

Лечение и профилактика

УДК 619:616.

DOI:

Поступила 02.10.2014

Принята 14.01.2016

Для цитирования:

Гаврилин К. В., Л. И. Бычкова Л. И., Дмитриева С. Н., Мамыкина Г. А. Скрининг новых химиотерапевтических средств для борьбы с болезнями рыб, вызываемыми паразитическими дипломонадами (*Diplomonadida* Wenyon, 1926). // Российский паразитологический журнал. – М., 2016. – Т.35. – Вып. 1. – С.

For citation:

Gavrilin K. V., Bychkova L. I., Dmitriev S. N., Mamykin G. A. Screening of new chemotherapeutic agents to combat fish diseases caused by parasitic diplomaragnidae (*Diplomonadida* Wenyon, 1926). *Russian Journal of Parasitology*, 2016, V.35, Iss.1, pp.

СКРИНИНГ НОВЫХ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ РЫБ, ВЫЗЫВАЕМЫМИ ПАРАЗИТИЧЕСКИМИ ДИПЛОМОНАДИДАМИ (*DIPLOMONADIDA WENYON, 1926*)

Гаврилин К. В.¹, Л. И. Бычкова Л. И.¹, Дмитриева С. Н.¹, Мамыкина Г. А.²

¹ Московский государственный университет технологий и управления им. Г. К. Разумовского (Первый казачий университет)

109004, Москва, ул. Земляной вал, д. 73, e-mail: k.gavrilin@yandex.ru

² Центр по рыбоводству и борьбе с болезнями рыб (ООО «Рыбоводцентр»)

123001, Москва, Ермолаевский переулок, д. 18а, e-mail: rvc77@mail.ru

Реферат

Цель исследования – скрининг новых химиотерапевтических средств для лечения гексамитоза декоративных рыб.

Материалы и методы. Испытание препаратов проводили на молоди дискуса *Symphysodon discus* массой тела 15 г, спонтанно инвазированных гексамитидами (*Diplomonadida*). 35 зараженных особей дискуса разделили на 7 групп по 5 экз. Рыбам 1, 2, 3, 4, 5 и 6-й групп назначали в составе гранулированного корма соответственно пириметамин в дозе 50 мг/кг, альбендазол – 50, фенбендазол – 50, мебендазол – 10, сульфат магния – 500 и метронидазол – в дозе 50 мг/кг в течение 5 сут. Рыба 7-й группы была контролем и получала корм без препарата. Эффективность препаратов учитывали через 5 сут после последней дачи лечебного корма. Рыбу вскрывали, выделяли кишечник, который освобождали от кормовых масс, гомогенизировали и микроскопировали при увеличении в 180 раз.

Результаты и обсуждение. Число гексамитид у леченой рыбы по сравнению с контролем снизилось после применения метронидазола на 95,5 %, мебендазола – на 77,8, сульфата магния – на 74,5, фенбендазола – на 56,6, альбендазола – на 50,5 и пириметамин – на 24,4 %. Перспективными для дальнейших испытаний являются мебендазол, сульфат магния, фенбендазол и альбендазол. Наиболее эффективным оказался базовый препарат – метронидазол. В период испытания ухудшения состояния рыб не отмечали. Пищевая активность была умеренной, на уровне 2 % от ихтиомассы. У рыб, леченных метронидазолом, мебендазолом и сульфатом магния, улучшилось состояние здоровья.

Ключевые слова: декоративная рыба, гексамитоз, лечение, метронидазол, мебендазол.

Введение

Представителями отряда Diplomonadida являются жгутиконосцы с двойным, симметричным набором органелл. Они паразитируют преимущественно в пищеварительном тракте и желчном пузыре рыб. Жгутиконосцы способны проникать во внутренние органы (печень, почки, селезенку и т. д.), вызывая системные инвазии. При заболевании специфический симптом – «дырочная болезнь», проявляется у многих видов ценных декоративных рыб [1].

Согласно данным литературы [3], все распространенные на территории РФ дипломонадиды могут быть отнесены к роду *Hexamita* Dyjardin, 1838. В отечественной литературе описано одно заболевание – гексамитоз (октомитоз), вызываемое *Hexamita truttae* Schmidt, 1920.

Поражения паразитическими простейшими встречаются у 17,7 % партий импортируемых рыб. С учетом вторичных бактериальных осложнений этот показатель возрастает до 36,1 % [2]. Проблема заключается не только в появлении на территории РФ большого числа больных особей, но и в возможности завоза новых, ранее не зарегистрированных на территории РФ, паразитов.

По данным зарубежных исследователей, состав отряда Diplomonadida окончательно не определен. Описаны два рода: *Hexamita* и *Spironucleus*. Имеются единичные упоминания о роде *Trichomonas* [10].

Морфологические различия между родами *Hexamita* и *Spironucleus* проявляются во внутриклеточных структурах, в расположении и строении ядер и кинетопластов [5, 6, 8, 9]. Однако, дифференцировать их в нативных препаратах, используя световой микроскоп, практически невозможно из-за крайне малого их размера. Поэтому, опираясь на данные отечественной литературы, при обнаружении в кишечнике рыб паразитических жгутиконосцев их идентифицируют как *Hexamita* spp.

Гексамитоз не является проблемой исключительно декоративной аквакультуры. Представители рода *Hexamita*, кроме широкого перечня видов декоративных рыб, поражают еще и лососевых рыб (*Salmonidae*), включая широко культивируемую в нашей стране радужную форель (*Oncorhynchus mykiss*) [4]. Круг хозяев спиرونуклеусов еще шире. Помимо декоративных рыб, это карп (*Cyprinus carpio*), белый амур (*Stenopharyngodon idella*), треска (*Gadus morhua*), налим (*Lota lota*) и др. [7, 9].

Прогноз болезней, вызываемых дипломонадидами, в искусственных условиях всегда неблагоприятный. Без химиотерапии практически все пораженные особи погибают. Арсенал терапевтических средств в нашей стране практически ограничивается только метронидазолом. На его же основе готовится большинство лекарственных средств для декоративных рыб, как зарубежных, так и отечественных.

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы было испытание различных антипротозойных средств против гексамитид.

Материалы и методы

Исследования проводили на молоди дискуса (*Symphysodon discus*) со среднештучной массой 15 ± 2 г, спонтанно инвазированной гексамитидами. Пораженных рыб отобрали из исходной популяции на основании клинических признаков (потемнение окраски тела и истощение при нормальной пищевой активности). Перед началом эксперимента отобрали пять особей и провели их паразитологическое обследование для обнаружения гексамитид и оценки их числа. Остальных 35 особей разделили на 7 групп по 5 экз. Рыбам первой группы вводили пириметамин в дозе 50 мг/кг, второй – альбендазол (50 мг/кг), третьей – фенбендазол (50 мг/кг), четвертой – мебендазол (10 мг/кг), пятой – сульфат магния химически чистый (500 мг/кг), шестой – метронидазол (50 мг/кг) (препарат сравнения). Рыба седьмой группы получала корм без препарата и служила контролем.

Все препараты вводили в составе полноценного гранулированного корма. На корм наносили желатиновую суспензию веществ. После пропитки ею гранулы просушивали, что обеспечивало фиксацию ДВ в корме. Количество корма определяли экспериментально по

фактической поедаемости. Период кормления составил 5 сут. Суточную дозу скармливали в течение светового дня в три приема.

Паразитологические исследования проводили через 5 сут после последней дачи лечебного корма. Исследуемую рыбу вскрывали и выделяли кишечник, который освобождали от кормовых масс и гомогенизировали. Полученный гомогенат помещали в пробирку, перемешивали и к 100 мкл содержимого добавляли 400 мкл воды, еще раз перемешивали и готовили компрессионный препарат. Препарат просматривали под микроскопом при увеличении $\times 180$ и подсчитывали число жгутиконосцев. Устанавливали число обнаруженных паразитов в 100 мкл первоначального материала и интенсивность инвазии (ИИ) по числу паразитов, приходящихся на одну рыбу.

Уровень различий между средними по исследуемым группам значениями показателей ИИ паразитов оценивали при помощи t-критерия Стьюдента при достоверности 99 %.

Результаты и обсуждение

До начала эксперимента ИИ дискусос составляла $310,0 \pm 19,2$ гексамитид в 100 мкл кишечного гомогената. Рыб, свободных от паразитов, обнаружено не было.

Результаты оценки эффективности лекарственных средств *in vivo* в таблице 1.

Таблица 1

Результаты испытания различных лекарственных средств против гексамитид

Номер группы	Препарат	Доза, мг/кг, в сутки	ИИ, экз./100 мкл	Эффективность, %
1	Пириметамин	50×5	$265,4 \pm 169,4$	24,4
2	Альбендазол	50×5	$173,6 \pm 83,4^*$	50,5
3	Фенбендазол	50×5	$152,2 \pm 85,9^*$	56,6
4	Мебендазол	10×5	$77,8 \pm 32,2^*$	77,8
5	MgSO ₄	500×5	$89,4 \pm 29,4^*$	74,5
6	Метронидазол	50×5	$15,8 \pm 5,9^*$	95,5
7	Контроль	–	$351,0 \pm 137,9$	–

Примечание. * – разница со значениями контрольной группы статистически достоверна ($P \leq 0,01$).

В период применения препаратов и в последующие 5 сут ухудшения состояния рыб не отмечали. Пищевая активность была умеренная. У дискусос 4, 5 и 6-й групп к концу эксперимента отмечали улучшение клинического состояния. Возросла подвижность рыб. У двух дискусос 6-й группы наблюдали появление характерных для нормальной окраски поперечных черных полос.

В результате проведенных исследований установлено, что все испытанные соединения обладают антипаразитарной активностью. Различия в значениях ИИ во всех опытных группах, за исключением группы, получавшей пириметамин, статистически достоверны и отличаются от контроля.

Наиболее активным препаратом оказался метронидазол. Высокую активность против гексамитид проявил сульфат магния. Эффект мебендазола был достаточно выраженным, однако препарат обладает высокой токсичностью в больших дозах. Альбендазол и фенбендазол были менее эффективны и их применение не дало существенного терапевтического эффекта. Пириметамин оказался не эффективен против гексамитид.

Таким образом, для борьбы с инвазиями, вызванными дипломонадидами, рекомендуется использование метронидазола, а также мебендазола (не превышая дозу 10 мг/кг) и сульфата магния.

Литература

1. Гаврилин К. В. Дифференциальная диагностика эндопротозойных инвазий рыб // Рос. вет. журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2011. – № 1. – С. 6–9.

2. Гаврилин К. В., Ершова Т. А., Мамыкина Г. А. Распространенность заразных заболеваний среди тропических рыб // Рос. вет. журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2008. – № 3. – с. 18–20.
3. Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. Т. 1. Простейшие. Справочное пособие. – М.: Колос, 1984. – 428 с.
4. Kent M. L., Ellis J., Fournie J. W. et al. Systemic hexamitid (Protozoa: Diplomonadida) infection in seawater pen-reared chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*: Dis. Aquat. Org. – 1992. – V. 14. – P. 81–89.
5. Kulda J., Lom J. Remarks on the diplomastigine flagellates from the intestine of fishes // Parasitology. – 1964. – V. 54. – P. 753–762.
6. Kulda J., Lom J. *Spironucleus elegans* Lavier, parasite of fish // Parasitology. – 1964.– V. 54. – P. 187–192.
7. Molnar K. Data on the «octomitosis» (spironucleosis) of cyprinids and aquarium fishes // Acta Vet. Acad. Sci. Hung. – 1974. – V. 24. – P. 99–106.
8. Poynton S. L., Fraser W., Francis–Floyd R. et al. *Spironucleus vortens* n. sp. from the freshwater angelfish *Pterophyllum scalare*: morphology and culture // J. Euk. Microbiology. – 1995. – V. 42. – P. 731–742.
9. Sterud E. Ultrastructure of *Spironucleus torosa* Poynton & Morrison, 1990 (Diplomonadida: Hexamitidae), in Cod *gadus morhua* (L.) and Saithe *Pollachius virens* (L.) from South-Eastern Norway // Europ. J. Protistol. – 1998. – V. 34. – P. 69–77.
10. Untergasser D. Handbook fish diseases // Neptune City: T.F.H. publ. – 1989. – 160 p.

References

1. Gavrilin V. K. endoprothesing Differential diagnosis of invasive fish // ROS. vet. log. Small domestic and wild animals. – 2011. – No. 1. – S. 6-9.
2. Gavrilin, K. V., Ershova T. A., Mamykin, G. A. the Prevalence of infectious diseases among tropical fish // ROS. vet. log. Small domestic and wild animals. – 2008. – No. 3. – p. 18-20.
3. Keys to parasites of freshwater fish of the USSR. Vol. 1. Simple. A reference guide. – М.: Kolos, 1984. – 428 p.
4. Kent M. L., Ellis J., Fournie J. W. et al. Systemic hexamitid (Protozoa: Diplomonadida) infection in seawater pen-reared chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*: Dis. Aquat. Org. – 1992. – V. 14. – P. 81–89.
5. Kulda J., Lom J. Remarks on the diplomastigine flagellates from the intestine of fishes // Parasitology. – 1964. – V. 54. – P. 753–762.
6. Kulda J., Lom J. *Spironucleus elegans* Lavier, parasite of fish // Parasitology. – 1964.– V. 54. – P. 187–192.
7. Molnar K. Data on the «octomitosis» (spironucleosis) of cyprinids and aquarium fishes // Acta Vet. Acad. Sci. Hung. – 1974. – V. 24. – P. 99–106.
8. Poynton S. L., Fraser W., Francis–Floyd R. et al. *Spironucleus vortens* n. sp. from the freshwater angelfish *Pterophyllum scalare*: morphology and culture // J. Euk. Microbiology. – 1995. – V. 42. – P. 731–742.
9. Sterud E. Ultrastructure of *Spironucleus torosa* Poynton & Morrison, 1990 (Diplomonadida: Hexamitidae), in Cod *gadus morhua* (L.) and Saithe *Pollachius virens* (L.) from South-Eastern Norway // Europ. J. Protistol. – 1998. – V. 34. – P. 69–77.
10. Untergasser D. Handbook fish diseases // Neptune City: T.F.H. publ. – 1989. – 160 p.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V.35, Iss.1

DOI:

Received 02.10.2014

Accepted 14.01.2016

**SCREENING OF NEW CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS TO COMBAT FISH
DISEASES CAUSED BY PARASITIC DIPLOMARAGNIDAE (*DIPLOMONADIDA*
WENYON, 1926)**

Gavrilin K. V.¹, Bychkova L. I.¹, Dmitriev S. N.¹, Mamykin G. A.²

¹ Moscow state University of technologies and management. K. G. Razumovsky (First Cossack University)

109004, Moscow, Zemlyanoy Val, 73, e-mail: k.gavrilin@yandex.ru

² Centre for fish breeding and disease control of fishes (LLC "Rebbetzen")

123001, Moscow, Ermolaevsky pereulok, 18a, e-mail: rvc77@mail.ru

Abstract

Objective of research. The purpose of the study – screening of new chemotherapeutic agents for the treatment of hexamita ornamental fish.

Materials and methods. The test drugs were performed on juveniles of the discus *Symphysodon discus* a body mass of 15 g, spontaneously infested hexamitidae (*Diplomonadida*). 35 discus of the infected individuals were divided into 7 groups of 5 copies of the Fish 1, 2, 3, 4, 5, and 6th groups were appointed in the composition of granulated feed, respectively pyrimethamine at a dose of 50 mg/kg albendazole – 50, fenbendazole – 50, mebendazole – 10, magnesium sulfate – 500 and metronidazole in a dose of 50 mg/kg for 5 days. Fish 7 the first group was control and received feed without the drug. The effectiveness was considered after 5 days after the last Dachi medicated feed. Fish were dissected, the intestines were isolated, which were released from the food pulp, homogenized, and were studied by optical microscopy at a magnification of 180 times.

Results and discussion. The number of examined in treated fish compared with the control decreased after the application of metronidazole by 95.5 %, mebendazole – 77.8, magnesium sulfate, which is 74.5, fenbendazole – by 56.6, albendazole – 50.5 and pyrimethamine – 24.4 %. Advanced for further testing are mebendazole, magnesium sulphate, fenbendazole and albendazole. The most effective was a basic drug – metronidazole. During the test degradation of fish were noted. Food activity was moderate at the level of 2% of ichthyomass. In fish treated with metronidazole, mebendazole and magnesium sulfate, have improved the condition.

Key words: ornamental fish, hexamita, treatment, metronidazole, mebendazole.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)