polish.)

White, P. G. - Wilson, J. B. (1951): Differentiation of smooth and nonsmooth colonies of Brucellae, J. Bacteriol. 61. 239.

Wunder, W.- Dombrowski, H. (1953): Untersuchungen über die ansteckende Bauchwassersucht des Karpfens. Z.Fisch., 2. NF. 327.

A KÉPEK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE

1. kép. A *Sphaerospora renicola* általam fölfedezett, vérben élő fejlődési alakjai
2. kép. Fiatal fejlődési alakok a kopoltyú kapillárisban (EM 11000 x)
3. kép. A vérben extracellulárisan fejlődő organizmus ciklusa
4. kép. A ponty duzzadt lép betegsége.
5. kép. A fehérvérsejtek citoplazmájában élő organizmus ponty duzzadt lép betegségében (vérkenet, Giemsa-festés)
6. kép. Ismeretlen organizmus a ponty veselenyomatában, a nyilakkal jelölt fehérvérsejtekben.
7. kép. A fehérvérsejtben talált organizmus elektronmikroszkópos képe (EM 19000 x)
8. kép. Egészséges úszóhólyag, üvegszerűen átlátszó belső fal (8 x).
9. kép. Heveny úszóhólyag-gyulladás: az elhomályosodott belső falat vérzések, kitágult, elágazódó erek borítják (8 x).
10. kép. Vérzések az úszóhólyag külső zsákján
11. kép. A *Sphaerospora renicola* spórái és pansporoblasztjai a ponty vese tubulusában.
12. kép. Idült úszóhólyag gyulladás. A korábbi vérzések helyét fibrin felrakódás és az úszóhólyag falának megvastagodása jellemzi.
13. kép. A hevenyfal úszóhólyag-gyulladás belövellt ereihez érintett tárgylemezen nagyszámú plazmódium látható (Giemsa-festés)
14. kép. A vérzések és kitágult erek az úszóhólyag falában (hematoxin-eozin, 120 x)
15. kép. A parazita plazmódiumainak halmazai a kitágult erek körül (haematoxin-eozin, 360 x)
16. kép. Az úszóhólyag falának szövettani metszete (Giemsa-

festés). A nyilakkal jelölt területen szétszóródott harmadlagos sejtek magtöredezésre emlékeztetnek.

17. kép Lenyomat erezetesen belövellt úszólyag falról (Giemsa-festés): több mint 40 másodlagos sejtet tartalmazó plazmódium.

18. kép. Lenyomat erezetesen belövellt úh. faláról (Giemsa-festés). Balra 8 másodlagos sejtet tartalmazó, jobbra több mint 40 harmadlagos sejtet tartalmazó plazmódium

19. kép Úszóhólyag lenyomat (Giemsa-festés). Egymás mellett két hatalmas plazmódium, zömében három magvú, harmadlagos sejteket tartalmaznak.

20. kép. A harmadlagos sejt ultrastruktúrális képe (EM 12500 x).

21. kép. A veselenyomatban a szöveti kötelékből, azaz vesecsatornából kiszabadult *Sphaerospora renicola* sporoblasztok, némelyikben élénk eozinofil festődésű sarki tokok (Giemsa-festés)

22. kép. Granulomatózisban beteg ponty duzzadt, góccal teli lépe.

23. kép. A ponty garanulomatózist előidéző *Dermocystidium* fiatal alakjai (Giemsa-festés).

24. kép. A *Dermocystidium* idősebb alakjainak plazmája vakuolizált (veselenyomat, Giemsa-festés).

25. kép A *Dermocystidium* elektronmikroszkópos képe. Az anyasejtben leánysejtek alakulnak ki (EM 14310 x).

26. kép. A *Sphaerospora renicola* fejlődésének vázlata.

27. kép. Az aranyhal (teleszkópszemű változat) előrehaladott granulomatózisában a szemben is előfordul granulóma-képződés

28. kép. A granulómás aranyhal hasûri szerveiben (vese, máj, lép) góccok mindenhol előfordultak.

29. kép. A granulomatózisban beteg aranyhal szív izomzatában szabad szemmel is láthatók sárgásfehér góccok (gümőkór esetében a szív izomzatban góccok nincsenek!).

30. kép. Az alapszövet (vese) alig ismerhető fel. A legnagyobb elhalásos góc szélén tûszûrásnyi képletek sorakoznak (fagyaszott metszet, haematoxin-eozin festés,

100 x)

31. kép. A góc közepén vörösre festődő elhalt anyag, az elhalás szegélyén zöldes árnyalatú kerekded képletek keskeny sávban sorakoznak (fagyaszott vese, PAS reakció, 200 x).

32. kép. A nyilakkal jelzett, 5-7 μm méretű, vörösre festődő magvú, halványkék és vakuolizált citoplazmájú, kerekded képletek közelebből nem azonosított amoebák (veselenyomat, Giemsa-festés).

33. kép. Aranyhal vese elhalásos gócának szegélyéből kimutatott amoeba (EM 12000 x).

34. kép. Téli bőrelváltozásban beteg ponty. Beesett szem, a szaruhártyán tejüvegszerű elváltozás.

35. kép. A kültakarón a tejüvegszerű felrakódás gyakran alaktalan formákat képez.

36. kép. A körkörös hámszaporulat a még vízben tartózkodó pontyokon észlelhető legjobban.

37. kép. A hámszaporulat alatt a bőr kipirul, gyulladás alakul ki.

38. kép. A ponty bőréről beteg hám fokozatosan leválik és egyre súlyosabb bőrgyulladás alakul ki.

39. kép. Hámleválás utáni kiterjedt bőrgyulladás.

40. kép. A ponty egészséges bőre nyálkasejtekben gazdag (fagyasztott metszet, hematoxin-eozin festés, 150 x).

41. kép. A téli bőrelváltozásban beteg ponty bőréről a nyálkasejtek eltűnnek, a hám felszínén és közelében sötét festődő tojásdad alakú képletek (fagyasztott metszet, hematoxin-eozin festés, 250 x).

42. kép. A ponty bőréről származó fénytörő organizmusok (natív preparátum, jobbra fenn *Trichodinella*).

43. kép. A körte alakú organizmus elkeskenyedő végéről gyökérszerű nyúlványok indulnak ki.

44. kép. Az organizmus citoplazmája sötétkék, a vakuolum enyhén eozinofil festődésű (Giemsa-festés).

45. kép. A kiszélesedett hámból a nyálkasejtek eltűntek, a hámsejtek között ballonizáló elfajulás és hámsejt elhalás észlelhető (fagyasztott metszet, hematoxin-eozin, 400 x).

46. kép. A toluidinkékkel festett félvékony metszetben az organizmus sötétkék színűre festődik (150 x).

47. kép. A organizmus ultrastruktúrája. Az óriás vakuólumban nagy valószínűséggel lipidcsepp (L) nyilakkal jelölve multivezikuláris képletek (EM 22320 x).

48. kép. Az organizmus spóraszerű, citoplazmája a falához képest rendkívül elektrodenz, ezért ugyanazon felvétel csak két expozícióval készült nagyításban értékelhető.

A bal oldali felvételen a spóraszerű képlet többrétegű falán apikálisan kapu nyílik (a nyíllal jelölve), amelyen át a citoplazma gyökérszerű nyúlványt bocsát a környezetébe.

A fal felszínét finoman szemcsézett elektrodenz anyag borítja. A kép alsó részén, a fal közeében lévő homogén anyag nagy valószínűséggel lipidcsepp (L).

A jobb oldali felvétel közepén sejtmag (N), és nyilakkal jelölve multivezikuláris képletek. (EM 12 000 x)

49.kép. Ketté osztódott organizmus a pusztulófélben lévő hámsejtek között. A bekeretezett területen az organizmus gyökérszerű nyúlványainak átmetszetei (EM 9670 x)

50. kép. A 49. kép bekeretezett területének nagyításán a gyökérszerű nyúlványok átmetszetei figyelhetők meg. (EM 43500 x).

51. kép. Az organizmus falát 12-13 membrán alkotja (EM 67760 x)

52. kép. A számos membránból álló fal a kilépő gyökérszerű képlet, a rhizoid mellett visszahajlik. A citoplazmában számos ribosoma van (EM 73175 x)

53.kép. A ketté vált alak egy közös falon belül (EM 14310 x)

54. kép. Tipikus erythrodermatitis. A fekélyek közepe vörös, körülötte fehéres gyűrű van, amit bővérű gyulladással udvar övez, ezen kívül a felhám sötétre színeződő szegélye következik, ami a halak gyulladással folyamatainál általában megjelenő melanophorák jelenlétének következménye.

55. kép Nagy kiterjedésű fekélyek. A pigmentált zónában látható dorsoventrális irányban húzódó karcolásnyomok madárvágás következményei.

56. kép. Mélyen az izomba terjedő fekély. A fekély mélyéről az *A. hydrophila*, *A. punctata* és *Flexibacter* fajok

mutathatók ki, *Saprolegnia* vízipezész fajok kíséretében.

57. kép A farokúszó villájának dorzális ágán három elhalványodott kerekded göb. Az alsó ágon szabálytalan alakú göb, határozott bővérűséggel. E göbök megjelenése gyakran az első figyelmeztető jel az erythrodermatitis járványok kezdetére.

58. kép. A nyíllal jelölt atipikus *Aeromonas salmonicida* telepek az *Aeromonas hydrophila* telepek között (48 órás tenyészet).

59. kép. Az atipikus *A. salmonicida* telepek kacsával a táptalaj felszínén tovább tolhatók, nem kenődnek szét.

60. kép. A pontyok fekélyeiből származó atipikus *Aeromonas salmonicida* törzsek véres agaron 28 °C -on 48 óra elteltével béta haemolyzist okoztak.

61. kép. Bal oldalon a ponty fekélyéből származó atipikus *Aeromonas salmonicida* törzs White-Wilson szerint festődő R típusú telepe. Jobb oldalon egy meg nem határozott, csupán szennyezésként a táptalajra került baktérium S típusú telepe. Az atipikus *Aeromonas salmonicida* törzsek R teleptípusban való fejlődése következetes tulajdonság volt.

62. kép. A pontyivadék felsértett mellúszójába dörzsölt, fekélyből származó *Aeromonas salmonicida* baktériumtörzs hatására vérbő udvarral körülvett göb keletkezett.

63. kép. A göb keletkezése helyén az úszósugarak könnyen törtek. A képen a dorzális úszó első sugara - a bognártüske - és a mögötte helyezkedő második sugár ellökődése.

64. kép. Az *A. salmonicida* izolátumokkal végzett mesterséges fertőzés hatására kialakult bőrgyulladás jellegzetes képe.

65. kép. Az előző képen látható pontyivadék. Az antibiotikum kezelést követő 2. napon a bővérűség jelentős mértékben visszahúzódott.

66. kép. A fertőzést követő 10 nap körül a fekélyek elhalt középső része ellökődött és a fekély az izomzatig hatolt.

67. kép. Az előző látható fekély a chloramphenicol (a kísérlet idején engedélyezett készítmény volt) kezelés utáni 4. napon. A kezelés hatására a bővérűség teljesen eltűnt.

68. kép. A pontyból származó atipikus *A. salmonicida* izolátummal fertőzött pontyivadék gyógykezelés nélkül, szemdülledés és hasi terime megnagyobbodás, általános oedema tünetei mellett elhullott.

69. kép. Az *Aeromonas salmonicida* atipikus törzsei az ezüstkárászt (*Carassius auratus gibelio*) is megbetegítik, az ezüstkárász állományokban tömeges elhullást okozhat.

1. ábra. A ponty fekélyes bőrgyulladás ma is az 1976–1977 között megfigyelt időszakokban fordul elő.

2. ábra. A pizstrángok furunkulózisát előidéző *Aeromonas salmonicida salmonicida* törzsek az aláhúzással jelzett trehalóz, galaktóz és glicerin aktivitása ellentétes a pontyból származó törzsekkel.

3. ábra. A pizstrángok furunkulózisát előidéző *Aeromonas salmonicida salmonicida* törzsek aktivitása az aláhúzással jelzett kataláz és zselatinfolyósítás esetében ellentétes a pontyból származó törzsekkel.

4. ábra. Az 5 °C-on való növekedés arra utal, hogy a fekélyképződés a pontyokon a telelés alacsony hőmérsékletén is folytatódhat.

Képek és ábrák készítői

Az ultrastuktúrális felvételek közül a 2., 20. számú két képet Dr. Bucsek Mária, a 25., 47., 48., 49., 50., 52., 53. számú nyolc képet dr. Rátz Ferenc, a 7. számú képet a szerző készítette.

Az értekezés rajzait és az ábrákat, valamint a további 57 fényképet a szerző készítette.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom az Országos Állategészségügyi Intézet Hal- és Méhkórtani Osztá-lyán dolgozó jelenlegi és korábbi munkatársaimnak, az intézet vezetőinek, akik mun-kámban támogattak.

Megköszönöm a társosztályokon dolgozó mindazon kollégák segítségét, akik az érteke-zésben szereplő dolgozatok elkészítésében együttműködtek és annak elkészítésben se-gítségemre voltak.

Köszönettel tartozom az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézet Halkórtani Csoport munkatársainak együttműködéséért.