

# Wpływ lewamizolu i trichlorfonu na zwalczanie kapilariozy przewodu pokarmowego danio pręgowanego

LESZEK GUZ, KLAUDIUSZ SZCZEPANIAK\*

Zakład Chorób Ryb i Biologii, \*Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych,  
Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Otrzymano 10.12.2013

Zaakceptowano 20.05.2014

Guz L., Szczepaniak K.

## Effect of levamisole and trichlorfon on the control of intestinal capillariasis in zebrafish

### Summary

The aim of the present study was to analyze the effectiveness of levamisole and trichlorphon in controlling intestinal capillariasis in zebrafish. Various protocols of treatment against this parasite were successively tested. Fish (280 g ± 53 g) were randomly assigned to 3 experiments. In experiment I, fish (n = 160) were administered levamisole at 1 mg/L (group 1), 2 mg/L (group 2), 5 mg/L (group 3), and 10 mg/L (group 4), by 72 h bath. In experiment II, fish (n = 160) were administered levamisole by bath (as in experiment I) and per os at 200 mg/100g diet twice a day for 3 days. In experiment III, fish (n = 160) were administered levamisole by bath (as in experiment I) and trichlorphon per os at 0.2 mg/100 g diet twice a day for 3 days. These schemes of treatment were repeated at days 7 and 14.

At the beginning of treatment, 100% of fish were infested by Capillariinae. The mean abundance was estimated at 3.5 (range of intensity: 2-5). In experiments I and II, 21 days after the beginning of treatment, fish were still infested by live parasites. However, with the highest dose of levamisole, the mean abundance of invasion decreased to 0.8 (range of intensity: 0-3) in experiment I, and to 0.3 (range of intensity: 0-2) in experiment II – a reduction of 73.33% and 90.00%, respectively. The combined treatment in experiment III (levamisole by bath and trichlorphon per os) was the most effective. Only in experiment III were parasites eliminated after 14 days in groups 2 and 3, and after 21 days in groups 1, 2, 3 and 4. These results suggest that a combination of levamisole and trichlorphon could be an effective alternative for the control of nematode zebrafish infections, including those by levamisole-resistant strains.

**Keywords:** fish, capillariosis, levamisole, trichlorphon

Kapilarioza jest powszechnie występującą chorobą przewodu pokarmowego ryb (4, 5, 9, 15, 17). Wywołują ją nicienie należące do podrodziny *Capillariinae*, która obecnie jest klasyfikowana w nadrodzinie *Trichinelloidea* (1). U ryb akwariowych chorobę tę wywołują najczęściej nicienie z rodzajów *Capillaria* lub *Pseudocapillaria* (14, 20). Spośród wielu gatunków odpowiedzialnych za kapilariozę w akwariach słodkowodnych, głównie stwierdza się inwazję: *Pseudocapillaria tomentosa* (syn. *P. brevispiculata*) (5, 8, 9, 11), *Capillaria pterophylli* (13) oraz *Capillostrongyloides ancistri* (12). Są to pasożyty mało swoiste, które mogą występować u wielu gatunków ryb, często należących do różnych rodzin. *P. tomentosa* do tej pory opisano u 25 gatunków ryb, przedstawicieli: *Cyprinidae*, *Aguilliformes*, *Gadiformes*, *Salmoniformes*, *Siluriformes*.

Kapilarioza obserwowana była przez autorów niniejszej pracy u paletek, skalarów, danio, brzanek, gupików i wielu innych gatunków ryb (dane własne nieopublikowane). Tak szerokie spektrum żywicieli stwarza dla rodzimej fauny ryb zagrożenie wprowadzenia nowych przedstawicieli *Capillariinae* z powszechnie importowanymi do kraju rybami tropikalnymi. Inwazja opisywana jest jako powszechnie występująca w hodowlach akwariowych, jednak w dostępnym piśmiennictwie niewiele jest publikacji dotyczących ekstensywności inwazji u poszczególnych gatunków ryb.

Rozprzestrzenianiu choroby sprzyja prosty cykl rozwojowy. W jelicie ryb nicienie składają jaja, które wraz z kałem wydostają się do wody, gdzie opadają na dno akwarium. Rozwój jaj w środowisku jest uzależniony od czynników zewnętrznych (głównie od

temperatury). Przy optymalnych warunkach dla poszczególnych gatunków jaja osiągają stadium inwazyjne w 21.-28. dniu. Ryby zarażają się bezpośrednio, połykając inwazyjne jaja pasożyta lub przez zjedzenie żywicieli paratencicznych, którymi mogą być różne gatunki skorupiaków planktonowych albo pierścienice. W organizmie żywiciela ostatecznego nicienie rozwijają się w przewodzie pokarmowym, bez odbywania wędrówek somatycznych. Dorosłe osobniki lokalizują się w tylnym odcinku jelit ryb, pozostając w bliskim kontakcie z błoną śluzową (9). Nie dla wszystkich gatunków odpowiedzialnych za kapilariozę przewodu pokarmowego ryb udało się ustalić okres prepatentny. Wiadomo, że w przypadku *C. pterophylli* wynosi on około trzech miesięcy.

Objawy kliniczne zależą od intensywności inwazji oraz od patogenności gatunku odpowiedzialnego za chorobę. W początkowym stadium inwazji zarażone ryby przestają pobierać pokarm, chudną i mają pociemniałą skórę. Odchody mogą przybierać postać długich, ciągnących się nitek, a kał ma kolor ciemny na przemian z jasnymi pasmami. Chroniczny przebieg inwazji doprowadza do stopniowego wyniszczenia organizmu żywiciela oraz do niedoborów pokarmowych, konsekwencją których są zaburzenia rozwojowe.

Zmiany anatomopatologiczne są zróżnicowane. Najczęściej u zarażonych ryb obserwuje się zapalenie jelit, powiększenie wątroby oraz znaczną anemię. W badaniach histopatologicznych wykazano znaczny naciek eozynofiliów w miejscach kontaktu nicieni z błoną śluzową przewodu pokarmowego. Według badań Kent i wsp. (5), inwazja *P. tomentosa* u danio pręgowanego sprzyja występowaniu nowotworów jelit. U chorych, nieleczonych ryb śmiertelność może być znaczna.

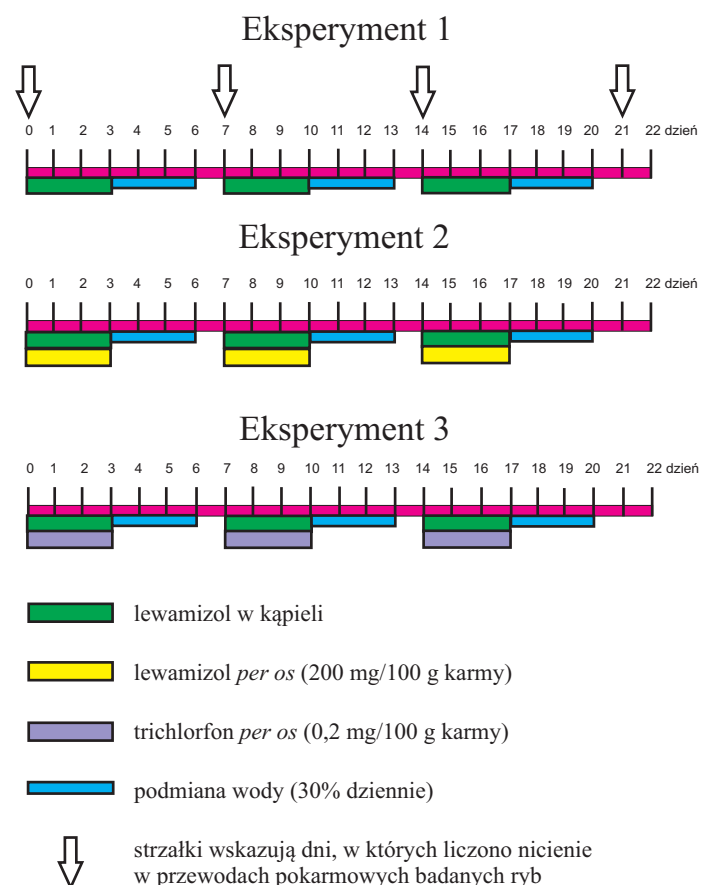
Często stosowanym związkiem do zwalczania kapilariozy u ryb jest lewamizol, agonista cholinergiczny wpływający na przewodnictwo nerwowo-mięśniowe pasożyta. Mechanizm działania polega na łączeniu się lewamizolu z receptorami nikotynowymi. Powoduje to zmianę konformacji receptora, otwarcie kanału sodowego (będącego częścią składową receptora) oraz przepływ jonów sodu, potasu i wapnia, który powoduje depolaryzację błony komórkowej. Prowadzi to do silnego skurczu komórki mięśniowej, a długotrwała depolaryzacja powoduje spastyczny paraliż pasożyta i jego łatwe usunięcie z przewodu pokarmowego żywiciela (3, 19).

Częste występowanie kapilariozy wśród ryb akwariowych w Polsce oraz obserwowane przez autorów pracy przypadki występowania oporności na lewamizol skłoniły do weryfikacji metody eliminacji pasożytów z przewodu pokarmowego chorych ryb przy użyciu lewamizolu. Celem badań było określenie skuteczności terapeutycznej powszechnie używanego do leczenia kapilariozy ryb lewamizolu (zastosowanego w kąpieli i *per os*) oraz sprawdzenie, czy równoczesne podanie trichlorfonu (*per os*) zwiększy skuteczność leczenia.

## Materiał i metody

Materiał do badania stanowiły ryby ( $n = 480$ ) danio pręgowane (*Danio rerio*) ( $280 \pm 53$  g), pochodzące z komercyjnej hodowli ryb akwariowych, w której stwierdzono 100% ekstensywność inwazji nicieni należących do podrodziny *Capillariinae*. Do badania zaklasyfikowano ryby wykazujące kliniczne objawy kapilariozy przewodu pokarmowego (znaczące wychudzenie, zapadnięta okolica brzuszna). Ryby podzielono na trzy grupy eksperymentalne, każda z nich liczyła po 150 osobników ( $n = 150$ ). Substancje lecznicze zastosowano według niżej opisanego schematu doświadczenia. Grupę kontrolną stanowiło 30 ryb, którym nie podawano żadnych substancji leczniczych.

Lecznico zastosowano lewamizol i trichlorfon w następujących grupach eksperymentalnych: eksperyment 1 ( $n = 160$ ) – lewamizol (Levamisol 10%, Vetoquinol Biowet) w dawkach: 1 mg/L (grupa 1), 2 mg/L (grupa 2), 5 mg/L (grupa 3) oraz 10 mg/L (grupa 4), w kąpieli długotrwałej 72 godz.; eksperyment 2 ( $n = 160$ ) – lewamizol w kąpieli długotrwałej (grupy jak w eksperymencie 1) 72 godz. oraz dodatkowo lewamizol podany *per os* w dawce 200 mg/100 g karmy, 2 razy dziennie przez 3 dni; eksperyment 3 ( $n = 160$ ) – lewamizol w kąpieli długotrwałej (grupy jak w eksperymencie 1) 72 godz. oraz dodatkowo trichlorfon (1-hydroksy-2,2,2-trójchloroetylo fosfonian O,O-dwumetylowy, Sigma-Aldrich) podany *per os* w dawce 0,2 mg/100 g karmy, 2 razy dziennie przez 3 dni. Powyższe schematy leczenia powtórzono w 7. i 14. dniu doświadczenia. Każdorazowo po zakończeniu kąpieli leczniczej wymieniano wodę w akwarium (przez 3 dni, jednorazowo 30% wody).



Ryc. 1. Graficzne przedstawienie przebiegu leczenia

Schematyczny przebieg eksperymentu przedstawiono na rycinie 1.

Wodę, w której trzymano ryby podczas eksperymentu, cechowały następujące parametry: temperatura  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , zawartość tlenu 5,5-7 mg/L, pH 7,1-7,3. Ryby karmiono codziennie paszą Hikari Micro Pellets (Hikari).

Ekstensywność oraz intensywność inwazji ustalono w trakcie sekcji parazytologicznych. W tym celu izolowano i rozcinano kompletny przewód pokarmowy. Błone śluzową oglądano pod lupą binokularową. Znalezione nicienie liczo-no, a następnie utrwalano w 4% formaldehydzie, po czym przekładano do 70% etanolu z gliceryną. Przynależność rodzajową nicieni określono na podstawie analizy mikroskopowej, w oparciu o klucze do identyfikacji nicieni według Yamaguti (22). Szczegóły morfometryczne dorosłych osobników ( $n = 7$ ), larw ( $n = 5$ ) oraz jaj ( $n = 10$ ) ustalono przy użyciu mikroskopu świetlnego Jenalumar (Carl Zeiss Jena) oraz Olympus BX51 z kontrastem interferencyjnym Nomarskiego (DIC). Analizę obrazu przeprowadzono przy pomocy kamery zintegrowanej z oprogramowaniem Cell firmy Olympus.

Procent skuteczności (PE) leczenia licząco według poniższego wzoru:

$$PE = \frac{MC - MT}{MC} \times 100$$

gdzie: MC – średnia liczba nicieni w grupie kontrolnej, MT – średnia liczba nicieni w grupie leczonej.

Badanie wykonywano w 7., 14. i 21. dniu leczenia ryb, na dziesięciu losowo wybranych osobnikach z każdej grupy eksperymentalnej i grupy kontrolnej. W celu eutanazji ryb zastosowano preparat MS-222 (Sigma) w dawce 200 mg/L wody.

Wyniki doświadczeń opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica, stosując analizę wariancji ANOVA i test Scheffé.

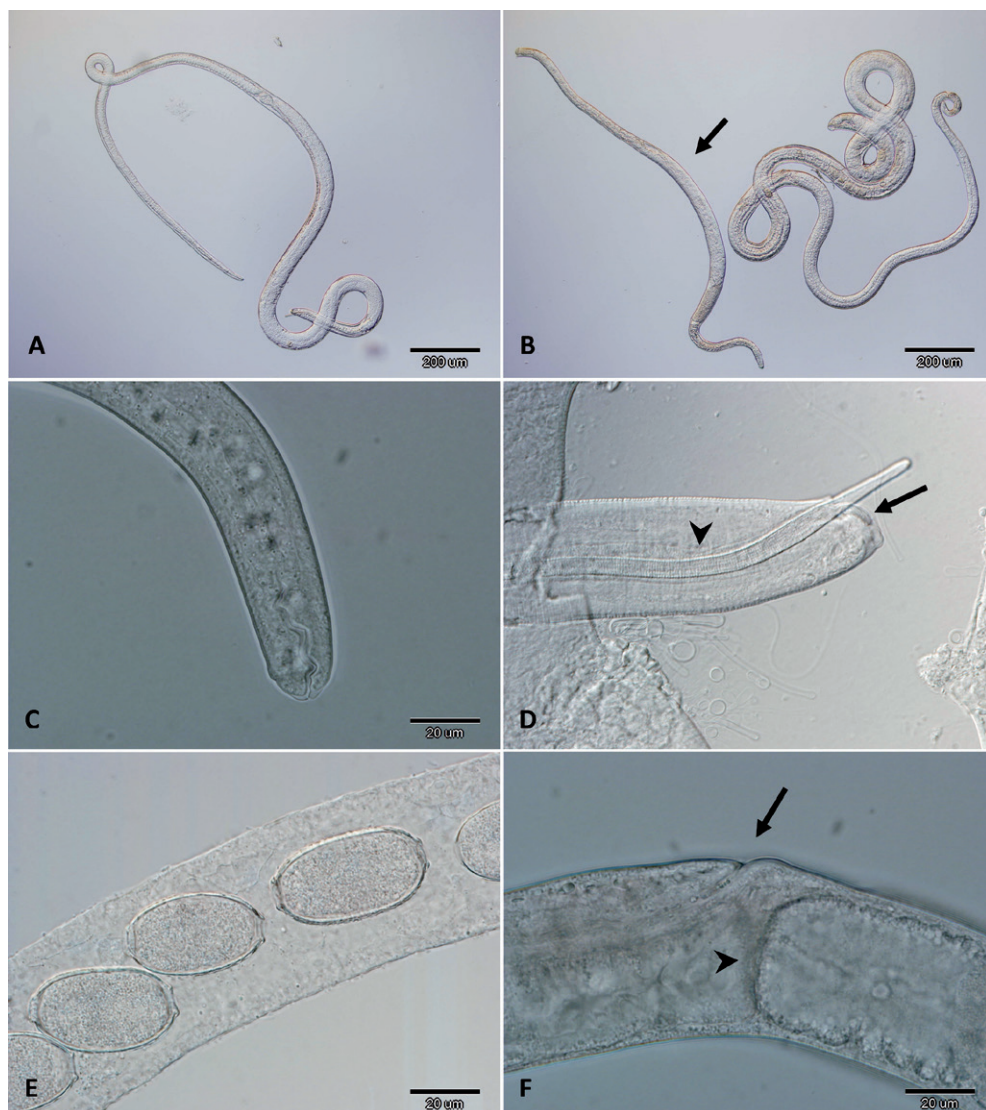
### Wyniki i omówienie

Przyżyciowa obserwacja ryb w trakcie trwania eksperymentu wykazała u badanych danio prawidłową ruchliwość i zachowany apetyt. Kał miał wygląd fizjologiczny, nie zaobserwowano ciągnących się nitek odchodów. Badanie anatomopatologiczne wykazało znaczne wychudzenie ryb (ryc. 2), nie zaobserwowano patologicznych zmian w narządach wewnętrznych.

Sekcja parazytologiczna wykazała inwazję nitkowa-tego kształtu nicieni. Uzyskane dane morfologiczne pozwoliły na ich zaklasyfikowanie do podrodziny *Capillariinae*. Wśród wyizolowanych nicieni stwier-



Ryc. 2. Danio pręgowane (*D. rerio*), z inwazją nicieni z podrodziny *Capillariinae*



Ryc. 3. Szczegóły morfologiczne wyizolowanych nicieni: A – dorosły samiec, B – larwa (strzałka) i dorosła samica, C – odcinek głowowy, D – tylny odcinek samca z otworem stekowym w położeniu końcowym, ogon tępo zakończony z widoczną brodawką (strzałka), pochwłka szczecinki z delikatnym poprzecznym prążkowaniem (grot strzałki), E – macica dorosłej samicy wypełniona charakterystycznymi dla podrodziny *Capillariinae* jajami, F – szpara sromowa (strzałka) zlokalizowana na granicy gardzieli i jelita (grot strzałki)

dzono zarówno dorosłe osobniki, jak i formy larwalne. Średni wymiar samców wynosił 4,23 mm (3,25-5,11 mm), samic 6,55 (3,95-7,43 mm), larw 1,98 mm (1,48-2,02 mm). Otwór gębowy, bez widocznej torebki, prowadzi do długiej gardzieli. Ogon samca tępo zakończony zaopatrzony w dwie brodawki, połączone cienką błoną. Otwór stekowy samców w położeniu końcowym. Szczecinka kopulacyjna 245-250  $\mu\text{m}$  długości, gładka, bezbarwna, koniec dalszy ostro zakończony, bliższy rozszerzony, otoczona pochewką o delikatnym poprzecznym prążkowaniu. U samic szpara sromowa zlokalizowana na granicy gardzieli i jelita, położona pomiędzy  $\frac{1}{3}$  przednią a połową długości nicienia (ryc. 3A-G).

Dodatkowo w rozmazach treści przewodu pokarmowego sekcjonowanych ryb stwierdzono beczułkowate jaja nicieni z pofałdowaną ścianą oraz dwoma czopkami symetrycznie zlokalizowanymi na obu biegunach, charakterystyczne dla podrodziny *Capillariinae* (ryc. 3H). Średni wymiar znalezionych jaj wynosił  $47,5 \times 25,7 \mu\text{m}$  ( $45,9-48,11 \mu\text{m}$ ).

Ekstensywność inwazji w grupie kontrolnej przez cały okres doświadczenia wyniosła 100%. W grupach eksperymentalnych zarówno ekstensywność inwazji, jak i średnia liczba stwierdzonych nicieni były zróżnicowane. Na oba badane parametry istotny wpływ miał schemat przyjętego leczenia oraz czasu trwania doświadczenia.

W eksperymencie 1, gdzie zastosowano lewamizol w kąpeli, istotną redukcję liczby nicieni w porównaniu z grupą kontrolną obserwowano w 14. i 21. dniu leczenia w grupie 2, 3 i 4 (tab. 1). W eksperymencie 2, gdzie zastosowano leczenie lewamizolem w kąpeli i *per os*, istotną redukcję liczby nicieni w porównaniu z grupą kontrolną obserwowano w 7., 14. i 21. dniu leczenia we wszystkich badanych grupach. Zarówno

w eksperymencie 1, jak i 2 skuteczność leczenia wyniosła poniżej 100% (tab. 2). W eksperymencie 3, gdzie zastosowano kombinowane leczenie lewamizolem w kąpeli i trichlorfonem podawanym *per os*, istotną redukcję liczby nicieni, w porównaniu z grupą kontrolną, obserwowano we wszystkich badanych grupach, zarówno w 7., 14., jak i 21. dniu badania. Stuprocentowa skuteczność leczenia była obserwowana 14. dnia badania w grupie 3 i grupie 4, oraz 21. dnia badania w grupie 1, 2, 3 i 4 (tab. 3).

Intensyfikacja procesu hodowlanego ryb sprzyja rozwojowi wielu chorób zakaźnych oraz inwazyjnych. Znaczącym problemem są inwazje pasożytów przebiegające z prostym cyklem rozwojowym, gdzie źródłem zarażenia dla ryb jest ich środowisko, w którym znajdują się formy inwazyjne pasożyta. W tego typu inwazjach, przy dużym zagęszczeniu ryb w hodowli, często obserwuje się zjawiska autoinwazji, reinwazji i superinwazji, co obniża skuteczność zabiegów leczniczych i profilaktycznych. Takim rozwojem charakteryzują się nicienie z podrodziny *Capillariinae*, które u ryb wywołują kapilariozę przewodu pokarmowego (1, 15). Łatwość szerzenia się tej inwazji potwierdza przeprowadzone badanie parazytologiczne. U badanych danio pręgowanych w grupie kontrolnej stwierdzono 100% ekstensywność inwazji.

Uzyskane wyniki morfometryczne wyizolowanych nicieni nie pozwoliły na jednoznaczne określenie ich przynależności gatunkowej. Część cech morfologicznych, takich jak: budowa oraz długość szczecinek kopulacyjnych samców, ułożenie otworu stekowego, wygląd ogona, a także położenie szpary sromowej samicy jest charakterystycznych dla *Pseudocapillaria tomentosa*. Inwazja tego gatunku jest najczęstszą nematodozą spotykaną w hodowlach akwariowych danio pręgowanego, jednak uzyskane w doświadczeniu

Tab. 1. Wynik leczenia chorych na kapilariozę ryb po zastosowaniu lewamizolu w kąpeli

Grupa	Średnie zagęszczenie (abundancja)	Zakres intensywności	Błąd SD ( $\pm$ )	95% przedział ufności		E	PE
				-95%	+95%		
<b>Badanie po 7 dniach</b>							
Kontrola	4,1	2-6	0,41	3,18	5,02	100	-
Grupa 1	3,4	1-5	0,40	2,49	4,30	100	17,07
Grupa 2	1,9	1-4	0,38	1,04	2,75	90	53,66
Grupa 3	1,6	0-4	0,45	0,58	2,62	70	60,97
Grupa 4	1,6	0-3	0,37	0,76	2,43	80	60,97
<b>Badanie po 14 dniach</b>							
Kontrola	3,3	1-6	0,54	2,08	4,52	100	-
Grupa 1	1,6	0-3	0,30	0,90	2,29	90	51,51
Grupa 2	1,0*	0-3	0,39	0,10	1,89	60	74,19
Grupa 3	1,1*	0-2	0,28	0,47	1,72	70	66,66
Grupa 4	1,0*	0-3	0,33	0,24	1,75	60	74,19
<b>Badanie po 21 dniach</b>							
Kontrola	3,0	1-5	0,36	2,17	3,83	100	-
Grupa 1	1,7	0-3	0,37	0,87	2,52	90	43,33
Grupa 2	1,1*	0-3	0,35	0,31	1,88	70	63,33
Grupa 3	0,7*	0-3	0,33	0,05	1,45	40	76,66
Grupa 4	0,8*	0-3	0,33	0,06	1,53	50	73,33

Objaśnienia: E – ekstensywność inwazji (procent zarażonych ryb); PE – procent skuteczności leczenia; \* różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) pomiędzy badanymi grupami a grupą kontrolną

Tab. 2. Wynik leczenia chorych na kapilariozę ryb po zastosowaniu lewamizolu w kąpielach oraz *per os*

Grupa	Średnie zagęszczenie (abundancja)	Zakres intensywności	Błąd SD ( $\pm$ )	95% przedział ufności		E	PE
				-95%	+95%		
<b>Badanie po 7 dniach</b>							
Kontrola	4,10	2-6	0,41	3,18	5,02	100	-
Grupa 1	1,10*	0-3	0,31	0,39	1,81	70	73,17
Grupa 2	0,90*	0-3	0,31	0,20	1,61	60	78,05
Grupa 3	1,10*	0-3	0,38	0,24	1,96	60	73,17
Grupa 4	0,80*	0-2	0,25	0,24	1,36	60	80,49
<b>Badanie po 14 dniach</b>							
Kontrola	3,30	1-6	0,54	2,08	4,52	100	-
Grupa 1	0,50*	0-2	0,22	-0,01	1,00	40	84,85
Grupa 2	0,50*	0-2	0,27	-0,11	1,11	40	84,85
Grupa 3	0,50*	0-3	0,31	-0,19	1,19	30	84,85
Grupa 4	0,50*	0-2	0,22	-0,01	1,00	40	84,85
<b>Badanie po 21 dniach</b>							
Kontrola	3,00	1-5	0,36	2,17	3,83	100	-
Grupa 1	0,60*	0-2	0,22	0,10	1,10	50	80,00
Grupa 2	0,80*	0-3	0,33	0,06	1,54	50	73,33
Grupa 3	0,50*	0-2	0,22	-0,01	1,00	40	83,33
Grupa 4	0,30*	0-2	0,21	-0,18	0,78	20	90,00

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 3. Wynik leczenia chorych na kapilariozę ryb po zastosowaniu lewamizolu w kąpielach oraz trichlorfonu podawanego *per os*

Grupa	Średnie zagęszczenie (abundancja)	Zakres intensywności	Błąd SD ( $\pm$ )	95% przedział ufności		E	PE
				-95%	+95%		
<b>Badanie po 7 dniach</b>							
Kontrola	4,1	2-6	0,41	3,18	5,02	100	-
Grupa 1	0,90*	0-3	0,35	0,11	1,69	50	78,05
Grupa 2	0,70*	0-2	0,26	0,11	1,29	50	82,93
Grupa 3	0,70*	0-2	0,30	0,02	1,38	40	82,93
Grupa 4	0,50*	0-2	0,22	-0,06	1,00	40	87,80
<b>Badanie po 14 dniach</b>							
Kontrola	3,30	1-6	0,54	2,08	4,52	100	-
Grupa 1	0,60*	0-2	0,22	0,10	1,10	50	81,82
Grupa 2	0,10*	0-1	0,10	-0,13	0,33	10	96,97
Grupa 3	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00
Grupa 4	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00
<b>Badanie po 21 dniach</b>							
Kontrola	3,00	1-5	0,36	2,17	3,83	100	-
Grupa 1	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00
Grupa 2	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00
Grupa 3	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00
Grupa 4	0,00*	0	0,00	0,00	0,00	0	100,00

Objaśnienia: jak w tab. 1

średnie wymiary osobników dorosłych oraz jaj były mniejsze od przedstawionych danych morfometrycznych dla gatunku *P. tomentosa* przez Moravec i wsp. (5, 10).

Dane piśmiennictwa wskazują, że kapilarioza przewodu pokarmowego, niezależnie od gatunku pasożyta odpowiedzialnego za jej wywołanie, jest zwalczana według standardowych schematów odrobaczania ryb powszechnie dostępnymi chemioterapeutykami (15). Pospolicie używanym środkiem leczniczym przeciwko nicieniom przewodu pokarmowego ryb jest lewamizol – lek przeciw pasożytniczy z grupy imidazotiazoli (3, 19). Lewamizol jako substancja czynna jest także powszechnie dostępny w handlu w tzw. preparatach pielęgnacyjnych dla ryb ozdobnych, do stosowania w akwariach i oczkach wodnych. Jego częste stosowanie

oraz nieuzasadnione nadużywanie może powodować powstawanie oporności nicieni na lewamizol (6, 19). Zjawisko to było obserwowane w warunkach laboratoryjnych u nicieni wolno żyjących (6, 16) oraz przez autorów niniejszej pracy w hodowlach ryb akwariowych, gdzie lewamizol był stosowany przez hodowców bez badań parazytologicznych, potwierdzających zasadność jego podawania. Występowanie oporności nicieni na lewamizol zaobserwowano również w opisywanym doświadczeniu. Trzykrotne zastosowanie w kąpielach najwyższych dawek lewamizolu (5 i 10 mg/L) nie doprowadziło do pełnego wyleczenia ryb. Nie uzyskano również całkowitej eliminacji nicieni po zastosowaniu kombinowanego podania lewamizolu w kąpielach oraz dodatkowo *per os* wraz z karmą. W celu zwiększenia skuteczności tera-

peutycznej lewamizolu dodatkowo zastosowano podawanie trichlorfonu *per os* wraz z karmą. Trichlorfon jest silnie działającym związkami fosforoorganicznym stosowanym do zwalczania przywr, nicieni i skorupiaków (2, 21), dopuszczonym do stosowania u ryb ozdobnych nie przeznaczonych do spożycia. Był on również stosowany do zwalczania nicieni opornych na iwermektynę (7). Bezpiecznie może być podawany u większości gatunków ryb. Dla niektórych przedstawicieli rzędu sumokształtnych (*Siluriformes*), takich jak kiryskowate (*Callichthyidae*) czy zbrojnikowate (*Loricariidae*), trichlorfon jest silnie toksyczny i ryby te giną nawet przy niewielkich stężeniach tego leku. Wyniki niniejszych badań uzasadniają podawanie choremu na kapilariozę danio przegowanym trichlorfonu *per os* wraz z karmą. Zastosowanie go w kombinacji z lewamizolem zwiększa skuteczność terapeutyczną preparatu. Ze względu na toksyczność trichlorfonu (18) stosowanie go u innych gatunków ryb wymaga dalszych badań.

Podsumowując, należy stwierdzić, że w hodowlach ryb, gdzie lewamizol stosowany jest często, istnieje możliwość wystąpienia oporności nicieni na ten lek. Równoczesne podawanie choremu rybnemu lewamizolu w kąpeli i trichlorfonu w karmie może być skuteczną metodą eliminacji nicieni z przewodu pokarmowego *Danio rerio*.

### Piśmiennictwo

1. Anderson R. C.: Nematode parasites of vertebrates their development and transmission. CABI Publishing CAB, Wallingford, Oxon (UK) 2000, 605-609.
2. Brandal P. L., Egidius E.: Preliminary report on oral treatment against salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis*, with Neguvon. *Aquaculture* 1997, 10, 177-178.
3. Geets A., Liewes E. W., Ollevier F.: Efficacy of some anthelmintics against the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* of eel *Anguilla anguilla* under saltwater conditions. *Dis. Aquat. Org.* 1992, 13, 123-128.
4. Iglesias R., Centeno L., García N., García-Estévez J. M.: *Pseudocapillaria* (*Pseudocapillaria*) *moravecii* sp. n. (Nematoda: Capillariidae) from the stomach of *Gobius paganellus* (Perciformes: Gobiidae) from Vigo estuary (NW Spain). *Folia Parasitol.* 2013, 60, 135-140.
5. Kent M. L., Bishop-Stewart J. K., Matthews J. L., Spitsbergen J. M.: *Pseudocapillaria tomentosa*, a nematode pathogen, and associated neoplasms of zebrafish (*Danio rerio*) kept in research colonies. *Comp. Med.* 2002, 52, 354-358.
6. Lewis J. A., Wu C. H., Berg H., Levine J. H.: The genetics of levamisole resistance in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1980, 95, 905-928.
7. Lopes W. D., dos Santos T. R., Borges F. de A., Sakamoto C. A., Soares V. E., Costa G. H., Camargo G., Pulga M. E., Bhushan C., da Costa A. J.: Anthelmintic efficacy of oral trichlorfon solution against ivermectin resistant nematode strains in cattle. *Vet. Parasitol.* 2009, 166, 98-102.
8. Mihok T., Košuth P., Kočíšova A., Pekárik L., Brtáková E., Major P.: The intestinal parasite *Pseudocapillaria tomentosa* (Dujardin, 1843) of the invasive fish species topmouth gudgeon, *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel), in Slovakia. *J. Fish Dis.* 2011, 34, 711-714.
9. Moravec E.: Checklist of the Metazoan Parasites of Fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873-2000). Academia, Praha 2001, 168.
10. Moravec E., Wolter J., Körting W.: Some nematodes and acanthocephalans from exotic ornamental freshwater fishes imported into Germany. *Folia Parasitol.* 1999, 46, 296-310.
11. Moravec F., Ergens R., Repova R.: First record of the nematode *Pseudocapillaria brevispicula* (Linstow, 1873) from aquarium fishes. *Folia Parasitol.* 1984, 3, 241-245.
12. Moravec F., Gelnar M., Rehulka J.: *Capillariostrongyloides ancistri* n. sp. (Nematoda: Capillariidae) a new pathogenic parasite of aquarium fishes in Europe. *Folia Parasitol.* 1987, 34, 157-161.
13. Moravec F., Gut J.: Morphology of the nematode *Capillaria pterophylli* Heize 1933, a pathogenic parasite of some aquarium fishes. *Folia Parasitol.* 1982, 29, 227-231.
14. Moravec F., Nagasawa K., Madinabeitia I.: A new species of *Capillaria* (Nematoda: Capillariidae) from the intestine of the marine fish *Acanthopagrus schlegelii* *schlegelii* (Sparidae) from Japan. *J. Parasitol.* 2010, 96, 771-774.
15. Pack M., Belak J., Boggs C., Fishman M., Driever W.: Intestinal capillariasis in zebrafish. *Zebrafish Sci. Monitor* 1995, 3, 1-3.
16. Qian H., Robertson A. P., Powell-Coffman J. O., Martin R. J.: Levamisole resistance resolved at the single-channel level in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.* 2008, 22, 3247-3254.
17. Rahmati-Holasoo H., Mousavi H. A. E., Soltani M., Hosseini S. H., Ghadam M., Samani R.: Capillariasis in breeder discus (*Symphysodon aequifasciatus*) in Iran. *J. Agri. Sci.* 2010, 55, 253-259.
18. Siwicki A. K., Cossarini-Dunier M., Studnicka M., Demael A.: In vivo effect of the organophosphorus insecticide trichlorfon on immune response of carp (*Cyprinus carpio*). II. Effect of high doses of trichlorfon on nonspecific immune response. *Ecotox. Environ. Safety* 1990, 19, 99-105.
19. Taraschewski H., Renner C., Mehlhorn H.: Treatment of fish parasites. 3. Effects of levamisole-HCl, metrifonate, febendasole, mebendazole, and ivermectin on *Anguillicola crassus* (nematodes) pathogenic in the air bladder of eels. *Parasitol. Res.* 1988, 74, 281-289.
20. Timi J. T., Rossin M. A., Lanfranchi A. L.: A new species of *Capillaria* (Nematoda: Capillariidae) parasitizing Conger orbignianus (Pisces: Congridae) from Argentina. *J. Parasitol.* 2006, 92, 628-630.
21. Toksen E., Nemli E., Degirmenci U., Karacalar U.: The effects of azametraphos and trichlorfon on the control of *Diplectanum aequans* (Monogenea: Diplectanidae) infections in cultured broodstock sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 2013, 35, 144-149.
22. Yamaguti S.: Nematodes of Fishes, [w:] Yamaguti S. *Systema Helminthum* volme III, part I. Interscience publishers, INC. New York 1961, 7-82.

Adres autora: dr hab. Leszek Guz, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin;  
e-mail: leszek.guz@up.lublin.pl