

Single dose secnidazol  
treatment efficacy against  
naturally occurring *Giardia*  
*duodenalis* infection in dogs

Karahalli, C.  
Ural, K.\*

Adnan Menderes University,  
Faculty of Veterinary,  
Department of Internal Medicine  
Isikli, Aydin, TURKEY

\*e-mail: [uralkerem@gmail.com](mailto:uralkerem@gmail.com)

# Egyszeri adagolású szeknidazolkezelés hatékonysága *Giardia duodenalis* fertőzés esetén kutyákban

Ceren Karahalli, Kerem Ural\*

## ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen vizsgálat célja az egyszeri alkalommal, szájon át, 30 mg/kg adagban adott szeknidazol hatékonyságának megfigyelése a *Giardia* cisztaürítés, valamint a klinikai tünetek figyelembe vételével, természetesen fertőzött kutyáknál. A fertőzöttséget a trophozoiták vagy ciszták kimutatásával állapították meg, emellett gyorsteszteket is alkalmaztak. A ciszták grammonkénti számát a 0., 3., 7. és 10. napon mérték. A vizsgált kutyákat két csoportra osztották, az egyik csoport szeknidazol terápiában részesült ( $n = 6$ ), a másik csoport szolgált kontrollként ( $n = 6$ ). A kezelt kutyák a 0. napon egy alkalommal kaptak szájon át 30 mg/kg dózisú szeknidazolt, a kontroll csoport tagjai csak placebo kaptak. A 3., 7. és 10. napon szignifikánsan ( $p < 0,01$ ) csökkent a cisztaürítés; a cisztaürítés geometriai középértéke 100%-os csökkenést mutatott. A naponta elvégzett klinikai pontozási vizsgálat kimutatta, hogy a kezelt kutyák a terápia harmadik napján közel normális állagú bélsarat ürítettek. Az egyszeri szeknidazol kezelés hatékonynak bizonyult kutyák *Giardia*-fertőzése esetén.

## SUMMARY

**Objectives:** The purpose of this study was to determine whether secnidazole administered at a single dose of 30 mg/kg, orally, decreases or eliminates *Giardia* cyst shedding, and to validate the benefit of secnidazole treatment on clinical signs and faecal scoring in dogs naturally infected with *Giardia duodenalis*.

**Materials and Methods:** A total of 12 dogs, from various breed, age and of both sexes were involved. The diagnosis was based on the detection of trophozoites and/or cysts via faecal flotation among dogs naturally infected with *Giardia* sp., and also by use of rapid diagnostic test kits. Cyst count per gram faeces (days 0., 3., 7. and 10) and faecal scores were analyzed among groups. Two groups of dogs, the secnidazole group ( $n:6$ ) and the control group ( $n:6$ ) were enrolled. In dogs involved in treatment group secnidazole was administered at a single dosage of 30 mg/kg orally on day 0, whereas control group received placebo.

**Results:** On days 3., 7., and 10. there was significant ( $P < 0.01$ ) reduction in cyst shedding; whereas evaluation of mean geometric cyst shedding revealed 100% reduction. Evaluation of faecal scores on daily basis revealed that feces of dogs in treatment group after day 3 were apparently close to normal score as 3.

**Conclusion:** As a result of this study, secnidazole at a single dose might be practically applicable, reasonably priced, safe, and effective drug for therapy of dogs with giardiasis.

KISÁLLAT

Napjainkban a *Giardia*-fajok a legtöbbször helytelenül diagnosztizált paraziták közé tartoznak az állatorvosi gyakorlatban (20). Ennek a bélrendszeri élősködő kórokozónak a zoonotikus képessége már emberekben is jól ismert (28), emellett kutyákban is leírták, hogy hasmenéses kórképet okoz. A hasmenésért a malabszorpció és az elektrolitok hiperszekréciója egyaránt felelős, amelyek együttesen folyadék-felhalmozódáshoz vezetnek a vékonybélben.

A nitroimidazolok, pl. a metronidazol egy hatékony vegyületcsoport a giardiosis gyógykezelésére (6, 23). Ezeket a vegyületeket széles körben vizsgálták, és az esetek többségében hatékonynak bizonyultak, azonban alkalmanként hatástalanok voltak (18). Ezen vegyületek adagolását, főként a metronidazol esetében, különös figyelemmel és óvatossággal kell végezni. Alkalmazását követően jelentős mellékhatások jelentkezhetnek emberekben és állatokban egyaránt: émelygés, hasmenés, étvágytalanság, neurotoxicitás és neutropenia (20, 21). Egyes klinikák a metronidazol és fenbendazol együttes használatát részesítik előnyben, míg mások csak akkor alkalmazzák a kombinált kezelést, ha olyan elhúzódó fertőzéssel állnak szemben, amikor az önálló alkalmazás nem hatékony. Akkor is alkalmazható a kombináció, ha az elsődlegesen választott gyógyszer nem képes megszüntetni a hasmenést, és az kórokozó továbbra is kimutatható a bélsárból. Ilyen esetben egy másik gyógyszercsoportba tartozó szer alkalmazása is indokolt lehet (26).

Az új kezelési lehetőségek vizsgálatára rendkívül nagy szükség van mind a humán mind a kisállatgyógyászat területén. Jelen kutatásnak a célja az volt, hogy megállapítsuk a 30 mg/ttkg adagú, szájon át egyszeri alkalommal beadott szeknidazol terápia hatékonyságát természetes úton *Giardia duodenalis*-szal fertőzött kutyákban.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### VIZSGÁLATI ELRENDEZÉS

Jelen vizsgálatba összesen 12 kutyát vontak be, 9-et az Adnan Menderes Egyetem Állatorvostudományi Karának Belgyógyászati Tanszékéről és további 3-at az Aydini Kisállatklinikáról. Az állatok különböző fajtájúak (kangal és keverékek) voltak, életkoruk a 3 hónapos-tól a 8 hónaposig terjedt, ill. mindkét ivarhoz tartoztak (8 nőstény és 4 hím). Mindegyik kutya mutatta a giardiosis klinikai tüneteit, úgymint a hasmenés, hasi fájdalom és/vagy hányás. A vizsgálatot az Adnan Menderes Egyetem Állatjólleti Bizottsága 2012/033 számmal engedélyezte. Az összes tulajdonos írásos beleegyező nyilatkozat aláírásával hagyta jóvá a kutyája részvételét a kutatásban.

*Giardia* has recently been described as one of the most frequently misdiagnosed, underdiagnosed, and overdiagnosed parasites in veterinary practice (20). This intestinal protozoan has pathogenic and zoonotic potential, well known in humans (28), besides recognized as a causative agent of diarrhea in dogs (20). Both malabsorption and hypersecretion of electrolytes might be responsible for fluid accumulation in the intestinal lumen, that results in diarrhea (4, 5).

Nitroimidazole compounds such as metronidazole are viable options for the treatment of giardiasis (6, 23). In addition to their partial efficacy, cases refractory to therapy applications are widely observed (18). The dosage of the latter compounds, focusing on metronidazole, needs particular attention and care should be taken, as nausea, diarrhea, anorexia, neurotoxicity and neutropenia may be observed as significant side-effects following administration to humans or animals (20, 21). Albendazole may cause bone marrow suppression in dogs (25), therefore is not recommended. Some clinicians prefer metronidazole and fenbendazole combination, whereas others only choose combination therapy in case of a persistent infection that is not cleared by monotherapy. Furthermore even if the first drug fails to control diarrhea and the organism still persists in faeces, a second drug from an alternate class might be indicated (26). There is clearly a need for evaluating novel treatment options both in humans and in the small animal veterinary practice. Therefore, in the present study, the aim was to establish the efficacy of 30 mg/kg single oral dose of secnidazol in dogs naturally infected with *Giardia duodenalis*.

## METHODS

### STUDY DESIGN AND SUBJECTS

The present study enrolled 12 dogs referred to the Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine (n=9) and to those of privately owned small animal clinics (n=3) located in Aydın. The animals from different breeds (2 for each kangal and Terrier crossbred, and 8 other crossbred) at the age of 2 to 8 months old, and of both sexes (8 female and 4 male) were selected, all of them presenting clinical signs compatible with a susceptible *Giardia* infection such as diarrhea, abdominal pain and/or vomiting. The study protocol was approved by the institutional laboratory animals ethics committee of Adnan Menderes University HADYEK (with No: 2012/033 and date 01.08.2012) and informed written consent was obtained from all of the owners of the cases prior to enrollment in this study.

A 12 kutyából véletlenszerű beosztással két csoportot hoztak létre, és a csoportokba 6-6 kutyát osztottak be.

Az I. csoport (S csoport) tagjai egyszeri kezelést kaptak 30 mg/ttkg adagban szeknidazollal (Flagentyl® 500 mg tabl., Eczacibasi, Törökország). A II. csoport (C csoport) alkotta a kontroll csoportot és placebo-ként desztillált vizet kaptak. A vizsgálatot megelőzően a kutyák ketreceit gondosan kitakarították és kiferőtlenítették kvaterner ammóniumvegyületet tartalmazó fertőtlenítőszerrel (Biodes-S, Apex Biyogüvenlik San. Tic. Ltd. Co., Törökország) ezzel megelőzve a parazitás szennyeződést. Az állatokkal mindkét csoportban kereskedelembe kapható kutyatápot etettek, szigorúan ügyelve arra, hogy a saját ketreceikben egymástól elkülönítetten tudják elfogyasztani táplálékukat, így elkerülve a keresztfertőzéseket. A szerzők minden kutyát fizikális vizsgálatnak vetettek alá, és az adatokat a laborvizsgálatokkal együtt rögzítették. Az összes kutya esetében megállapították a giardiosist, ill. az egyéb paraziták és baktériumok hiányát ZnSO<sub>4</sub>-os flotáció és baktérium-tenyésztés segítségével. Az etikai előírásoknak megfelelően, a kutatás végén az összes kutyát, amely *Giardia*-pozitívknak bizonyult, a már korábban említett szeknidazol kezelésnek vetették alá.

## LABORVIZSGÁLAT

### BÉLSÁRVIZSGÁLAT

A kutatást végző stáb a megfigyelési periódus alatt (10 nap) az összes kutyát naponta kétszer vizsgálta 10 napon keresztül, hogy megállapítsák a *Giardia* fajok cisztáinak (vagy egyéb jelenlévő jelentős bélparaziták, pl. *Cryptosporidium*-fajok) jelenlétét vagy hiányát a bélsárban. A 0. nap (D0) volt a kezdő nap még a szeknidazol kezelés előtt, D10 pedig a kezelés utáni következtetések feljegyzéséből állt.

Még a kutyák csoportokba sorolása előtt minimum két natív bélsárkenet készült minden kutyánál. A bélsarat 33%-os ZnSO<sub>4</sub>-tal (10-15 ml) vegyítették, majd centrifugacsövekbe töltötték. A mintákat azonnal lecentrifugálták 880 ×g-n 5 percen keresztül a leírásoknak megfelelően (30). Ezután a felülúszóból 2 ml-t gyűjtöttek, amit tárgylemezre csepegtettek és Lugol-oldatot adtak hozzá. A mikroszkópos vizsgálatnál 40×-es nagyítást alkalmaztak a *Giardia*-ciszták kimutatásához. Később ezt a módszert még kétszer megismételte egy, a kutatásban részt vevő, véletlenszerűen kiválasztott személy a D0-n gyűjtött mintákkal. Az önálló *Giardia*-fertőzés csak a mikroszkópos vizsgálat után volt bizonyítható. Emellett *Giardia*-antigéneket is vizsgáltak a kutyák bélsárában immunológiai gyorseszteket (SNAP® *Giardia* Test, IDEXX, USA) és egylépcsős gyors immunkromatográfiát (SensPERT®,

Dogs with naturally occurring giardiasis (n=12) were randomly assigned into 1 of 2 groups, each group included 6 dogs. Necessary ethical guidelines were taken into consideration for enrollment into the groups. Group I. (group S) involved single secnidazole (Flagentyl® 500 mg tablet., Eczacibasi, Turkey) treatment at a single dose of 30 mg/kg, whereas Group II. (group C) was control, and received only placebo (sterile water). Prior to the trial, the pens where the dogs were kept, were cleaned and disinfected with a product containing quaternary ammonium compound (Biodes-S, Apex Biyogüvenlik San. Tic. Ltd. Co., Turkey) for elimination of existing environmental parasitic contamination. Both group of dogs consumed commercially prepared dog food, were housed in individual pens having separate facilities for preventing cross-contamination during the study. All cases underwent physical examination and related data were recorded along within necessary laboratory analysis. All dogs initially were screened for the presence of giardiasis, and the absence of other faecal parasites and pathogenic bacteria by ZnSO<sub>4</sub> flotation and culture, respectively. Due to ethical concerns, only a limited number of dogs served as controls. Albeit at the end of the trial, all positive control dogs were also treated with secnidazol at the same dosage as the previously treated animals.

## LABORATORY ANALYSIS

### FAECAAL EXAMINATION

During the allocation period (10 days) all dogs were screened twice with a 10day interval to confirm the presence/absence of *Giardia* sp. cysts (and for other possible intestinal parasites relevant to dogs i.e. *Cryptosporidium* sp. oocysts in the faeces). Day 0 (D0) was designated as the initial day, prior to single dose treatment, whereas D10 was annotated as after treatment analysis day. Prior to allocation into the groups, at least 2 native smears were prepared, and faeces was mixed with 33% ZnSO<sub>4</sub> solution (10-15 ml) and strained in to centrifuge tubes, which then was immediately centrifuged at 880 ×g for 5 minutes, similarly to what has been described elsewhere (30). Subsequently to centrifugation, 2 ml of the supernatant was collected, then were put on a microscope slide containing Lugol iodine, and examined at 40x magnification to detect *Giardia* cysts. The latter procedure was repeated 2 times regarding different samples for each dog collected on D0 by a single blinded researcher. Monoinfection with giardiasis was proved only by microscopical examination. Moreover *Giardia* antigen in canine feces were comperatively tested by use of a rapid enzyme immunoassay (SNAP® *Giardia* Test, IDEXX, USA) and One-step quick immunochro-

VetAll Lab., Kyunggi-Do, South Korea) alkalmazva. A vizsgálatot végző személyek nem ismerték, hogy a kutyák melyik csoportba tartoztak.

A vizsgálat során a kutyák 10 napos kórházi megfigyelésben részesültek, és a szerzők bélsárpontozási vizsgálatot végeztek egy 1-től 7-ig terjedő skálán (1: kemény és száraz, 7: vízszerűen híg, nem formált bélsár) minden spontán bélsárürítés után, ahogy ezt már korábban leírták (24). Meghatározták továbbá a bélsárpontozás eredményeinek medián értékét megfelelő statisztikai vizsgálattal. Emellett hematológiai és szérumbiokémiai vizsgálatot is végeztek (az adatok nem elérhetőek).

### A KEZELÉS HATÉKONYSÁGÁNAK ÉRTÉKELÉSE

A szeknidazol terápia hatékonyságát a D0-n és D10-n (kezelés befejezése) gyűjtött bélsárminták mikroszkopos vizsgálata alapján értékelték, ügyelve arra, hogy az újrafertőződésből fakadó torzítások elkerülhetővé váljanak. A mérések a cisztaürítés csökkenésén alapultak. A cisztaürítés csökkenését a Henderson-Tilton formula segítségével számolták, az átlagos cisztaszám alapján, hasonlóan GEURDEN és mtsai által korábban leírtakhoz (12):

$$100 \times \left[ 1 - \frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a} \right]$$

T<sub>a</sub> és T<sub>b</sub> jelöli a ciszták számának mértani átlagát a szeknidazol terápiában részesült csoport esetében a kezelés előtt és után. C<sub>a</sub> és C<sub>b</sub> pedig a kontroll csoport körében a kezelés előtt és után számolt ciszták geometriai középértékét jelenti (22).

### STATISZTIKAI ELEMZÉS

A statisztikai vizsgálatokhoz az SPSS statisztikai szoftvercsomagot használták (version 15; SPSS Inc., Chicago, Illinois). A bélsárral ürített ciszták számának normalitásának megállapításához a kontroll és a kezelt csoport esetében egyaránt a Kolmogorov-Smirnov-tesztet alkalmazták. A bélsárban fellelhető ciszták számának megoszlása nem volt normális, ezért az adatok logaritmusát vették, így elérve a közel normális megoszlást. A Wilcoxon-teszt segítségével hasonlították össze a két csoport esetében a bélsárban megtalálható ciszták számát a kezelés megkezdése előtt (D0) és 10 nappal a kezelés után (D10). A csoporton belüli alapértékeket a Mann-Whitney-tesztel hasonlították össze. Az eltéréseket  $p < 0.05$  alatt tekintették szignifikánsnak.

## EREDMÉNYEK

### BÉLSÁRVIZSGÁLAT

A natív bélsárkenetekben, amelyeket a *Giardia*-ciszta és trophozoiták kimutatása céljából készítették, 4 állat

matographic assay (SensPERT®, VetAll Lab., Kyunggi-Do, South Korea). The personnel responsible for performing the laboratory analysis were blinded to avoid bias.

During the trial, hospitalized dogs were monitored for 10 days and faecal scoring was performed immediately after a spontaneous defecation based on a 7-point scale (from 1; very hard and dry to 7; watery, no texture faeces), as reported previously (24). Furthermore, median values of faecal scores were determined by use of relevant statistical analysis. In addition haematological and serum biochemical analysis were also performed (data not shown).

### ASSESSMENT OF TREATMENT EFFICACY

Secnidazol treatment efficacy was assessed by microscopic examination of faecal samples collected on D0 and D10 (after treatment completion), in an attempt to prevent the bias that would be introduced by reinfection, and measured based on the reduction in cyst excretion in the groups. The reduction in cyst excretion was calculated by use of the Henderson-Tilton formula, including geometric mean cyst counts similar to those of described previously by GEURDEN et al. (12):

$$100 \times \left[ 1 - \frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a} \right]$$

T<sub>a</sub> and T<sub>b</sub> represented the geometric mean cyst count in the secnidazole treatment group before and after treatment, respectively; where as C<sub>a</sub> and C<sub>b</sub>; the geometric mean cyst count in the control animals before and after treatment (22).

### STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were performed using the SPSS statistical software package (version 15; SPSS Inc., Chicago, IL). The results for faecal cyst counts in both control and treatment groups were tested for normality using the Kolmogorov-Smirnov test. The faecal cyst count was not normally distributed; therefore, the data on faecal cyst count were log-transformed to achieve near-normality. Wilcoxon test was conducted to compare faecal cyst counts before (D0) and 10 days after the start of treatment (D10) in the groups. Within day comparisons regarding intragroup baseline cyst value Mann-Whitney U test was used. Probability ( $P$ ) values  $< 0.05$  was set as a significant difference. Summarized data were shown as geometric mean and range.

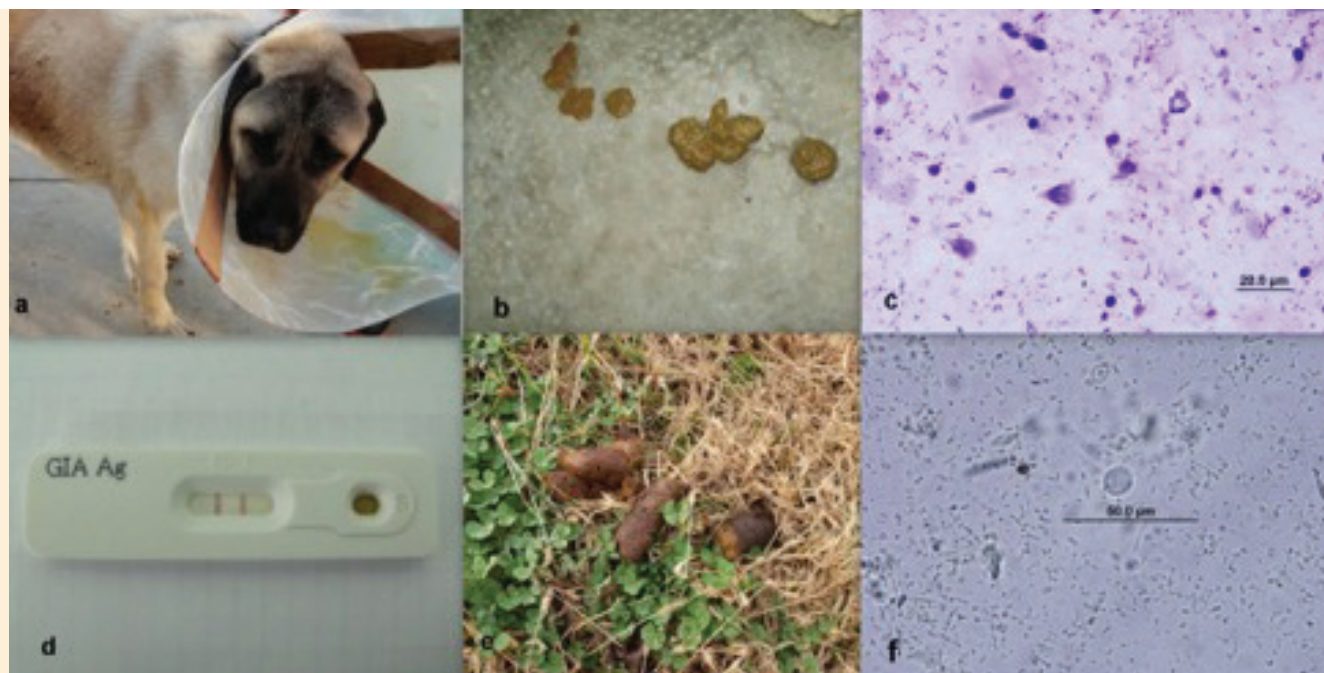
## RESULTS

### FAECAL ANALYSIS

Native smears prepared to detect *Giardia* cyst and trophozoites, revealed trophozoites in 4 dogs on D0,

esetében mutattak ki trophozoitákat a 0. napon (D0), míg valamennyi állatban találtak cisztákat. A gyors tesztek alkalmazásával szintén hasonló pozitív eredményt kaptak (1. ábra).

and cysts in all of the dogs. Supportive diagnosis performed via rapid diagnostic test kits applied to all dogs involved, were also positive (Figure 1.).



**1. ÁBRA.** (a) Kezelt csoport, 6-os állat; (b) bélsár állaga a 0. napon; (c) Giardia-trophozoita 100x-os nagyítással, Giemsa-festéssel; (d) Giardia-antigén pozitív minta; (e) bélsár állaga a 10. napon; (f) Giardia-ciszta 100x-os nagyítással, Lugol-festéssel

**FIGURE 1.** (a) Treatment group animal No 6; (b) faecal consistency on day 0 (c) Giemsa stained 100x magnification revealed Giardia trophozoite, (d) Giardia test kit positive sample, (e) faecal consistency on day 10, (f) 100x magnification, revealed Giardia sp. cyst in a native smear stained with Lugol

### KLINIKAI VIZSGÁLAT ÉS BÉLSÁRPONTOZÁSOS VIZSGÁLAT

A kezelt csoportba sorolt 6 állat közül 5 állatnál voltak megfigyelhetők klinikai tünetek (lágymécs vagy hasmenés), de ettől eltekintve más kóros tünetet nem mutattak. Egy kutyánál tapasztaltak étvágytalanságot és hányást a 4. napon. Mikroszkópos vizsgálattal egyéb társfertőzés nem volt igazolható a bélsárminták tekintetében. A 0. napon a bélsárpontozási értékek 4–6 között voltak. A szeknidazolal történő kezelést követően, a 10. napon 5 kutya normál (3), 1 kutya 5-ös pontozási értéket kapott. A kontroll csoportban ugyanakkor a kísérlet teljes hossza alatt 3–6 között voltak a bélsárpontok. Az adott napokon belüli bélsárpontok nem mutattak szignifikáns eltérést a kontroll és a kezelt csoport között (1. táblázat).

### CISZTAÜRÍTÉS

A cisztaszámlálás eredményeit a 2. táblázat mutatja. A vizsgálat teljes ideje alatt a kontroll csoportba tartozó kutyák végig Giardia-pozitivitást mutattak, és jelentős mennyiségű cisztát ürítettek. 6 kutyából 3-nál nőtt a cisztaürítés mértéke a 10. napra (150000

### CLINICAL EXAMINATION AND FAECAL SCORING RESULTS

During the trial, among hospitalized animals, 5 out of 6 dogs in treatment group presented diarrhoea or watery stool, and otherwise were healthy. In one case anorexia and mild vomiting was seen after day 4. Microscopic examination did not reveal any co-infection.

On D0 faecal scoring presented points from 4 to 6 in treated animals. Following treatment on D10, 5 dogs presented faecal scores as 3 (normal), one dog as 5. On the other hand, in control group faecal scoring ranged from 3 to 6 on trial days. Median scores deemed on a daily basis were not significantly different between the groups. (Table 1.)

### CYST EXCRETION

The results of the cyst counts are shown in Table 2. Throughout the study period dogs in control group remained positive with a significant cyst output, and 3 out of 6 dogs presented an increase in cyst counts on day 10 (ranged between 150000 to 303600) compared to the initial values (ranged 100000–300300),

és 303600 között) a kezdeti cisztaürítés mértékéhez (100000–300300) képest, de ez nem volt statisztikailag szignifikáns eltérés.

A kezelt kutyák D0-n 101500 és 2753000 közötti cisztaszámot produkáltak, míg a 3. napon csak egy egyed ürített 500 cisztát. A 7-ik és 10-ik nap között már a bélsármintákban nem volt kimutatható *Giardia*-ciszta egyik kutya esetében sem (2. táblázat). A 10. napon a szeknidazolkezelést követően a geometriai középérték alapján számított csökkenés százalékos aránya 100% volt. Az S csoportban a kezelés utáni cisztaürítés szignifikánsan csökkent ( $p < 0.01$ ) a mért geometriai középértékek alapján. A csoporton belüli összehasonlítások alapján megállapítható, hogy a D0-n mért ciszták átlagos mennyisége szignifikánsan különbözik a 3., 7. és 10. napon mérttől ( $p < 0.01$ ). A csoportok között is szignifikáns különbség mutatkozott a 3., 7. és 10-ik napon ( $p < 0.01$ ).

however there was no statistical significance. On the other hand, treated dogs presented cyst counts ranging between 101500–2753000 on D0, whereas on day 3 only 1 case showed 500 cysts. Faecal samples without any detectable cysts of *Giardia* sp. included samples from all dogs on days 7 and 10 (Table 2.). On day 10, after secnidazole treatment, the percentage reduction in cyst excretion calculated based on geometric mean was 100%. For group S geometric mean for cyst excretion was significantly decreased ( $p < 0.01$ ) after treatment. Intragroup comparison revealed that mean cyst counts on D0 differ significantly from days 3., 7., and 10 ( $p < 0.01$ ). Between the groups there were significant differences on days 3., 7., and 10 ( $p < 0.01$ ).

**1. TÁBLÁZAT.** Átlagos bélsárpontozási értékek a különböző napokon giardiákkal fertőzött kutyáknál, a kezelt és nem kezelt csoportokban

**TABLE 1.** Median faecal scores in dogs with giardiasis on a daily basis between groups

Faecal scores											
Trial days	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
S median	5	5	4,5	3,5	4	3	3,5	3	3	3	3
C median	5	5	5	5	4,5	5	4,5	4,5	5	5	4,5
<i>p</i>	1,000	1,000	1,000	0,242	1,000	0,567	0,545	0,242	0,242	0,242	0,080

D: kezelés napjai; S: szeknidazollal kezelt csoport; C: kontrollcsoport

D: days of trial; S: secnidazole treatment group, C: Control group

**2. TÁBLÁZAT.** *Giardia*-ciszta ürítés a kontroll (C) és szeknidazollal kezelt csoportban (S) a 0. (kezelés előtti) napon és a 10. napon. A geometriai átlag ( $X_g$ ) és a minimum-maximum értékek, valamint a százalékos csökkenés a geometriai átlaghoz viszonyítva. A 0. napi cisztaürítés a kezelés előtti állapotot jelzi

**TABLE 2.** The *Giardia* sp. cyst excretion in the control (Group C) and in the secnidazole treated (Group S) groups at each sampling day (before treatment [day 0] and after treatment [day 10]): the geometric mean (geomean) ( $X_g$ ) and minimum-maximum (min-max) values were presented and the percentage reduction calculated based on geometric mean. The values at day 0 were cyst excretion prior to treatment

	Day 0		Day 3		Day 7		Day 10	
	$X_g$	Min-Max	$X_g$	Min-Max	$X_g$	Min-Max	$X_g$	Min-Max
Group C	207,918.52 <sup>a</sup>	100,000–300,300	209,738.36 <sup>a</sup>	112,000–387,000	50,890.29 <sup>a</sup>	3,000–251,000	223,765.84 <sup>a</sup>	150,000–303,600
Group S	236,886.32 <sup>a</sup>	101,500–354,000	0 <sup>b</sup>	0–500	0 <sup>b</sup>	0–0	0 <sup>b</sup>	0–0
<i>p</i>	0,699		0,002		0,002		0,00	
Reduction in cyst excretion (%)							100	

a,b: a különböző betűk egy adott oszlopban és sorban szignifikáns különbséget jeleznek ( $p < 0,01$ )( $p < 0,05$ )

P: a kontroll és kezelt csoportok statisztikai összehasonlítása

a,b: Different letters among parameters at the same columns and rows indicated significant difference ( $P < 0.01$ ) ( $P < 0.05$ )

P: Statistical comparison of control and treatment groups

A 2. táblázat a ciszták ürítését mutatja a kontroll csoportban (C csoport), ill. a szeknidazzal kezelt csoportban (S csoport) mindegyik mintavételi nap adatait ábrázolva a kezelés előtt [0. nap] és a kezelés után [10. nap]: a mértani átlag ( $X_g$ ) és a minimum-maximum értékek ábrázolása és a csökkenés százalékos értéke a mértani középértékek alapján. A 0. napi cisztaürítést a kezelést megelőzően mértük.

## MEGVITATÁS

A giardiosis kezelésének elsődleges célja a hasmenés megszüntetése (26). Az egészséges társállatok nem jelentenek veszélyt a megfelelő immunstátuszú emberekre, ezért a fertőzés megszüntetése csak másodlagos cél (15). A molekuláris eszközök lehetővé tették, hogy megállapítsák, hogy a kutyák legalább négy *Giardia*-szubtypussal képesek fertőződni (A, B, C, D). Ezek közül a C és D (amit *G. canis*ként is ismerünk) található meg rendszeresen kutyákban, az A és B pedig kifejezett zoonotikus jellegű (7, 27, 28).

Ebből kifolyólag fontos kiemelni, hogy az A és B típusú való fertőződés esetén azonnali kezelés szükséges, mind emberek mind kutyák esetében.

Ellenkező eredmények érhetők el tünetmentes kutyák kezeléséről, amelyeknél cisztaürítés volt kimutatható. Korábban kutyákban (beteg vagy tünetmentes) a *Giardia*-ellenes kezelés erősen ajánlott volt a zoonotikus potenciál miatt (28). A zoonotikus típusok kutyákban nagy változatosságot mutatnak a vizsgált országok és a vizsgálatokba bevont kutyák szerint (7, 15, 29). A vizsgálatban szereplő összes esetben tájékoztatták a tulajdonosokat a zoonotikus veszélyről (29). Jelen kutatásban a molekuláris meghatározásra nem nyílt lehetőség, így nem lehetett a zoonotikus veszélyt meghatározni.

Újabban számos különböző vegyület giardiosisban mutatott hatékonyságát vizsgálják kutyákban, ezek közül sokat már régóta használnak az állatorvosok. Annak ellenére, hogy a *Giardia*-fajok igen jelentős bélélősködők, a kereskedelemben viszonylag kevés típusa érhető el ezeknek gyógyszereknek, ilyenek pl. a nitroimidazol-származékok (23). Számos benzimidazol-származék bizonyult hatékonynak giardiosis kezelésében kutyákban, mégis a legtöbb országban ezek a vegyületek – a fenbendazol kivételével – nem engedélyezettek ebben az állatfajban (2). Ez az oka annak, hogy a humán gyógyszerek off-label használata jelentősen megnőtt az állatorvoslásban (3, 14, 16, 17, 23).

A kemoterápiás szerek használata hatékony lehet a *Giardia*-fertőzöttség megszüntetésére, bár számos humán és állatorvosi esetben nem mutatkozott megfelelő válaszreakció perzisztens *Giardia*-cisztaürítés esetén. A sikertelen kezelések jelentős részé-

## DISCUSSION

The primary purpose for *anti-giardial* therapy is to suspend diarrhea (26). Healthy companion animals are not considered as an important risk for immunocompetent human beings, hence elimination of infection is a secondary goal (15). Molecular tools regarding genetic characterization of *Giardia* isolates have shown that dogs are prone to infection by parasites of four assemblages (A, B, C, D). To those of assemblage C and D (also defined as *G. canis*) are found frequently in dogs, whereas parasites of assemblages A and B have zoonotic potential (7, 27, 28). Therefore it should not be unwise to draw conclusion that assemblages A and B might be found in infected humans and dogs (26), requiring immediate therapy.

Contrary results are available for therapy of asymptomatic animals with *Giardia* cyst output. Previously *anti-giardial* treatment in dogs (ill or asymptomatic) was highly recommended because of potential zoonotic risk (28). Zoonotic assemblages in dogs were prevalent with high variations related to countries analysed and dog populations enrolled (15, 29) suggesting not to comment among geographical regions regarding prevalence or assemblage morphology (7). Whatever the case is, the awareness about the latter zoonotic risk was suggested to be maintained for all people involved (29). In the present study assemblage determination was not available, thus it was not possible to determine zoonotic potential.

Up to date, different compounds have been extensively tested for efficacy against giardiasis in dogs, and some of them are employed by veterinary surgeons. Despite the recognition of *Giardia* sp. as significant intestinal pathogens, relatively limited options, partially nitroimidazole derivatives are commercially available for therapy (23). Although several benzimidazoles have proven efficacy against giardiasis in dogs, in most of the countries no drug has commercially and officially been approved for therapy of giardiasis in dogs, other than fenbendazole (2). Therefore off-label usage of many compounds for the treatment was extrapolated from use in humans (3, 14, 16, 17, 23).

Chemotherapeutical applications might be highly efficacious for elimination of *Giardia* infections, whereas there are many human and animal cases with persisting *Giardia* cyst excretion, not responding to therapy. Reinfection is responsible for the vast majority of cases related to treatment failure (20) and commonly occurs when environmental contamination might not be prevented such as in kennels involving localized endemic geographical areas possessing high environmental infectious pressure (28). Thereby antiprotozoal therapy of animals must be supported

ért az újrafertőződés a felelős (20). Ez gyakran akkor fordul elő, ha a környezet szennyeződését nem előzik meg, elsősorban nagy állatszámú kennelekben, menhelyeken (28). Ezért elengedhetetlen, hogy az állatok gyógyszeres kezelését további intézkedések kövessék, mint fürdetés és a környezet fertőtlenítése (20). A *Giardia*-cisztáknak kifejezetten nagy az ellenálló képessége, és mindenütt jelen vannak. Túlélnek nagy páratartalom esetén és 11 hétig 4 °C-os vízben is (19). A higiéniai intézkedéseknek magukban kell foglalniuk a ketrecek fertőtlenítését, ezzel is megelőzve a környezetben található cisztákkal való újrafertőződés lehetőségét. Megállapították, hogy 7 napos ronidazolkezeléssel, amelyet fertőtlenítéssel együtt végeztek, jelentős csökkenést lehetett elérni *Giardia*-cisztaürítésben (10). A rendszeresen használt tisztítószer, mint például a forró, detergens-tartalmú víz nem elég hatékony az ürített ciszták számának csökkentésében (20). Jelen vizsgálat során a tisztítószer tényleges hatását a *Giardia*-cisztákra nem vizsgálták, de az kvaterner ammónium vegyületet tartalmazott.

Nem áll rendelkezésre korábbi közlmény, amely az egyszeri alkalommal szájon át beadott 30 mg/ttkg szeknidazolkezelés hatékonyságát vizsgálná giardiákkal természetes úton fertőződött kutyákban. A jelenlegi kutatásban a vizsgált állatok jól viselték a szeknidazol, mellékhatások nem mutatkoztak, így nem volt szükséges a kísérlet félbeszakítása vagy állatok kizárása a kísérletből. Az eredmények alapján a szeknidazol hatékonyan bizonyult kutyákban giardiosis kezelésére.

A szeknidazol hatékonysága kutyákban összehasonlítható korábban közölt adatokkal, amelyben giardiákkal természetes úton fertőződött macskákat vizsgáltak. A macskák körében 100%-os hatékonyságúnak bizonyult az egyszeri, 30 mg/ttkg adagú szeknidazol szájon át történő beadása, tehát a kezelés után a bélsárban nem voltak megtalálhatók ciszták (8). A szeknidazol hatékonyságát juhok esetében is vizsgálták. Itt a közölt adatok alapján 10 mg/ttkg (24) vagy 10–30 mg/ttkg szeknidazol alkalmazása eredményezett szignifikáns csökkenést ( $p < 0.001$ ) a cisztaürítésben. Ám fontos megemlíteni, hogy a nitroimidazolok nem adhatók élelmiszertermelő állatoknak az Európai Unióban. Egy másik kutatás a metronidazol, a fenbendazol és a szeknidazol hatékonyságát vizsgálta természetben előforduló *Giardia muris* ellen egerekben. A metronidazol 97,05%-ban, a fenbendazol 98,30%-ban, míg a szeknidazol 100%-ban bizonyult hatékonyan (9). Ehhez hasonlóan jelen vizsgálatban a cisztaürítés a 3., 7. és 10. napon szignifikáns ( $p < 0.001$ ) csökkenést mutatott, a szer valamennyi állat esetében hatékony volt. A szeknidazol megfelelő kezelés lehet ezentúl az egyszerű és kényelmes, egyszeri adagolású alkalmazás miatt.

A SNAP® *Giardia*-teszt érzékenysége 95%, specifikitása 99% volt (13). A gyors immunkromatográfián alapuló

with control measures such as bathing following treatment and sanitation of the environment (20). *Giardia* cysts have high tenacity and ubiquitous presence and were described to survive at high humidity and water for 11 weeks at 4 °C (19). Implemented hygiene measures involving disinfection of the pens and withdrawal of infected material may help preventing reinfections with cysts gained from the environment. It was detected that at the end of a seven-day ronidazol treatment combined with disinfection, there was high efficacy in reducing *Giardia* cysts (10). Moreover regularly used detergents, hot soapy water may also not be able to eliminate *Giardia* cyst output (20). In the present study although the real impact on elimination of *Giardia* cyst output remained unclear, disinfection was performed with a product containing quaternary ammonium compounds.

The present authors were unaware of finding previous documented reports regarding the efficacy of a single oral dose of secnidazole at 30 mg/kg against naturally occurring giardiosis in dogs. In the present study, secnidazole was well tolerated without side effects, thus did not require treatment intervention or exclusion from the study. Available evidence suggests that secnidazole may be efficacious for the therapy of giardiasis in dogs.

The efficacy of secnidazole in dogs is comparable to a previous study in cats naturally infected with giardiasis, in which an oral single dose of 30 mg/kg resulted with a final 100 % efficacy, as no cysts were found in faeces following treatment (8). Secnidazol treatment was also adapted to sheep with Giardiasis in previous studies resulting with significant reductions ( $p < 0.001$ ) in cyst output with 10 mg/kg [24] or 10–30 mg/kg (1). However it should be mentioned that nitroimidazoles are not intended for food producing animals in EU. In another trial comparative efficacy of metronidazole, fenbendazole and secnidazole against naturally occurring *Giardia muris* infection in mice was investigated. Efficacies of 97.05%, 98.30% and 100% were detected for metronidazole, fenbendazole and secnidazole, respectively (9). Similarly in the present study, secnidazol treatment significantly reduced the cyst shedding by 100% on days 3., 7. and 10., resulting in a significant reduction ( $p < 0.001$ ) in treatment group. The convenience and ease of a single dose oral administration in association with a good tolerance, make secnidazole an effective option.

SNAP® *Giardia* Test had a sensitivity of and a specificity of 95% and 99%, respectively (13). On the other side quick immunochromatography-based SensPert® test detects 65 kDa cyst antigen shed with the faeces (10). All aforementioned tests commercially available to veterinary practices, identifying *Giardia* sp. cyst anti-



SensPert® a bélsárral ürített 65 kDa-s ciszta antigéneket képes kimutatni (10). Mindkét teszt lehetővé teszi a *Giardia*-fajok antigénjeinek azonosítását, de az összehasonlító kutatásokban nem eredményeztek következetes eredményeket, így az feltételezhető, hogy önmagában egyik módszer sem 100%-ig megbízható. Ezért a tesztek kombinálása (20), és a különböző napokon történő többszöri mintagyűjtés ajánlott megbízható eredmény eléréséhez (11, 28). Jelen vizsgálatban mindkét teszt alkalmazásra került, és a teszteredmények minden esetben pozitívnak bizonyultak.

A kapott eredmények alapján megállapítható, az egyszeri 30 mg/ttkg adagú szeknidazolkezelés hatékony giardiákkal természetes úton fertőződött kutyák körében, és alkalmazása ajánlott a mindennapi gyakorlatban is. Legalább 10 nap szükséges a ciszták ürítésének teljes megszüntetéséhez. A szeknidazol tehát hatékony alternatívája lehet a többszöri adagban alkalmazott nitroimidazol-vegyületeknek.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ez a tanulmány részben CEREN KARAHALLI MSc értekezésének összefoglalása, amelyet az Adnan Menderes Egyetem Kutatási Projektekkel foglalkozó osztálya támogatott VTF-13009 azonosítóval.

## IRODALOM / LITERATURE

- ALIC-URAL, D. – AYAN, A. et al.: Secnidazol Treatment to Improve Milk Yield in Sheep with Giardiasis. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2014. 9. 74–82.
- BARR, S. C. – BOWMAN, D. D.: Giardiasis in dogs and cats. *Compend. Con. Ed. Pract. Vet.*, 1994. 16. 603–614.
- BOWMAN, D. D. – LIOTTA, J. L. et al.: Treatment of naturally occurring, asymptomatic *Giardia* sp. in dogs with Drontal Plus flavour tablets. *Parasitol. Res.*, 2009. 105. 125–134.
- BURET, A. G.: Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut.*, 2007. 56. 316–317.
- BURET, A. G.: Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasite.*, 2008. 15. 261–265.
- BUSATTI, H. G. N. O. – SANZOS, J. F. G. et al.: The old and new therapeutic approaches to the treatment of giardiasis: Where are we? *Biologics*, 2009. 3. 273–287.
- COVACIN, C. – AUCOIN, D. P. et al.: Genotypic characterisation of *Giardia* from domestic dogs in the USA. *Vet. Parasitol.*, 2011. 177. 28–32.
- DA SILVA, A. S. – CASTRO, V. S. et al.: Secnidazole for the treatment of giardiasis in naturally infected cats. *Parasitol. Int.*, 2011. 60. 429–432.
- DA SILVA, A. S. – DA SILVA, M. K. et al.: Eficácia de drogas contra *Giardia muris* em camundongos *Mus musculus* naturalmente infectados [Efficacy of drugs against *Giardia muris* in mice *Mus musculus* naturally infected]. *Semina: Ciências Agrárias*, 2008. 29. 175–178.
- FIECHTER, R. – DEPLAZES, P. et al.: Control of *Giardia* infections with ronidazole and intensive hygiene management in a dog kennel. *Vet. Parasitol.*, 2012. 187. 93–98.
- GEURDEN, T. – BERKVEN, D. et al.: 315 evaluation of three diagnostic assays for the detection of *Giardia duodenalis* in 316 symptomatic and asymptomatic dogs. *Vet. Parasitol.*, 2008. 157. 14–20.
- GEURDEN, T. – POHLEB, H. et al.: The efficacy of a treatment with fenbendazole against an experimental *Giardia duodenalis* infection in lambs. *Small. Rum. Res.*, 2011. 96. 211–215.
- LABARTHE, N. – DE-ALMEIDA, F. M. et al.: Prevalence of *Giardia* in Household Dogs and Cats in the State of Rio de Janeiro using the IDEXX SNAP® *Giardia* Test. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 2008. 6. 3. 200–206.
- LAPPIN, M. R. – CLARK, M. et al.: Treatment of healthy *Giardia* spp. positive dogs with fenbendazole or nitazoxanide. in *2008 Scientific Proceedings, Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum*. San Antonio, TX, 2008.
- LEONHARD, S. – PFISTER, K. et al.: The molecular characterisation of *Giardia* from dogs in southern Germany. *Vet. Parasitol.*, 2007. 150. 33–38.
- MIRO, G. – MATEO, M. et al.: Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintics in naturally infected dogs. *Parasitol. Res.*, 2007. 100. 317–320.
- MONTOYA, A. – DADO, D. et al.: Efficacy of Drontal Flavour Plus (50 mg praziquantel, 144 mg pyrantel embonate, 150 mg febantel per tablet) against *Giardia* sp in naturally infected dogs. *Parasitol. Res.*, 2008. 103. 1141–1144.

18. NASH, T. E. – OHL, C. A. et al.: Treatment of Patients with Refractory Giardiasis. *Clin. Infect. Dis.*, 2001. 33. 22–28.
19. OLSON, M. E. – O'HANDLEY, R. M. et al.: Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends. Parasitol.*, 2004. 20. 185–191.
20. PAYNE, P. A. – ARTZER, M.: The biology and control of *Giardia* spp. and *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Clin. North. Am.*, 2009. 39. 993–1007.
21. PLUMB, D. C.: *Veterinary Drug Handbook*. PharmaVet Publishing. White Bear Lake. USA, 1999. 853.
22. PRESIDENTE, P. J. A.: Resistance in nematodes to anthelmintic drugs. In *CSIRO Division of Animal Health Australian wool Corporation*, 1985. 15.
23. ROSSIGNOL, J. F.: *Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. *Exp. Parasitol.*, 2010. 124. 45–53.
24. SIMPSON, K. W. – RISHNIW, M. et al.: Influence of *Enterococcus faecium* SF68 Probiotic on Giardiasis in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009. 23. 476–481.
25. STOKOL, T. – RANDOLPH, J. F.: Development of bone marrow toxicosis after albendazole administration in a dog and cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1997. 210. 1753–1756.
26. TANGTRONGSUP, S. – SCORZA, V.: Update on the Diagnosis and Management of *Giardia* spp Infections in Dogs and Cats. *Top. Companion. Anim. Med.*, 2010. 25. 155–162.
27. THOMPSON, R. C. – MONIS, P. T.: Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Adv. Parasitol.*, 2004. 58. 69–137.
28. THOMPSON, R. C.: The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet. Parasitol.*, 2004. 126. 15–35.
29. UPJOHN, M. – COBB, C. et al.: Prevalence, molecular typing and risk factor analysis for *Giardia duodenalis* infections in dogs in a central London rescue shelter. *Vet. Parasitol.*, 2010. 172. 341–346.
30. URAL, K. – AYSUL, N. et al.: Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in Sakiz lambs. *Rev. MVZ. Cordoba*, 2014. 19. 4023–4032.

Közlésre érk.: 2016. júl. 11.