

**ESSAI DE TRAITEMENT DE LA GIARDIOSE CANINE PAR LE
FEBANTEL, LE FENBENDAZOLE, L'OXFENDAZOLE ET LE
METRONIDAZOLE.**

A Monsieur le Professeur Jean-François MAGNAVAL.

Professeur des Universités.

Praticien hospitalier.

Parasitologie.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Michel FRANC.

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Parasitologie et maladies parasitaires.

Qui nous a aidé et dirigé notre travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Mademoiselle le Docteur Marie-Christine CADIERGUES.

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Dermatologie.

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Qu'elle trouve ici l'expression de toute notre gratitude.

A mes parents,

Pour votre amour, votre soutien et les efforts consentis pour me permettre de réaliser mon rêve.

A toute ma famille,

Pour votre affection et les bons moments passés ensemble.

A Vincent,

Merci.

A tous les autres,

Tous ceux qui, de près ou de loin, ont joué un rôle sur mon parcours.

TABLE DES MATIERES.

INTRODUCTION	14
PREMIERE PARTIE : LA GIARDIOSE CANINE	15
1. Le parasite : <i>Giardia duodenalis</i>	16
1.1. Taxonomie.....	16
1.2. Morphologie.....	17
1.3. Biologie.....	18
1.4. Cycle évolutif.....	19
2. Epidémiologie.....	21
2.1. Importance de la maladie.....	21
2.2. Epidémiologie analytique.....	21
2.2.1. Sources de parasites.....	21
2.2.2. Transmission du parasite.....	21
2.2.3. Facteurs favorisants.....	22
3. Pathogénie.....	23
4. Signes cliniques.....	24
5. Lésions.....	25
6. Diagnostic.....	25
6.1. Diagnostic différentiel.....	25
6.2. Diagnostic expérimental.....	26
6.2.1. L'examen direct des fèces.....	26
6.2.2. La coproscopie microscopique.....	26
6.2.3. L'utilisation de la méthode ELISA.....	27
6.2.4. L'aspiration duodénale.....	28
6.2.5. L'utilisation de l'ENTERO TEST.....	28
6.2.6. D'autres méthodes diagnostiques.....	29
7. Méthodes de lutte.....	29
7.1. Traitement.....	29
7.1.1. Utilisation des nitroimidazoles.....	29

7.1.2. Utilisation de la quinacrine.....	30
7.1.3. Utilisation des benzimidazoles.....	30
7.2. Prophylaxie.....	31
8. Risque zoonosique.....	32

DEUXIEME PARTIE : PHARMACOLOGIE DES MOLECULES TESTEES.....34

1. Le métronidazole.....	35
1.1. Structure.....	35
1.2. Pharmacocinétique.....	35
1.3. Mécanisme d'action et résistances.....	36
1.4. Indications.....	37
1.5. Contre-indications et toxicité.....	37
2. Les benzimidazoles : fébantel, fenbendazole et oxfendazole.....	38
2.1. Structures et relations.....	38
2.1.1. Structure générale des benzimidazoles.....	38
2.1.2. Structure du fébantel, du fenbendazole et de l'oxfendazole et relations entre ces trois molécules.....	38
2.2. Pharmacocinétique.....	40
2.3. Mode d'action et résistances.....	42
2.4. Indications.....	43
2.5. Contre-indications et toxicité.....	44
3. Les autres molécules.....	45
3.1. Le praziquantel.....	45
3.2. L'embonate de pyrantel.....	46
3.3. La spiramycine.....	46

**TROISIEME PARTIE : ESSAI DE QUATRE PROTOCOLES DE TRAITEMENT DE
LA GIARDIOSE CANINE..... 47**

1. Matériel et méthode.....	48
1.1. Les chiens.....	48
1.2. L'infestation par les <i>Giardia</i>	48
1.3. Réalisation des lots.....	49

1.4. Environnement des chiens.....	49
1.5. Protocoles de traitement.....	50
1.6. Examen des fèces.....	51
1.6.1. Principe et réalisation de l'examen coproscopique.....	52
1.6.2. Principe et réalisation des tests ELISA.....	53
2. Résultats.....	54
2.1. Résultats du lot témoin.....	55
2.2. Résultats du traitement par l'oxfendazole.....	56
2.3. Résultats du traitement par l'association de fébantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel.....	57
2.4. Résultats du traitement par le fenbendazole.....	58
2.5. Résultats du traitement par le métronidazole associé à la spiramycine.....	59
2.6. Synthèse et interprétation des résultats.....	60
3. Discussion.....	61
 CONCLUSION.....	 65
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	 67
 ANNEXES.....	 75
Annexe 1 : Détail des résultats coproscopiques et ELISA du contrôle de l'infestation des chiens avant le début de l'essai.....	76
Annexe 2 : Résultats coproscopiques et ELISA de tous les chiens participant à l'essai.....	77
Annexe 3 : Tableaux de résultats statistiques.....	79
Annexe 4 : Comparaison des techniques de diagnostic de la giardiose canine.....	84

LISTE DES TABLEAUX.

Tableau 1 : Chronologie de l'administration des traitements et de la réalisation des examens des fèces.....	52
Tableau 2 : Positivité des chiens du lot témoin.....	55
Tableau 3 : Positivité des chiens du lot traité par l'oxfendazole.....	56
Tableau 4 : Positivité des chiens du lot traité par l'association de febantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel.....	57
Tableau 5 : Positivité des chiens du lot traité par le fenbendazole.....	58
Tableau 6 : Positivité des chiens du lot traité par le métronidazole associé à la spiramycine..	59
Tableau 7 : Pourcentage de chiens négatifs dans les différents lots.....	60

LISTE DES FIGURES.

Figure 1 : Schéma d'un trophozoïte de <i>Giardia</i>	17
Figure 2 : Schéma d'un kyste de <i>Giardia</i>	18
Figure 3 : Cycle évolutif de <i>Giardia duodenalis</i>	20
Figure 4 : Photographie d'un kyste de <i>Giardia</i>	27
Figure 5 : Formule semi-développée du métronidazole.....	35
Figure 6 : Structure générale des benzimidazoles.....	38
Figure 7 : Structures et relations entre le febantel, le fenbendazole et l'oxfendazole.....	39
Figure 8 : Métabolisme du febantel, du fenbendazole et de l'oxfendazole.....	41
Graphique 1: Positivité en <i>Giardia</i> des chiens du lot témoin.....	56
Graphique 2 : Positivité en <i>Giardia</i> des chiens traités par l'oxfendazole.....	57
Graphique 3 : Positivité en <i>Giardia</i> des chiens traités par l'association de febantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel.....	58
Graphique 4 : Positivité en <i>Giardia</i> des chiens traités par le fenbendazole.....	59
Graphique 5 : Positivité en <i>Giardia</i> des chiens traités par le métronidazole associé à la spiramycine	60

INTRODUCTION.

La giardiose est l'une des parasitoses intestinales les plus fréquentes, notamment chez le chien. Bien que peu recherchée jusqu'à récemment chez les animaux, son importance réside dans le fort potentiel zoonosique qu'elle présente et dans son caractère contagieux. Dans l'espèce canine, elle atteint principalement les jeunes vivant en communauté (élevages et chenils), se traduisant soit par une forme asymptomatique, soit par une forme clinique, le plus souvent chronique, associant malabsorption/malassimilation et diarrhée chronique et plus rarement par une forme aiguë avec diarrhée aqueuse incoercible. Le traitement habituellement employé consiste en l'utilisation du métronidazole qui présente cependant des effets secondaires non négligeables et contribue à la sélection de souches de parasites résistantes. Ces dernières années, l'emploi de benzimidazoles anthelminthiques a été préconisé en lieu et place du traitement de référence, avec l'avantage d'être aussi efficaces que le métronidazole, sans en présenter les inconvénients.

Dans cette étude, après une première partie bibliographique concernant la giardiose canine et une deuxième partie portant sur les différentes molécules utilisées, nous nous proposons de tester quatre protocoles de traitement de la giardiose chez le chien afin d'en vérifier l'efficacité et de pouvoir les comparer.

**PREMIERE PARTIE :
LA GIARDIOSE CANINE.**

1. Le parasite : *Giardia duodenalis*.

1.1. Taxonomie (22).

Dans la classification du monde vivant, le genre *Giardia* appartient à la super-classe des Mastigophora qui regroupe les protozoaires flagellés, et plus précisément à la classe des Zoomastigophora puisqu'il s'agit d'un organisme à affinité animale, sans chloroplaste. Il fait partie de l'ordre des Diplomonadida du fait de la présence de nombreux organites doubles, notamment deux noyaux, leur donnant un aspect symétrique. Cet ordre ne renferme qu'une seule famille : celle des Hexamitidae qui se caractérisent par un nombre de flagelles égal à 8.

Au sein même du genre *Giardia*, la taxonomie des différentes espèces s'avère être des plus difficiles. En 1922, Hegner se base sur des critères morphologiques tels que la longueur et la largeur du trophozoïte, mais aussi et surtout sur la spécificité d'hôte pour distinguer de nombreuses espèces de *Giardia*. En 1952, Filice ne reconnaît que 3 espèces en se fondant sur la forme des trophozoïtes et celle des corps médians (faisceaux de microtubules présents dans le cytoplasme). Il distingue alors :

- *Giardia duodenalis* rencontré chez les mammifères sauvages et domestiques, dont l'Homme.
- *Giardia agilis* qui touche les amphibiens.
- *Giardia muris*, parasite des rongeurs.

Plus récemment, deux autres espèces ont été ajoutées : *G. psittaci* et *G. ardeae* qui concernent toutes deux les oiseaux.

Depuis peu, les progrès réalisés dans les connaissances et les techniques de biologie moléculaire ont permis une nouvelle approche de la spéciation des *Giardia*. L'utilisation de critères génétiques s'intéressant à la conservation de certains loci et d'ARN ribosomiaux aboutissent à la conclusion que l'espèce *G. duodenalis* peut être subdivisée en deux grands ensembles génétiques très peu spécifiques d'hôtes mais qu'elle comprend aussi quelques génotypes très adaptés à leur hôte et qui pourraient représenter des espèces distinctes (49). Ces résultats restent encore controversés et de nouvelles études comparatives sont encore nécessaires pour les confirmer.

1.2. Morphologie (13, 22).

Giardia duodenalis est un protozoaire flagellé qui existe sous deux formes : l'une active, le trophozoïte (figure 1) et l'autre végétative, le kyste (figure 2).

Le trophozoïte est mobile, d'un aspect général piriforme, on distingue son extrémité antérieure arrondie et son pôle postérieur effilé. Ses dimensions sont d'environ 15 μm de long pour 8 μm de large. Dans le cytoplasme, on distingue en microscopie photonique, 2 noyaux en position antérieure, entre lesquels s'intercalent les kinétosomes qui sont les organites d'insertion des flagelles. En face ventrale, concave, le parasite présente un disque adhésif qui lui permet de se fixer sur les cellules de son hôte. En arrière de celui-ci, on note la présence de deux corps médians (faisceaux de microtubules dans le cytoplasme) superposés, en forme de virgules et disposés perpendiculairement à l'axe du corps. Les flagelles, au nombre de 8, émergent par paires : une en position ventrale, deux dans les régions latérales et la dernière au pôle postérieur.

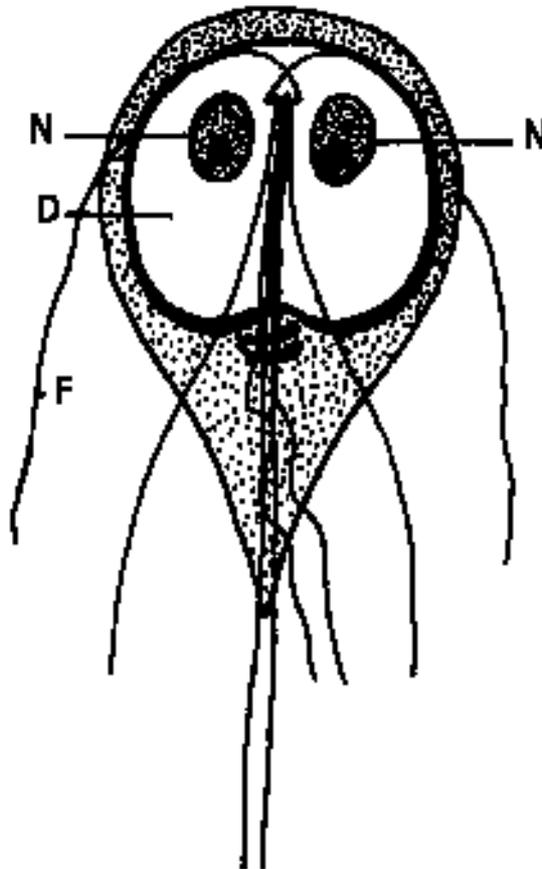


Figure 1 : Schéma d'un trophozoïte de *Giardia* (d'après 16).

(N : noyau ; D : disque ventral ; F : flagelles).

Le kyste est la forme végétative de *Giardia*, d'une forme ovale mesurant environ 12 μ m sur 8 μ m, il est constitué d'une paroi épaisse renfermant 2 ou 4 noyaux suivant le stade de maturation, des fragments de flagelles, de kinétoosomes et des corps médians. Le kyste constitue la forme de résistance et l'élément infestant au cours du cycle évolutif du parasite.

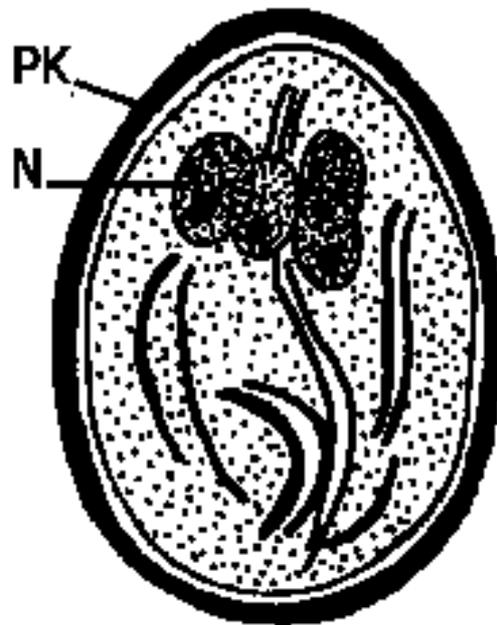


Figure 2 : Schéma d'un kyste de *Giardia* (d'après 16).

(N : noyau ; PK : paroi kystique).

1.3. Biologie (12, 13, 22).

Giardia duodenalis est un parasite entérique. Il vit dans le duodénum et le jéjunum du chien, se nourrissant d'éléments prélevés par pinocytose dans le contenu du tube digestif. Les trophozoïtes sont fixés de manière non permanente sur la bordure en brosse des cellules intestinales par l'intermédiaire de leur disque adhésif, les bords de celui-ci s'insérant entre les microvillosités. Le disque va opérer un processus de succion entretenu par les mouvements des flagelles mais la fixation est sans doute principalement due à des mécanismes de liaisons moléculaires. En effet, les sécrétions duodénales, et notamment la trypsine, vont activer une protéine membranaire du parasite, la lectine. Celle-ci va se lier à des résidus glycosylés de la membrane de la cellule hôte participant ainsi à la fixation. Parfois les *Giardia* peuvent aussi

s'enfoncer dans la lamina propria de la muqueuse. On les retrouve, en revanche, rarement dans les cryptes glandulaires. Chez le chien, aucun envahissement des voies biliaires n'est décrit, à la différence de ce qui peut se produire chez l'homme.

La reproduction des *Giardia* n'est qu'asexuée et a lieu selon un mode de multiplication par fission binaire avec un plan de clivage longitudinal. Elle aboutit à partir d'une cellule mère, à deux cellules filles identiques.

Leur métabolisme est anaérobie (toutefois, une faible quantité d'oxygène peut être tolérée). Les glucides constituent leur source d'énergie principale.

1.4 Cycle évolutif (4, 12, 13, 22).

Le cycle évolutif de *Giardia* est direct. Il fait alterner les deux stades du parasite : le trophozoïte est le stade de multiplication et le kyste est l'élément infestant (figure 3).

L'animal s'infeste par ingestion de kystes, quelques dizaines d'entre eux peuvent suffire. Le chien se contamine le plus souvent par la consommation de fèces ou d'eau souillée contenant la forme de résistance du parasite. Une fois dans le tube digestif, l'exposition des kystes aux acides gastriques et aux enzymes pancréatiques provoque, au niveau du duodénum, la libération des deux trophozoïtes que chacun contenait. Leur maturation se fait rapidement et leur multiplication active commence alors en 5 à 40 heures selon les études menées. Remarquons qu'il a été montré qu'un régime riche en glucides favorisait une localisation plus proximale de ces étapes par rapport à un régime riche en protéines.

L'enkystement est progressif lors du passage des *Giardia* de l'intestin grêle vers le colon. Les mécanismes mis en jeu sont encore mal connus, cependant, le pH, les concentrations en acides gras et en sels biliaires semblent y jouer un rôle important.

L'élimination des kystes se fait dans les fèces au bout d'une période prépatente comprise entre 1 et 2 semaines (en moyenne 8 à 10 jours chez le chien). Cette élimination est discontinue mais peut être massive (atteignant jusqu'à 1 million de kystes par gramme de selles chez l'homme) pendant plusieurs mois.

Notons enfin que les trophozoïtes peuvent passer dans les fèces, leur très faible résistance dans le milieu extérieur explique qu'ils soient rarement des éléments infestants.

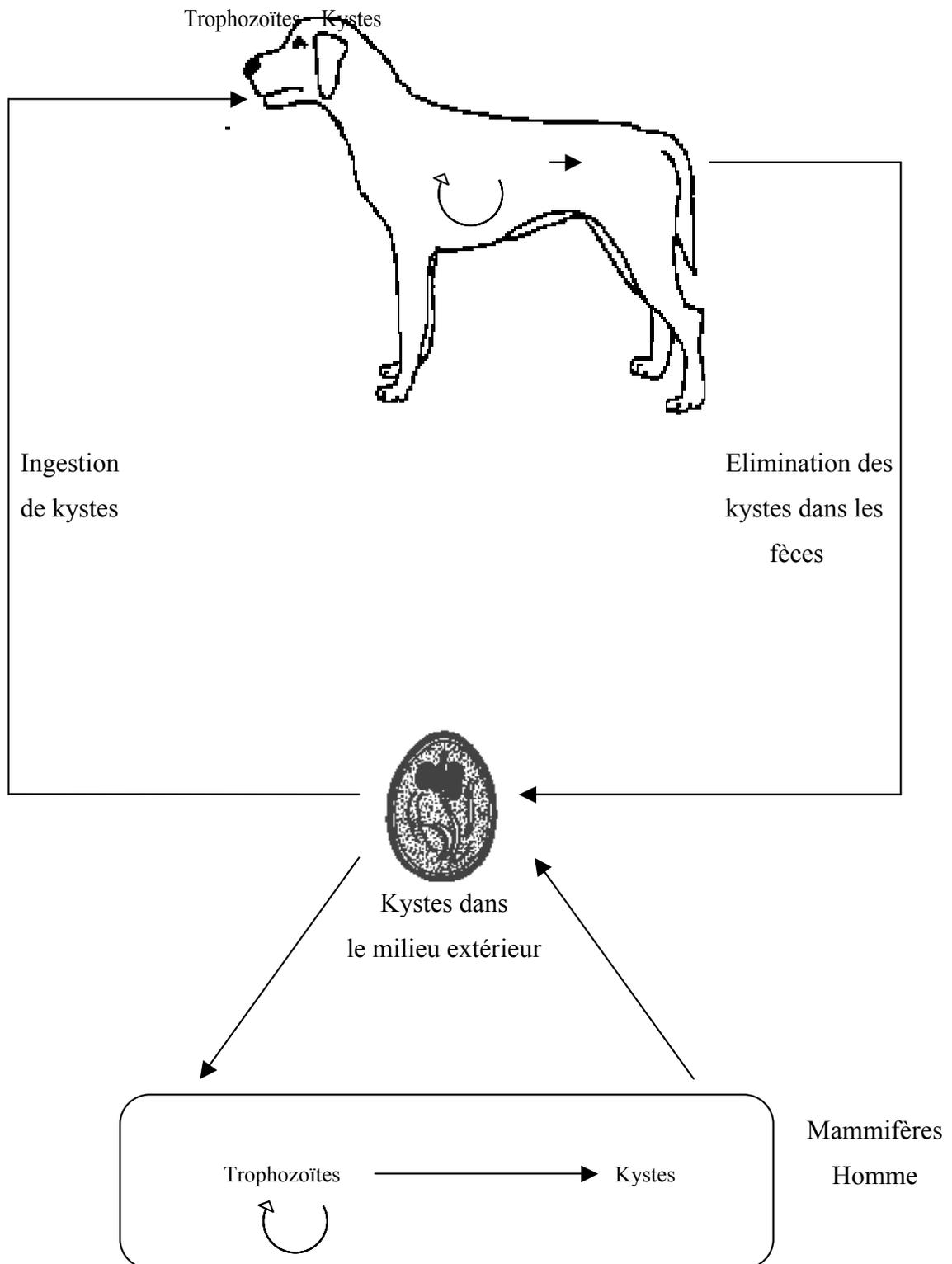


Figure 3 : Cycle évolutif de *Giardia duodenalis*.

2. Epidémiologie.

2.1. Importance de la maladie.

La giardiose est sans doute l'une des parasitoses intestinales les plus fréquentes chez le chien. Elle a été mise en évidence un peu partout dans le monde. En France, de récentes études ont montré que *Giardia duodenalis* était le parasite intestinal le plus souvent rencontré chez le chien. Une étude menée par le laboratoire de parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon a montré l'occurrence de *Giardia* dans 10% de 80 coproscopies réalisées sur des fèces de chiens atteints de diarrhée (10). Une autre (11), réalisée sur 93 prélèvements fécaux provenant de chiens tout venant de la région parisienne conclue à une prévalence égale à 12,9%. Une enquête réalisée dans 5 chenils de la région de Lyon (soit 199 animaux) a récemment mis en évidence la présence de 17,1% de porteurs en faisant la quatrième parasitose après la trichurose (32,7%), la toxocarose (30,7%) et les coccidioses (21,1%) rencontrée dans ces chenils (52).

2.2. Epidémiologie analytique.

2.2.1. Sources de parasites.

Les sources de parasites sont les individus excréteurs de kystes, qu'ils présentent des symptômes (malades) ou qu'ils n'en présentent pas (porteurs sains). Les porteurs sains étant les sources les plus insidieuses vu que leur apparente bonne santé empêche de les repérer et donc d'éliminer les *Giardia*. Les espèces concernées sont bien entendu le chien mais aussi les autres mammifères dont l'homme.

2.2.2. Transmission du parasite.

L'infestation se fait par l'ingestion des kystes émis dans les fèces. Celle-ci peut intervenir par coprophagie mais aussi et surtout par consommation d'eau contaminée ou encore d'aliments souillés. Du fait de leur très faible survie dans le milieu extérieur, les

trophozoïtes apparaissent comme des éléments infestants peu probables même si expérimentalement cela reste possible.

2.2.3. Facteurs favorisants.

La Giardiose canine touche toutes les races de chiens sans prédisposition sexuelle. En revanche, l'âge de l'animal est un facteur de réceptivité non négligeable. Dans l'étude menée sur 93 chiens de la région parisienne (11), si la prévalence globale de *Giardia* est de 12,9%, elle n'est que de 7,1% sur les animaux de plus de 6 mois mais atteint 30,4% chez les jeunes de moins de 6 mois. De la même façon, lors de l'enquête réalisée dans les chenils des environs de Lyon (52), la prévalence globale qui est de 17,1% tombe à 6,9% chez les adultes et s'élève à 44,5% chez les chiots de moins de 6 mois. Cette plus forte prévalence pourrait s'expliquer par le fait que les jeunes animaux sont plus enclins à se contaminer par consommation d'excréments et qu'ils possèdent un système immunitaire moins performant.

Le mode de vie en collectivité, par les contacts qu'il implique et les mesures d'hygiène moins faciles à appliquer, favorise les échanges de parasites.

La saison ne semble pas jouer un rôle particulier même si les kystes sont sensibles à la dessiccation qui doit cependant être prolongée. Dans le milieu extérieur, ils résistent en effet 4 jours à 37°C, 1 mois à 21°C et 2 mois à 8°C. L'humidité leur permet d'augmenter leur durée de survie.

L'état général de l'animal intervient aussi dans la réceptivité à *Giardia*. Ainsi, les individus immunodéprimés seront d'une part plus réceptifs mais aussi plus sensibles et développeront donc plus fréquemment une forme clinique. Le polyparasitisme semble aussi être un facteur prédisposant.

3. Pathogénie (12, 13, 35, 41).

Le pouvoir pathogène des *Giardia* reste pour le moment mal expliqué et les connaissances chez le chien sont peu nombreuses, la plupart sont des extrapolations des modalités connues chez l'homme et chez le modèle expérimental murin.

Ce pouvoir pathogène est variable selon la souche de parasite, certaines étant plus résistantes à l'action des protéases par exemple, et selon l'individu hôte. Ainsi, un sujet présentant une malabsorption préexistante ou un statut nutritionnel déficient serait plus prompt à développer la maladie.

La pathogénie, complexe, comporterait des composantes variées :

- Une action mécanique due au fait que les parasites tapissent la muqueuse intestinale provoquant une abrasion de l'épithélium, une destruction des microvillosités et une hypersécrétion de mucus limitant le passage des éléments du contenu intestinal vers le milieu intérieur. On constate aussi une accélération du turn-over des cellules intestinales, ce qui a pour effet de diminuer l'équipement enzymatique (parce que le nombre de cellules immatures est plus grand) et de conduire à un défaut de transport du glucose et des acides aminés.
- Une action spoliatrice par consommation de nutriments comme le glucose, les triglycérides, les folates et la vitamine B12.
- Une action cytopathique : *Giardia* exerce un effet cytophagène direct sur des cellules de lignée Véro et Hela in vitro.
- Des mécanismes immunopathologiques semblent aussi entrer en jeu puisque lors d'une réinfestation, la période patente est moins longue que lors d'une primo-infestation et que l'élimination fécale de kystes est quantitativement plus faible.
- Enfin, les *Giardia* perturberaient la sécrétion de la bile, en déconjugant les sels biliaires, avec pour conséquence une prolifération bactérienne.

L'immunité opposée par l'organisme aux *Giardia* est principalement de nature humorale. Lors d'infestations naturelles chez l'homme ou expérimentales chez la souris, on observe la synthèse d'immunoglobulines à partir de 10 jours après l'infection. Il s'agit d'abord d'Ig M sériques et dans le mucus intestinal puis, une semaine plus tard, d'Ig A et d'Ig G. Le rôle des Ig A sécrétoires seraient d'empêcher la fixation des trophozoïtes aux cellules intestinales. Chez le chien, il semblerait qu'un grand nombre d'individus ne développent pas

de réponse Ig A et Ig G suffisante d'où une excrétion prolongée de kystes. Ceci pourrait être dû à une incapacité de l'hôte à reconnaître les antigènes du parasite ou bien à un problème lors du changement de classe d'immunoglobulines. Notons aussi que les anticorps sécrétés dans la bile joueraient un rôle important d'anticorps cytotoxiques. La réponse à médiation cellulaire aurait une importance plus limitée : pour certains, elle n'intervient pas du tout, pour d'autres, la réaction locale lymphocytaire T participerait à l'élimination des *Giardia*.

4. Signes cliniques (4, 12, 13, 35, 54).

La grande majorité des cas de giardiose chez le chien reste probablement asymptomatique.

Des symptômes peuvent apparaître après une durée d'incubation très variable allant de 5 jours (elle précède alors l'émission des premiers kystes) à plusieurs semaines. Le signe clinique le plus fréquent est l'apparition d'une diarrhée. Les fèces sont alors molles, pales et nauséabondes, pouvant avoir une apparence grasseuse faisant penser à une stéatorrhée. La fréquence des défécations est modérément augmentée, la quantité de selles par défécation est normale ou augmentée. Le plus souvent, cette diarrhée devient chronique et caractéristique d'une maldigestion-malabsorption mais la forme aiguë est aussi décrite. Quelques cas rapportent la possibilité d'une diarrhée de type diarrhée du gros intestin avec présence d'une grande quantité de mucus ou de sang non digéré. Vu la localisation des *Giardia*, en partie proximale de l'intestin grêle, la pathogénie est difficile à expliquer dans ce cas de figure.

Les signes généraux sont limités dans la forme chronique, si ce n'est un amaigrissement évoluant vers la cachexie, malgré un appétit conservé voire augmenté et aucune altération du comportement. Lors d'une forme aiguë, en revanche, l'état général de l'animal peut rapidement se détériorer, la diarrhée étant rebelle au traitement et des vomissements pouvant aussi se produire.

5. Lésions (12, 13, 22, 35).

Les lésions, lorsqu'elles existent, touchent le duodénum et le jéjunum et sont celles d'une entérite catarrhale banale. Lors des cas sévères, l'érosion de l'épithélium duodénal peut être visible à l'endoscopie. L'histologie permet de mettre en évidence une atrophie des villosités, une infiltration de la sous-muqueuse par des granulocytes et une vacuolisation des cellules épithéliales. Chez l'homme et chez la souris, une augmentation de la taille des cryptes est rapportée. On peut observer les trophozoïtes dans la lamina propria.

6. Diagnostic.

La giardiose devra être suspectée chez tout chien vivant préférentiellement en collectivité, atteint d'une diarrhée chronique avec des fèces grasses et qui ne répond pas aux traitements usuels. L'animal est maigre tout en ayant un appétit conservé. Cependant le diagnostic différentiel comprend de nombreuses infections envisagées par la suite et la clinique ne saurait suffire à faire le tri entre les différentes hypothèses. Des examens complémentaires seront donc nécessaires.

6.1. Diagnostic différentiel (35).

Lors d'une forme chronique, le diagnostic différentiel doit se faire avec l'insuffisance pancréatique exocrine dont la clinique est très proche, une autre cause parasitaire comme une helminthose digestive ou une coccidiose, une cause néoplasique ou encore une origine infectieuse avec prolifération bactérienne provoquant une maldigestion-malabsorption.

La forme aiguë sera à différencier de causes infectieuses comme une coronavirose ou une parvovirose, d'une intoxication, d'un brusque changement alimentaire ou bien d'effets secondaires d'un traitement médicamenteux.

6.2. Diagnostic expérimental.

Ce diagnostic repose sur différentes techniques d'examens des fèces.

6.2.1. L'examen direct des fèces.

Cette technique, la plus rapide, consiste à mettre en évidence les trophozoïtes mobiles sur un étalement de selles fraîches. Pour cela, il convient de bien mélanger une quantité de fèces diarrhéiques (les trophozoïtes sont en effet peu retrouvés dans les fèces semi-formés ou fermes) au même volume de solution saline, d'étaler sur une lame et d'observer au grossissement X400. La reconnaissance du parasite est aisée, les seuls organismes ayant la même taille sont les Trichomonas mais on peut les distinguer par le fait qu'ils n'ont pas de flagelle et ne possèdent qu'un seul noyau. Cette technique est cependant peu fiable du fait d'une excrétion intermittente et d'une répartition non homogène des trophozoïtes dans les fèces. Une étude a montré que 3 examens directs réalisés 3 jours consécutifs sur des chiens infestés par *Giardia* ne révélaient que 39% de positifs alors que la méthode par concentration en solution de sulfate de zinc obtenait 93% de positifs (57).

6.2.2. La coproscopie microscopique.

C'est la méthode de référence qui consiste en la recherche microscopique des kystes de *Giardia* après enrichissement en solution de forte densité. La technique consiste à mélanger 1 ou 5 grammes de fèces à environ 10 ml de solution et de laisser reposer pendant 10 minutes ou de centrifuger 3 à 5 minutes à 1500 tours-minute (54). Les kystes (et les autres éléments parasitaires comme les œufs d'Helminthes) vont alors monter en surface par différence de densité et se coller sur une lamelle posée au-dessus du pot à coproscopie. La lamelle est ensuite prélevée, placée sur une lame porte-objet et observée au grossissement X400. Les liquides utilisés sont le plus souvent une solution de sulfate de zinc à 33%, de densité 1,18, une solution de sulfate de magnésium de densité 1,28 ou une solution de chlorure de sodium à saturation dont la densité est 1,15.

L'observation peut se faire directement sans trop de luminosité et en faisant varier la mise au point, les kystes apparaîtront comme de petits ovales transparents aux reflets verdâtres et entourés d'une paroi (figure 4). Il est aussi possible d'utiliser un colorant comme

le lugol dont une goutte suffit pour teinter les kystes en orange, facilitant ainsi leur observation.

Cette méthode est bien plus sensible que la précédente mais elle doit cependant être répétée afin d'obtenir une sensibilité proche de 100%. En effet, seuls 70% environ des chiens atteints de giardiose se sont révélés positifs à la coproscopie dans une étude qui a aussi montré que 94% de ces mêmes chiens ont présenté une positivité lorsque 3 coproscopies ont été réalisées 3 jours de suite (57).

Notons que pour une bonne réalisation de cette technique, il convient de travailler avec des selles fraîches ou conservées au réfrigérateur à 4°C. La lecture microscopique doit s'effectuer rapidement après la préparation car, dans le cas contraire, les kystes perdent leur forme et sont plus difficilement identifiables.



Figure 4 : Photographie de kystes de *Giardia* (X400).

Cliché M-C. Cadiergues, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

6.2.3. L'utilisation de la méthode ELISA (4, 5, 43).

Des kits ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) pour la détection d'antigènes de *Giardia* sont commercialisés en médecine humaine. Le kit ProSpecT[®] de la firme Alexon-Trend utilise des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène GSA 65 spécifique de *Giardia*. Cette glycoprotéine de haut poids moléculaire est produite en quantité importante lors de la multiplication du parasite dans le tube digestif de l'hôte. Cet antigène est

stable et l'examen peut être réalisé sur selles fraîches, congelées ou conservées dans du formol à 10%. Dans l'espèce humaine, la sensibilité et la spécificité de ce test sont toutes deux proches de 100%. Cependant, une étude (5) réalisée chez le chien montre une sensibilité plus faible de la méthode ELISA par rapport à l'enrichissement avec une solution de sulfate de zinc. Selon les auteurs, l'explication pourrait venir du fait que les *Giardia* produiraient moins d'antigènes GSA 65 chez le chien que chez l'homme ou encore que les conditions de milieu dans l'intestin du chien pourraient détruire en partie ces antigènes. La spécificité relative ne serait que de 77% dans l'espèce canine. Il pourrait s'agir de réactions croisées avec d'autres parasites intestinaux du chien. Ainsi la sensibilité et la spécificité de ce test seraient inférieures à celles de la méthode de référence.

6.2.4. L'aspiration duodénale.

Cette technique, nécessitant la réalisation d'une endoscopie, ne peut être envisagée pour le simple diagnostic d'une giardiose. Lors de l'endoscopie, il suffit d'injecter dans le tube digestif environ 10 ml de solution saline et de les aspirer aussitôt. Il est aussi possible de récolter simplement le contenu du liquide intestinal. Ceci fait, le prélèvement doit être centrifugé à 150 G pendant 10 minutes puis observé au microscope. L'opération de récupération du liquide digestif peut aussi se faire à l'occasion d'une laparotomie exploratrice. Notons qu'une biopsie de la paroi du duodénum peut aussi permettre la mise en évidence de trophozoïtes infiltrés dans la muqueuse.

La méthode de l'aspiration duodénale semble plus sensible que la flottation en sulfate de zinc lorsqu'un seul prélèvement est réalisé sur des chiens présentant des symptômes (42). En revanche, une autre étude montre les deux méthodes équivalentes chez des porteurs asymptomatiques (56).

6.2.5. L'utilisation de l'ENTERO TEST.

Il s'agit d'une technique employée en médecine humaine. Elle consiste à prélever un peu de liquide duodéal grâce à une mèche de nylon enrobée dans une capsule de gélatine. L'extrémité de la mèche est fixée à la mâchoire du patient et la capsule déglutie avec un peu d'eau. Chez l'homme, le fil atteint le duodénum en à peu près 4 heures. Il est alors remonté et le liquide provenant de la portion duodénale repérée à l'aide d'un papier pH est examiné pour recherche des trophozoïtes. Vingt et un tests réalisés sur 18 chiens porteurs de *Giardia* ont

permis d'obtenir les résultats suivants : les mèches ayant été remontées 5 heures après ingestion, 15 d'entre elles n'ont pas atteint le duodénum, 5 l'ont atteint mais la recherche des trophozoïtes s'est avérée négative, enfin la dernière s'est déchirée et a été récupérée dans les fèces de l'animal. Les auteurs de cette étude ont déconseillé l'utilisation de cette technique chez le chien à la vue de sa complexité, de son inefficacité et des risques qu'elle entraîne (5).

6.2.6. D'autres méthodes diagnostiques (12).

Un test par immunofluorescence directe utilisant des anticorps monoclonaux est commercialisé pour la détection de *Giardia* dans les fèces de la plupart des espèces. Chez les bovins et les moutons, il a été montré que cette technique était plus sensible que la flottation en sulfate de zinc, en particulier lorsque la concentration de kystes est faible. Aucune étude n'a été menée quant à son efficacité chez le chien. Cependant, la nécessité d'un microscope à fluorescence limite son utilisation aux laboratoires de diagnostic.

Chez l'homme, un test ELISA permettant la mise en évidence d'anticorps sériques anti-*Giardia* peut être utilisé. Son efficacité ne fait pas l'unanimité. Il n'existe aucune donnée chez le chien.

7. Méthodes de lutte.

7.1. Traitement.

Aucun produit n'a actuellement une autorisation de mise sur le marché pour cette indication chez les espèces canine et féline. En revanche, un certain nombre de molécules sont proposées pour le traitement de la giardiose chez le chien. Les 4 protocoles que nous avons testés ne seront pas détaillés ici mais par la suite.

7.1.1. Utilisation des nitroimidazoles.

Le traitement de référence de la giardiose repose sur l'administration orale répétée de métronidazole. Nous avons étudié l'efficacité de ce traitement.

D'autres molécules de la famille des nitroimidazoles peuvent être utilisées chez le chien à l'exception de la femelle gravide :

- Le tinidazole administré oralement à la posologie de 44 mg par kg, une fois par jour pendant 3 jours a une efficacité de 68% contre les *Giardia* (58).
- L'ipronidazole a été utilisé dans l'eau de boisson à raison de 126 mg/l pendant 7 jours puis 378 mg/l pendant les 7 jours suivants pour traiter avec succès 2 Greyhounds (1).
- La furazolidone n'a pas été évalué dans l'espèce canine mais chez le chat, il est efficace à la posologie de 4 mg/kg, 2 fois par jour pendant 5 à 10 jours. Cependant des diarrhées et des vomissements secondaires ont pu être observés (31).

7.1.2. Utilisation de la quinacrine (58).

La quinacrine utilisée à 6.6 mg/kg, 2 fois par jour pendant 5 jours a montré une efficacité de 100% sur 20 chiens excréant des kystes de *Giardia*. Cependant, cet aspect positif est très fortement contrebalancé par des effets secondaires important comme des vomissements, de la diarrhée, des douleurs abdominales, une hyperthermie et l'apparition d'érythème. Chez l'homme, on note aussi l'éventualité de maux de tête et de vertiges.

7.1.3. Utilisation des benzimidazoles.

Ces molécules sont utilisées habituellement pour leurs propriétés anthelminthiques.

- L'albendazole administré à 25 mg/kg par voie orale, 2 fois par jour pendant 2 jours a permis l'arrêt de l'excrétion de kystes de *Giardia* chez 18 chiens sur 20 traités (8). A cette posologie, aucun effet secondaire n'a été rapporté. Notons qu'une pancytopenie marquée a été rencontrée chez un chien qui avait reçu 25 mg/kg d'albendazole, 2 fois par jour pendant 5 jours puis 50 mg/kg, 2 fois par jour pendant 5 jours (48). Cette molécule paraît sûre lorsqu'elle n'est pas surdosée, cependant il n'existe pas de spécialité vétérinaire à base d'albendazole ayant une autorisation de mise sur le marché pour l'espèce canine.

- L'administration orale réitérée de fenbendazole (55) ou d'oxfendazole (52, 53) est aussi préconisée pour le traitement de la giardiose. Deux protocoles concernant ces molécules ont été testés lors de notre étude.
- La forme commerciale associant le febantel (un benzimidazole) à deux autres composés, le praziquantel et le pyrantel, est annoncée comme étant efficace (6), nous l'avons aussi essayée.

7.2. Prophylaxie.

La prophylaxie de la giardiose passe d'abord par des mesures d'hygiène. La désinfection des locaux, notamment dans les chenils, à l'aide de désinfectants classiques comme les ammoniums quaternaires est une mesure élémentaire. L'eau de Javel semble moins efficace pour éliminer les kystes. Le nettoyage des cages ou des aires de parcours avec bien évidemment un ramassage régulier des fèces est indispensable. Lorsque les animaux eux-mêmes sont souillés par des matières fécales, en particulier lorsqu'il s'agit de chiots, le nettoyage du pelage s'avère être une précaution nécessaire. Enfin, tout le matériel susceptible de servir de support aux kystes, comme les gamelles, les abreuvoirs et les jouets, devra lui aussi être nettoyé.

Un dépistage coproscopique régulier permettra de repérer l'existence de porteurs sains au sein d'une collectivité, ce qui nécessite la mise en place de mesures de prophylaxie.

Il existe depuis quelques années un vaccin contenant des protéines de trophozoïtes de culture (*GiardiaVax*□, Fort Dodge), non commercialisé en France. Lors d'une étude récente (41), ce vaccin a été injecté par voie sous-cutanée à 40 chiots qui ont été infestés par l'ingestion de kystes de *Giardia* pour la moitié 6 mois après vaccination et pour l'autre moitié 1 an après vaccination. Les résultats sont très en faveur du vaccin puisque dans le premier lot, un seul chien a présenté de la diarrhée (contre 100% des témoins) et l'excrétion de kystes n'a concerné que 60% des chiots avec une durée moyenne d'excrétion de 6 jours alors que tous les témoins ont excrété des kystes pendant une durée moyenne de 35 jours. En ce qui concerne le deuxième lot, aucun épisode de diarrhée n'est rapporté et seuls 45% des chiots ont excrété des kystes, pendant en moyenne 4 jours (100% d'excréteurs pendant 35 jours en moyenne chez les témoins). Ce vaccin semble donc efficace pour lutter contre la giardiose et est à recommander particulièrement en chenil et dans les zones où cette maladie est

endémique. Il pourrait jouer un rôle majeur dans la réduction de la transmission des *Giardia* de l'animal à l'homme. Notons enfin que l'utilisation de ce vaccin à titre de traitement par immunostimulation paraît envisageable lorsque l'on a affaire à une souche résistante aux traitements habituels. Cependant, lors de giardiose chronique chez un individu immunodéprimé, l'incapacité à développer une bonne réponse immunitaire rend l'usage de ce vaccin inutile.

8. Risque zoonosique.

La giardiose humaine est l'une des parasitoses intestinales les plus fréquentes dans certains pays, en particulier dans le Tiers-Monde. Elle constitue un problème de santé publique majeur se traduisant par des symptômes très variés. Souvent asymptomatique, elle prend cependant très fréquemment une forme chronique avec une diarrhée rebelle et des signes moins constants comme des céphalées, une stéatorrhée, des troubles hépato-biliaires, des troubles neurovégétatifs ou de la fièvre. Les individus les plus touchés sont les enfants avec des signes intestinaux plus marqués, souvent des signes nerveux (troubles du sommeil, baisse de l'attention) et des troubles de la croissance.

La contamination de l'homme par une source animale a toujours été et reste encore controversée (9, 26). Elle est d'abord mise en avant par des critères morphologiques comparables et des enquêtes épidémiologiques tendant à prouver une origine animale à certaines épidémies humaines. Citons l'exemple de contaminations survenues au Canada en 1982 (24). Les individus atteints s'étaient contaminés en buvant de l'eau de rivière dans les montagnes rocheuses. Des fèces de castors contenant des kystes de *Giardia* ont été retrouvées dans cette rivière. Ils ont été donnés à des gerbilles qui ont alors présenté une excrétion intermittente de ces kystes, comme lorsqu'elles ont ingéré des kystes provenant d'un malade humain, alors que la cinétique d'excrétion était totalement différente pour une souche de *G. muris*. Les *Giardia* retrouvées chez l'homme et le castor étaient, de plus, capable de se multiplier sur le même milieu de culture. Il existe aussi des anecdotes comme cet étudiant de l'université McGill au Québec contaminé en manipulant des castors ou ce vétérinaire du Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine qui a déclaré une giardiose peu de temps après en avoir fait le diagnostic sur un chien présentant de la diarrhée (24).

Cette thèse est corroborée par le fait qu'expérimentalement, une souche prélevée dans l'espèce humaine peut infecter des cochons d'Inde, des gerbilles, des moutons, des castors, des rats-laveurs ou encore des chiens (3).

Des techniques plus avancées comme l'analyse des antigènes (15), l'analyse des enzymes de restriction, les caractéristiques de culture permettent de différencier de nombreuses souches de *Giardia*, au sein même d'une espèce hôte. L'étude de l'ADN de certaines de ces souches révèle à la fois des similarités importantes mais aussi de légères différences entre des isolats prélevés sur l'homme et 4 autres espèces animales (castor, mouton, chien et rat-musqué). Pour certains auteurs, ces variations suffisent pour dire que l'on a affaire à des espèces différentes (2) et qu'il n'y a pas de contaminations croisées entre les hôtes.

Une autre étude génétique, plus récente (49), propose un arbre phylogénétique de différentes « lignées » de *Giardia* et aboutit à la conclusion que certains génotypes se retrouvent chez de nombreux hôtes différents, incluant l'homme, mais qu'il existe aussi des génotypes de *Giardia* adaptés à une espèce d'hôte, ceux-ci formant sans doute des espèces distinctes au sein du genre *Giardia*.

En conclusion, nous pensons qu'il est à l'heure actuelle, indispensable de considérer la giardiose comme une zoonose. Ainsi, en plus des mesures prophylactiques précédemment citées, on conseillera quelques mesures de prévention de la transmission à l'homme :

- Bien se laver les mains après tout contact avec un chien suspect ou atteint de giardiose. Remarquons que ce conseil ne vaut pas que pour la giardiose canine et que l'on pourrait le remplacer par : bien se laver les mains après tout contact avec un animal.
- Ne pas boire de l'eau de source ou de rivière, notamment en montagne.
- Bien laver les aliments (légumes, fruits...) en particulier s'ils sont susceptibles d'avoir été souillés par des excréments d'animaux.

DEUXIEME PARTIE :
PHARMACOLOGIE DES MOLECULES TESTEES.

1.3. Mécanisme d'action et résistances (23, 30, 47, 50).

Le métronidazole n'est pas directement efficace contre sa cible, il doit d'abord être activé. Après être entré dans la cellule par diffusion passive, la forme inactive est réduite par transfert d'électrons. Le point de départ est une enzyme, la pyruvate ferredoxine oxydoréductase (PFOR), qui catalyse la décarboxylation du pyruvate en acétyl CoA chez les organismes anaérobies en prenant une forme réduite. Pour être de nouveau utilisable, l'enzyme PFOR doit retrouver sa forme oxydée. Elle échange pour cela un électron avec la ferredoxine oxydée qui devient alors réduite. C'est cette ferredoxine réduite qui en présence de métronidazole va permettre la réduction du médicament en lui transférant un électron. Quatre réductions successives du métronidazole sont possibles, transformant alors le groupement NO₂ en hydroxylamine NHOH. Chez les organismes aérobies, l'oxygène est un accepteur d'électrons qui entre en compétition avec le métronidazole, diminuant ainsi de beaucoup son efficacité à concentration égale.

L'action du métronidazole sur la cellule cible se fait grâce aux intermédiaires radicalaires obtenus lors des réductions successives. Ceux-ci ont une courte durée de vie et vont provoquer des dégâts dans la cellule en agissant sans doute sur l'ADN, les protéines et les membranes. Notons que la présence d'oxygène permet une ré-oxydation des radicaux en métronidazole inactif, ce qui est une deuxième explication à la moindre efficacité de ce médicament contre les organismes aérobies.

La résistance de certains organismes au métronidazole pose un sérieux problème, notamment en médecine humaine. Cette résistance semble due à une moindre activité des protéines impliquées dans le processus d'activation de la molécule. En ce qui concerne les *Giardia*, une étude a montré que 17 isolats résistants présentaient un faible niveau de PFOR, cette lacune en enzyme serait aussi la cause de résistance de certaines souches de *Clostridium* et de *Bacillus fragilis*. Chez les *Trichomonas*, la ferredoxine serait aussi impliquée. Toutefois, la résistance des souches de *Giardia* au métronidazole semble très variable, il a ainsi été montré in vitro, des variations de sensibilité allant de 1 à 16000 au sein d'un même groupe d'isolats (23).

1.4. Indications.

Le métronidazole est utilisé en médecine canine pour lutter contre les infections digestives impliquant des germes anaérobies. La spécialité commerciale StomorgylND a une autorisation de mise sur le marché concernant les affections de la cavité buccale (stomatite, gingivite, parodontite...).

1.5. Contre-indications et toxicité (19, 28, 40).

La toxicité du métronidazole chez le chien a été mise en évidence lorsque les doses employées sont élevées. Cinq cas d'intoxication sont ainsi rapportés entre 1984 et 1987 au College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences de l'Université du Colorado (19). Les 5 animaux concernés ont reçu des doses élevées (de 67 à 129 mg/kg/j pendant 3 à 12 jours) de métronidazole en vue du traitement d'une giardiose ou d'une infection par des germes anaérobies. Les premiers signes, apparaissant au moins une semaine après le début du traitement, ont été des vomissements et de l'anorexie. Ceux-ci ont ensuite évolué vers des signes nerveux caractérisés par une ataxie généralisée et un nystagmus vertical évoquant une atteinte du noyau vestibulaire et/ou du cortex. Deux d'entre eux ont dû être euthanasiés faute d'amélioration de leur état, les 3 autres ont progressivement récupéré, les symptômes commençant à régresser une à deux semaines après l'arrêt du traitement.

En revanche, aucun cas d'intoxication n'est rapporté lorsque le métronidazole est utilisé à la posologie plus récemment recommandée pour le traitement de la giardiose canine (22 mg/kg, 2 fois par jour pendant 5 jours) (58) ou à des doses inférieures.

Expérimentalement, un effet carcinogène a été mis en évidence chez des rongeurs lors d'utilisation prolongée et à fortes doses. Un effet mutagène est montré chez les bactéries. La tératogénicité du métronidazole n'est pas prouvée (28).

Chez le chien, la seule contre indication à l'utilisation du métronidazole est la présence d'une insuffisance hépatique sévère car son métabolisme est alors ralenti et le risque d'atteindre la dose toxique est plus grand.

2. Les benzimidazoles : fébantel, fenbendazole et oxfendazole.

2.1. Structures et relations.

2.1.1. Structure générale des benzimidazoles.

Cette famille de molécules doit son nom à la présence constante dans sa structure d'un noyau aromatique inactif, le noyau benzimidazole (figure 6). Sur celui-ci se greffent des radicaux (R1 et R2) variables selon les molécules.

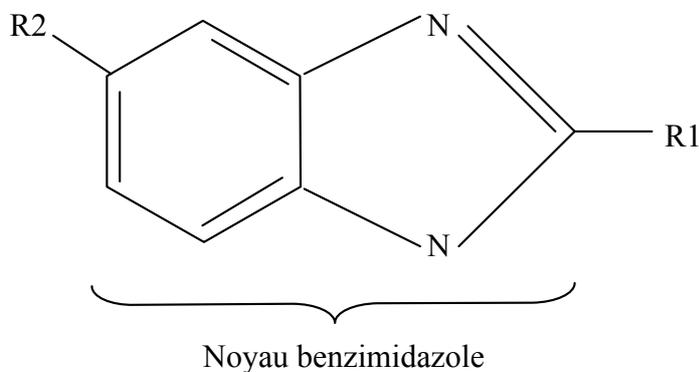


Figure 6 : Structure générale des benzimidazoles (34).

2.1.2. Structures du fébantel, du fenbendazole et de l'oxfendazole et relations entre ces trois molécules (17).

Ces 3 composés présentent entre eux une filiation structurale (figure 7). Le fenbendazole possède en R1, un groupement carbamate (NHCOOCH₃) et en R2 un groupement phénylthio. Il est donc en fait le 5 (phénylthio)-2-benzimidazole carbamate de méthyle.

L'oxfendazole n'est autre que fenbendazole-sulfoxyde, la seule différence structurale entre les deux étant la présence d'un oxygène provenant de la S-oxydation du fenbendazole. Sa dénomination est le 5(phénylsulfoxy)-2-benzimidazole carbamate de méthyle.

Le febantel n'est pas à proprement parler un benzimidazole mais un précurseur de nombreux autres composés, dont le fenbendazole, par des réactions de cyclisation, d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse. Son nom est le 2-(N'-N''-bis-méthoxycarbonylguanidino), 3-méthoxyacétamido, 5-phénylthiobenzène.

Les diverses réactions qui permettent de passer d'un composé à l'autre se réalisent lors du métabolisme de ces molécules (cf. 2.2.). Certaines sont réversibles ou peuvent se faire dans les deux sens, d'autres ne peuvent s'effectuer que dans un sens.

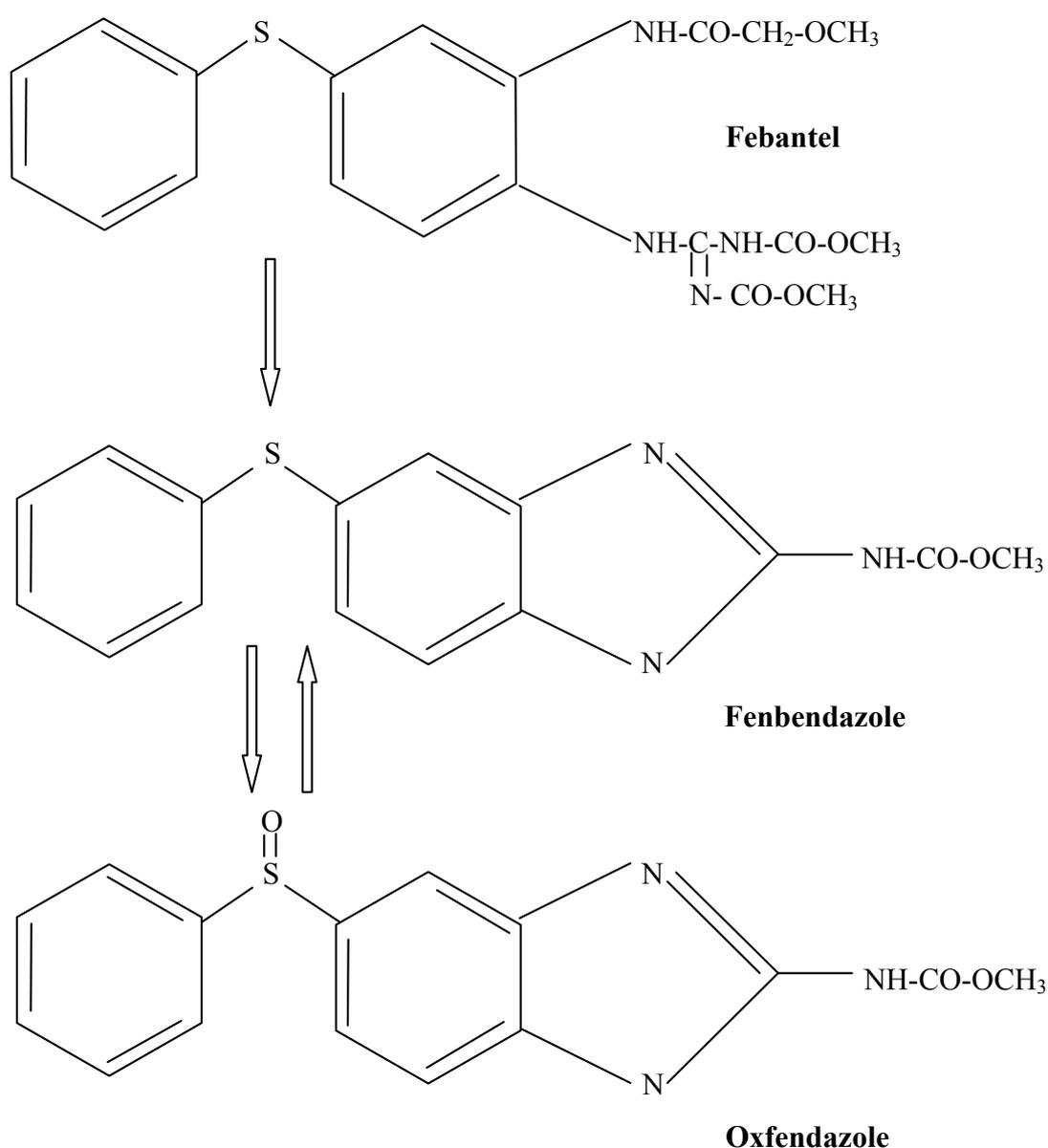


Figure 7 : Structures et relations entre le febantel, le fenbendazole et l'oxfendazole.

2.2.Pharmacocinétique.

Administrées par voie orale, ces 3 molécules présentent une absorption différente du fait de leur diversité de structure. Ainsi, le fenbendazole n'est absorbé qu'en faible quantité (50% de la quantité administrée est en effet retrouvée tel quel dans les fèces (51)). Ceci tient d'une part à sa faible hydrosolubilité et d'autre part au rapide transit intestinal du chien qui ne laisse que peu de temps à ce composé pour passer en solution sous forme ionisée et donc pour être absorbable par la muqueuse digestive. Ainsi, il a été montré que suite à l'administration de fenbendazole à 20 mg/kg ou à 100 mg/kg per os à des chiens, la concentration sanguine du composé était sensiblement la même (38). En revanche, son administration répétée (20 mg/kg/j pendant 5 jours consécutifs) permet d'atteindre des concentrations sanguines un peu plus élevées mais surtout de les maintenir à ce niveau pendant plus longtemps. Ajoutons que la prise de nourriture concomitante permet quant à elle d'augmenter considérablement la biodisponibilité de ce médicament (jusqu'à 7 fois) (37). Cela pourrait s'expliquer par le fait que la prise de nourriture ralentit le transit et permet un temps de contact plus long, ainsi que par une augmentation du flux sanguin splanchnique influant aussi sur l'absorption.

En ce qui concerne l'oxfendazole, l'absorption est plus rapide et plus complète. Le febantel, encore plus hydrosoluble (c'est justement pour augmenter la solubilité dans l'eau de cette classe de molécules que des prodrogues comme le febantel ont été développées), est quant à lui très majoritairement absorbé, ce qui est indispensable car contrairement aux deux autres, il est inactif en l'état (27).

Une fois absorbés, les benzimidazoles sont transportés par le sang vers le foie où ils vont subir certaines biotransformations en deux phases. La phase I consiste en une série d'oxydations, de réductions, d'hydroxylations et d'hydrolyses catalysées par des enzymes cytosoliques ou microsomales des hépatocytes, notamment les monooxygénases à flavine (catalysant en particulier les N- et S-oxydations) et les cytochromes P450 (25). La phase II permet la conjugaison des métabolites obtenus suites aux réactions de phase I avec d'autres molécules, comme des acides aminés, en vue de leur élimination de l'organisme.

Le fenbendazole est ainsi transformé en différents métabolites :

- Le para-hydroxyfenbendazole (FBZ-OH) résultant d'une hydroxylation catalysée par un cytochrome P450.
- Le fenbendazole-sulfoxyde (FBZ-SO) ou oxfendazole provenant de la monooxydation de l'atome de soufre. Cette réaction, catalysée par une monooxygénase à flavine (MOF), est réversible.
- Le fenbendazole-sulfone (FBZ-SO₂) se formant après l'oxydation ultérieure de l'atome de soufre de l'oxfendazole, catalysée par un cytochrome P450.
- La formation d'un dérivé aminé par hydrolyse de la fonction carbamate du fenbendazole a pu être montrée. Cependant, il semble que le fenbendazole-amine (FBZ-NH₂) ne soit pas formé dans le foie (46).

Le métabolisme de l'oxfendazole est le même que celui du fenbendazole puisque la réaction de transformation de l'un en l'autre est réversible. Le febantel subit quant à lui en premier lieu une succession de réactions d'hydrolyse des substituants aliphatiques aboutissant à une cyclisation et à la formation de fenbendazole. Ces réactions sont réalisées par des enzymes hépatiques mais aussi plasmatiques voire intestinales (25). Ensuite, le métabolisme est le même que celui des deux autres composés (figure 8).

Peu de réactions de phase II ont lieu. Les conjugaisons concernent essentiellement une petite partie du para-hydroxyfenbendazole.

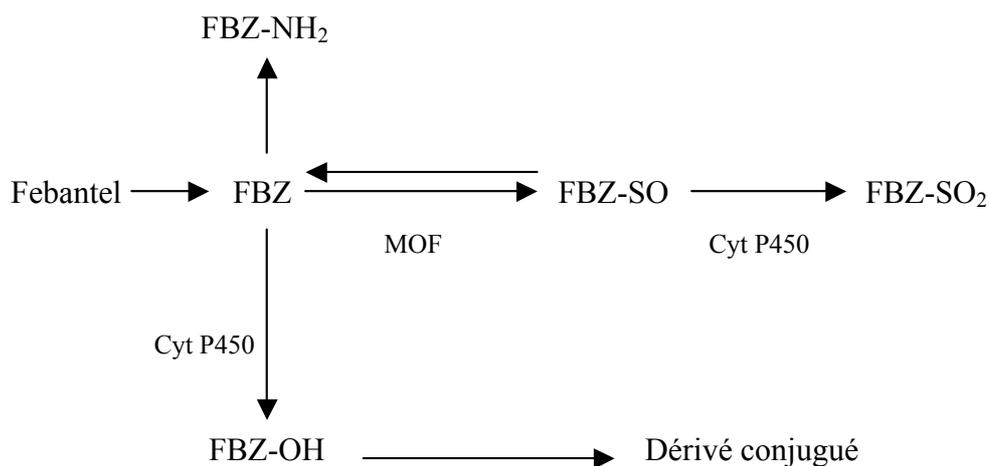


Figure 8 : Métabolisme du febantel, du fenbendazole et de l'oxfendazole.

(cyt P450 : cytochromes P450 ; MOF : monooxygénases à flavine ; FBZ : fenbendazole).

Comme de nombreux médicaments contenant un noyau imidazole (par exemple le kétoconazole et le miconazole), les benzimidazoles sont susceptibles de provoquer une induction des enzymes des biotransformations hépatiques. C'est le cas de l'oxfendazole qui administré pendant 10 jours à la posologie de 4,5 ou 22,5 mg/kg/j à des lapins, entraîne une augmentation significative du P450 hépatique total. En revanche, le pouvoir inducteur du fenbendazole en lui-même apparaît comme étant très modéré (25).

Après passage dans le foie, les benzimidazoles et leurs métabolites sont éliminés de l'organisme. La voie d'élimination majoritaire est l'excrétion fécale. L'administration de fenbendazole marqué au carbone 14 à des chiens à raison de 10 mg/kg a permis de révéler que 90% se retrouvait dans les fèces (dont 50% non absorbés et donc directement excrétés sous forme de molécule mère et 40% de métabolites excrétés suite au cycle entéro-hépatique). Les 10% restants sont éliminés par voie urinaire, principalement sous forme de para-hydroxyfenbendazole et moins de 1% sous forme de fenbendazole (51). On retrouve aussi des métabolites dans le lait. Les voies d'élimination sont les mêmes pour le febantel et l'oxfendazole.

2.3.Mode d'action et résistances (33).

Le mécanisme d'action principal des benzimidazoles est d'interférer avec les microtubules du cytosquelette. Ceux-ci sont des polymères de tubuline, une protéine dimérique formée de l'association d'une sous-unité α et d'une sous-unité β . Les microtubules sont en équilibre dynamique entre la polymérisation de la tubuline à l'une des extrémités et sa dépolymérisation à l'autre extrémité. Les benzimidazoles brisent cet équilibre en venant coiffer les microtubules au lieu de polymérisation alors que la dissociation continue à l'autre bout. La fixation de ces xénobiotiques se fait plus précisément sur la β -tubuline au niveau du site de fixation de la colchicine. Le cytosquelette est alors désorganisé, ce qui a des conséquences importantes sur la structure et le fonctionnement cellulaires.

Ce mode d'action, connu chez les helminthes, apparaît aussi comme étant celui qui se produit chez les *Giardia*. Lorsque des trophozoïtes sont mis en présence de mébendazole in vitro, on observe un détachement de ces organismes des parois du milieu de culture ainsi que des modifications morphologiques profondes, les cellules perdant leur forme ovale pour

s'écraser sur elles-mêmes (21). L'attachement des trophozoïtes de *Giardia* à l'épithélium intestinal grâce, notamment, au disque ventral dont les microtubules sont les principaux constituants, est essentiel à l'infestation d'un hôte par le parasite. En l'empêchant, les benzimidazoles permettent à l'hôte de se débarrasser du parasite.

D'autres mécanismes d'action des benzimidazoles ont été mis en cause. En effet, ces molécules provoquent aussi une inhibition de l'absorption du glucose, une inhibition de l'activité de la fumarate réductase et un arrêt de la sécrétion synaptique d'acétylcholine estérase chez différents helminthes (39). Cependant, il semblerait que toutes ces conséquences soient secondaires à l'effet sur les microtubules conduisant à des déséquilibres biochimiques (32). Certains auteurs parlent aussi d'une action des benzimidazoles sur le métabolisme énergétique en rendant la membrane mitochondriale perméable aux protons qui éviteraient ainsi le passage par les ATPase, ce qui provoquerait une diminution du niveau d'ATP (adénosine triphosphate) cellulaire chez *Hymenolepis diminuta* (36).

Des résistances aux benzimidazoles sont apparues chez certains helminthes. Elles sont dues à une modification structurale du site de fixation sur la β -tubuline (44). Cette modification se retrouve au niveau génétique et les mutants porteurs du gène de résistance sont sélectionnés par l'usage des benzimidazoles. Chez d'autres eucaryotes comme le champignon *Neurospora crassa* et la levure *Saccharomyces cerevisiae*, des résistances à cette famille de médicaments, résultant d'une modification de la structure de la β -tubuline, ont aussi été trouvées. En ce qui concerne les *Giardia*, des variations de sensibilité (qui vont de 1 à 9) ont été mises en évidence sur différents isolats traités in vitro par l'albendazole, en particulier certaines souches prélevées chez des Aborigènes d'Australie se sont révélées bien moins sensibles que d'autres prélevées sur des Caucasiens (23).

2.4.Indications.

Aucune de ces trois molécules n'a d'autorisation de mise sur le marché (A.M.M.) pour l'indication *Giardia duodenalis*. Chez le chien, le fenbendazole dispose d'une A.M.M. pour le traitement des helminthoses digestives à *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis* et *Taenia spp*. Il est utilisé pour cela à la posologie de 50 mg/kg par voie orale, 3 jours consécutifs.

L'oxfendazole possède les mêmes indications avec en plus une efficacité contre *Dipylidium caninum*. Il doit être administré per os à raison de 11,3 mg/kg/j pendant 3 jours.

Le febantel n'est pas utilisé seul chez le chien mais est associé au praziquantel et à l'émbonate de pyrantel dans la spécialité Drontal PND. Ce médicament possède, en plus du spectre de l'oxfendazole, une autorisation de mise sur le marché pour le traitement des échinococcoses à *Echinococcus granulosus* et *E. multilocularis*. Il est administré par voie orale en une fois, à la dose de 15 mg/kg de febantel, 5 mg/kg de praziquantel et 5 mg/kg d'émbonate de pyrantel.

2.5. Contre-indications et toxicité.

La toxicité aiguë de ces molécules est très faible chez les mammifères. Ainsi, chez le chien, l'administration unique de 500 mg/kg de fenbendazole est très bien tolérée (20) et la DL₅₀ de l'oxfendazole dans cette même espèce est supérieure à 1,6 g/kg (51). Cette faible toxicité s'expliquerait par le fait que l'ultrastructure des microtubules des cellules de mammifères est différente de celle rencontrée chez leurs parasites en faisant de moins bons substrats pour les benzimidazoles (39).

La toxicité chronique semble faible, elle aussi. En effet, l'administration de 125 mg/kg/j pendant 90 jours ou de 250 mg/kg/j pendant 30 jours de fenbendazole à des chiens n'a entraîné aucune modification clinique (20). Cependant, il a été montré que chez le rat, l'administration de doses élevées de fenbendazole pendant 14 jours avait des répercussions notables malgré l'absence de signe clinique évident (45). Ainsi, à partir de 50 mg/kg/j on note une diminution du gain moyen quotidien. Puis avec des doses supérieures à 500 mg/kg/j, il apparaît une toxicité hépatique se traduisant par une augmentation des ALAT plasmatiques et une hépatomégalie ainsi que la présence d'infiltrations de sang dans les tissus hépatiques pour une dose de 3 g/kg/j. Une atteinte des reins est aussi visible, provoquant une augmentation de la créatininémie, une dilatation de la capsule glomérulaire et une hémorragie des tubules rénaux. Il convient donc, par précaution, de ne pas administrer de doses élevées et répétées de benzimidazoles.

L'effet tératogène et embryotoxique semble variable selon les molécules. Le febantel est tératogène chez le rat pour une dose légèrement supérieure à 50 mg/kg (17). L'oxfendazole est embryotoxique pour cette même espèce lorsqu'il est administré à plus de 10,5 mg/kg entre le huitième et le quinzième jour de gestation. La mortalité embryonnaire atteint même 100% pour une dose de 21 mg/kg (18). Le fenbendazole n'a quant à lui aucun effet tératogène chez le rat même lors d'une administration de 2,5 g/kg (20). Cette innocuité est étonnante puisque le fenbendazole a, entre autres, l'oxfendazole pour métabolite. La faible absorption de cette molécule au niveau digestif pourrait, selon certains auteurs, l'expliquer en partie (18). Drontal PND et DolthèneND sont donc contre-indiqués chez la chienne en gestation avant la quatrième semaine et le 35^e jour respectivement.

3. Les autres molécules.

Trois autres xénobiotiques interviennent dans cet essai : Le praziquantel et le pyrantel sous forme d'émbonate associés au febantel dans la spécialité pharmaceutique Drontal PND et la spiramycine accompagne le métronidazole dans la formulation du StomorgylND. Aucune étude n'a testé l'efficacité propre du praziquantel ou du pyrantel sur *Giardia duodenalis*. Leurs mécanismes d'action font penser qu'il est peu probable qu'ils interviennent dans la lutte contre ce parasite, cependant la question reste posée. En revanche, la spiramycine a sans doute une activité sur *Giardia*.

3.1. Le praziquantel (28).

Il s'agit d'un anthelminthique actif contre les cestodes et les trématodes. A faible concentration, il provoque une contraction et une paralysie spastique du ver qui se détache alors des tissus de l'hôte pour être éliminé. A concentration plus élevée, il provoque des lésions de la cuticule et des modifications biochimiques secondaires provoquant la mort du parasite. L'absorption digestive est rapide, tout comme sa métabolisation par le foie. Il est ensuite éliminé par les urines et dans les fèces via la bile. Très peu toxique, ni mutagène, ni cancérigène, il est à noter cependant que de fortes doses administrées à des rates provoquent l'avortement.

3.2.L'embonate de pyrantel (28).

Le pyrantel est lui aussi un anthelminthique. Il est actif contre les ankylostomidés et les ascarides (ainsi que les oxyures pour les espèces pouvant être hôtes de ce parasite, ce qui n'est pas le cas du chien). Son action porte sur le système nerveux des vers en bloquant la dépolarisation neuromusculaire par activation des récepteurs nicotiques qui aboutit à une paralysie spastique. Il est aussi un inhibiteur des cholinestérases. L'absorption digestive est très faible d'où une action sélective sur des parasites intestinaux mais aussi une très faible toxicité. L'élimination est donc principalement fécale et la partie absorbée est évacuée dans les urines. Administrée par voie orale, il faut une très forte dose de pyrantel pour voir apparaître une toxicité, en revanche, une administration par voie parentérale peut entraîner un blocage total de la transmission neuromusculaire chez l'hôte.

3.3.La spiramycine (14).

Cette molécule est un antibiotique de la famille des macrolides qui ont notamment une action contre les germes Gram positifs, les mycoplasmes et aussi certains protozoaires parasites. Ainsi la spiramycine est utilisée chez l'homme dans le traitement de la toxoplasmose aiguë. L'érythromycine est active sur *Giardia* tout comme l'azithromycine in vitro. En revanche, cette dernière est peu active in vivo chez la souris. Pour la spiramycine, on ne dispose d'aucune donnée. Elle est rapidement absorbée après administration orale et diffuse très bien dans les tissus. Métabolisée par le foie, elle est ensuite excrétée par la bile, l'excrétion est donc majoritairement fécale, une faible portion (10%) étant éliminée dans l'urine. Son action se fait par fixation sur les ribosomes d'où une inhibition de la synthèse protéique. Bien que peu toxique, son utilisation est déconseillée chez l'insuffisant hépatique.

TROISIEME PARTIE :
ESSAI DE QUATRE PROTOCOLES DE TRAITEMENT DE LA
GIARDIOSE CANINE.

1. Matériel et méthode.

1.1. Les chiens.

Les animaux utilisés lors de cette étude sont 30 chiens de race Beagle, âgés de 16 à 17 semaines au début de l'essai. Leur poids est compris entre 4.6 et 7.8 kg au premier jour de l'administration des traitements. Parmi ces 30 chiens, on dénombre 15 mâles et 15 femelles. Tous ont été vaccinés contre la maladie de Carré, l'hépatite de Rubarth, la parvovirose, la leptospirose et la rage. Ils présentent tous un bon état général et aucun trouble particulier n'est détecté lors de l'examen clinique.

1.2. L'infestation par les *Giardia*.

Tous les chiens participant à cette étude présentaient une infestation naturelle par les *Giardia* depuis leur chenil de provenance. Cette infestation était entretenue par le fait qu'ils vivaient en groupes de 7 ou 8 chiens dans des boxes non régulièrement désinfectés. La réalité de cette infestation a été vérifiée avant le début de l'essai par 3 examens coproscopiques réalisés 3 jours consécutifs et par deux tests ELISA (ProSpecT[®], Alexon-Trend) portant sur les fèces correspondant à la deuxième et à la troisième coproscopie.

Un chien était considéré comme non infesté par les *Giardia* si les 3 coproscopies et les 2 tests ELISA se révélaient négatifs.

Il était, au contraire, considéré comme infesté si au moins l'un des examens coproscopiques ou l'un des tests ELISA montrait un résultat positif.

Selon ces critères, tous les chiens ont été considérés comme étant réellement infestés :

- 10 chiens étaient 3 fois positifs en coproscopie (dont 9 étaient 2 fois positifs en ELISA et 1 était 1 fois positif en ELISA).
- 14 chiens étaient 2 fois positifs en coproscopie (dont 13 étaient 2 fois positifs en ELISA et 1 était 2 fois négatif en ELISA).
- 5 chiens étaient 1 fois positifs en coproscopie (dont 4 étaient 2 fois positifs en ELISA et 1 était 1 fois positif en ELISA).
- 1 chien était 3 fois négatif en coproscopie mais était 2 fois positif en ELISA.

1.3. Réalisation des lots.

Les 30 Beagles sont répartis en 5 lots de 6 chiens afin de disposer d'une part de 4 lots qui se verront appliquer chacun l'un des 4 protocoles de traitement de la giardiose canine à évaluer et d'autre part d'un lot témoin, lequel ne recevra aucun traitement.

La répartition des animaux dans les différents lots s'est faite de la manière suivante : les chiens ont été classés par ordre croissant du nombre total de kystes de *Giardia* observés sur les 3 coproscopies réalisées chacun des 3 jours qui ont précédé le début du traitement. Le premier chien de la liste ainsi obtenue a été placé dans le lot 1, le deuxième dans le lot 2, le troisième dans le lot 3, le quatrième dans le lot 4 et le cinquième dans le lot 5. Le sixième a été placé dans le lot 2, le septième dans le lot 3, le huitième dans le lot 4, le neuvième dans le lot 5 et le dixième dans le lot 1. La même méthode de répartition étant appliquée pour tous les chiens jusqu'au trentième. De cette façon, chaque groupe se trouve constitué à la fois de chiens faiblement infestés et de chiens présentant une infestation plus massive. On dispose ainsi de lots homogènes entre eux, ce qui évite au paramètre niveau d'infestation d'influer sur les résultats des traitements.

Enfin, à chaque numéro de lot a été attribué arbitrairement soit l'un des quatre protocoles de traitement à évaluer soit le rôle de lot témoin.

1.4. Environnement des chiens.

Les 4 lots traités sont placés dans des boxes bétonnés nettoyés quotidiennement à l'aide d'un jet d'eau sous pression. Ils disposent d'une aire de couchage paillée renouvelée régulièrement.

Leur alimentation est composée uniquement de croquettes déposées dans des gamelles, une par chien, qui sont nettoyées chaque jour avec l'eau sous pression et désinfectées avec une solution à base d'ammoniums quaternaires une fois par semaine. Ils

disposent, en outre, d'un abreuvoir commun situé en hauteur de façon à ne pas pouvoir être souillé par leurs excréments.

La veille de chaque prélèvement de fèces, les animaux sont placés dans des cages individuelles de façon à identifier les excréments avec certitude. Ces cages sont attribuées à chaque chien pour toute la durée de l'étude.

Les chiens constituant le lot témoin sont quant à eux placés à deux par cage et sont eux aussi mis en cages individuelles le jour précédent la récolte des fèces. Leur alimentation est la même que celle des autres lots et le rythme de nettoyage et de désinfection est lui aussi semblable aux autres.

1.5. Protocoles de traitement.

Les 4 protocoles de traitement évalués au cours de la présente étude sont tous des protocoles préconisés dans la littérature dans le cadre du traitement de la giardiose canine :

- Le premier lot a reçu de l'oxfendazole (DolthèneND) à la dose quotidienne de 11,3 mg/kg pendant 3 jours consécutifs.
- Le deuxième lot s'est vu administré une association de febantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel (Drontal PND), respectivement à 15 mg/kg, 5 mg/kg et 5 mg/kg pendant 3 jours consécutifs.
- Le troisième lot a reçu 50 mg/kg de fenbendazole (PanacurND) pendant 3 jours consécutifs.
- Le quatrième lot a été traité par du métronidazole (StomorgylND) à la dose quotidienne de 25 mg/kg pendant 5 jours consécutifs. La spécialité StomorgylND contient aussi de la spiramycine (750000 U.I. pour 125 mg de métronidazole).
- Le cinquième lot, lot témoin, n'a reçu aucun traitement.

L'administration de ces traitements s'est faite de façon différente selon la forme galénique de chacune des spécialités utilisées. Les préparations se présentant sous forme de comprimés (Drontal PND et StomorgylND) ont été administrées de force avec un peu d'aliment humide en boîte. Les comprimés de PanacurND ont été dilués dans de l'eau, ainsi

que le préconise le fabricant. La solution ainsi obtenue a, elle aussi, été mélangée à de la pâtée. La suspension orale de DolthèneND a été administrée à la seringue, directement dans la gueule des chiens puis ceux-ci ont reçu de l'aliment humide. Les chiens du lot témoin ont, quant à eux, reçu la même quantité de pâtée nature.

Suite à l'administration des traitements, les animaux ont été surveillés pendant une demi-heure afin de contrôler qu'ils avaient bien avalé la nourriture contenant les préparations et qu'ils ne l'avaient pas régurgitée par la suite. Aucun de ces cas de figure n'a été constaté pendant l'essai. Ce contrôle permet d'assurer que l'ensemble des protocoles de traitement de la giardiose canine à évaluer a bien été respecté.

1.6. Examen des fèces.

Des examens ont été effectués, pour chaque chien, les 3 jours qui ont précédé le début du traitement, puis 6 fois au cours des 3 semaines qui l'ont suivi. Si l'on note J1, le premier jour de l'administration des différents traitements, ceux-ci prennent fin à J3 dans les cas des traitements par le Drontal PND, le PanacurND et le DolthèneND. Pour le traitement réalisé à l'aide du StomorgylND, l'administration s'arrête à J5 (tableau 1).

- Des examens coproscopiques ont été réalisés sur l'ensemble des fèces prélevés à J4, J6, J11, J18 et J19.
- Des tests ELISA ont été effectués sur tous les prélèvements à J4, J6, J11, J18 et J19.

Ces dates ont été choisies pour les raisons suivantes : J4 est le premier jour suivant l'arrêt du traitement des trois lots traités à l'aide des différents vermifuges et J6 est le premier jour après l'arrêt de l'administration de métronidazole au dernier lot traité. Le jour J11 correspond à une semaine post traitement quant à J18, il marque la fin de la deuxième semaine complète qui suit le traitement. Les examens réalisés sur les prélèvements effectués à J19 ont pour but de diminuer le nombre de faux négatifs en *Giardia* à la fin de l'étude.

Date	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4	LOT 5	Examens.
J1	Dolthène ND	Drontal P ND	Panacur ND	Stomorgyl ND		
J2	Dolthène ND	Drontal P ND	Panacur ND	Stomorgyl ND		
J3	Dolthène ND	Drontal P ND	Panacur ND	Stomorgyl ND		
J4				Stomorgyl ND		Coproscopie et ELISA
J5				Stomorgyl ND		
J6						Coproscopie et ELISA
J7						
J8						
J9						
J10						
J11						Coproscopie et ELISA
J12						
J13						
J14						
J15						
J16						
J17						
J18						Coproscopie et ELISA
J19						Coproscopie et ELISA

Tableau 1 : Chronologie de l'administration des traitements et de la réalisation des examens des fèces.

1.6.1. Principe et réalisation de l'examen coproscopique.

La méthode de diagnostic coproscopique utilisée lors de cette étude est la technique utilisant le dispositif Ovassay (Janssen) et le sulfate de zinc comme liquide de flottation. Il s'agit d'une méthode d'enrichissement par flottation. Elle consiste à déposer des matières fécales dans un liquide de densité élevée de façon à ce que les éléments parasitaires, de faible densité, puissent remonter en surface, être récoltés et observés. Sur le plan pratique, la technique, telle que nous l'avons réalisée, est la suivante :

- Prélever 1 gramme de fèces que l'on dépose dans un pot à coproscopie d'environ 10 ml.

- Ajouter un peu d'une solution de sulfate de zinc à 33%, dont la densité est donc de 1.18 et bien mélanger de façon à déliter au mieux les fèces.
- Déposer un filtre sur le pot et continuer le remplissage avec la solution de sulfate de zinc jusqu'à l'obtention d'un ménisque.
- Poser sur le ménisque, une lamelle microscopique qui permettra de récolter les éléments parasitaires qui vont venir si coller.
- Après 10 minutes, le temps indispensable à la remontée en surface des parasites, déposer la lamelle sur une lame porte-objet.
- Observer au microscope.

Dans le cadre de cette étude, la recherche des *Giardia* s'est faite au grossissement 400 du microscope optique, sur 10 champs d'observation répartis sur l'ensemble de la lamelle.

1.6.2. Principe et réalisation des tests ELISA.

La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) est une méthode de diagnostic enzymatique reposant sur la mise en évidence d'antigènes spécifiques dans les prélèvements testés. Nous avons utilisé lors de cet essai, le kit ELISA ProSpecT[®] *Giardia* Microplate Assay de Alexon-Trend. Il s'agit d'un test en phase solide qui vise à mettre en évidence l'antigène GSA 65 spécifique de *Giardia*, dans les selles. Pour cela, des anticorps anti-GSA 65 sont fixés au fond de puits dans lesquels on dépose les prélèvements. On y ajoute ensuite une enzyme monoclonale anti-GSA 65 conjuguée à une peroxydase puis un substrat pour cette dernière enzyme qui le fera changer de couleur. Ainsi, deux cas de figure peuvent se présenter :

- Si l'antigène GSA 65 est présent, il se fixe sur l'enzyme qui est dans le puits et permet la fixation du conjugué et lorsque l'on ajoutera le substrat, il y aura changement de couleur.
- Si l'antigène GSA 65 est absent du prélèvement, le conjugué sera éliminé lors de rinçages et à l'ajout du substrat, celui-ci ne sera pas dégradé, il n'y aura donc pas de changement de couleur.

Sur le plan pratique, nous avons choisi de standardiser la réalisation expérimentale de ce test afin de procéder à l'identique pour tous les prélèvements. La procédure que nous avons suivie est la suivante :

- Dans un tube à dilution, mélanger 0.1 gramme de fèces et 0.4 ml de solution tampon (Specimen Dilution Buffer).
- Placer dans le puits A1, 4 gouttes de solution de contrôle positif et dans le puits B1, 4 gouttes de solution de contrôle négatif. Dans chaque puits échantillon, déposer 0.1 ml de solution tampon et y ajouter 1 goutte de l'échantillon obtenu à l'étape précédente.
- Incuber 60 minutes à température ambiante.
- Rincer 3 fois chaque puits avec 0.4 ml de solution de lavage (Wash Buffer).
- Ajouter 4 gouttes de conjugué (Enzyme Conjugate) dans chaque puits.
- Incuber 30 minutes à température ambiante.
- Laver 5 fois en suivant la même procédure que pour le lavage précédent.
- Ajouter 4 gouttes de substrat (Color Substrate) dans chacun des puits.
- Incuber 10 minutes à température ambiante.
- Ajouter une goutte de solution d'arrêt (Stop Solution) par puits et mélanger en agitant légèrement la plaque.

La lecture doit s'effectuer dans les 10 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt. Elle se fait grâce à un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 450 nm. On peut aussi la réaliser à l'œil en comparant la couleur des puits à un panel de couleurs fourni par le fabricant.

Le test est validé si la valeur de la densité optique est inférieure à 0.100 pour le témoin négatif et supérieure à 0.300 pour le témoin positif.

Un échantillon est positif si sa densité optique est supérieure à celle du témoin négatif de plus de 0.050. Dans le cas contraire, l'échantillon est négatif.

2. Résultats.

Sur l'ensemble de l'étude, ont été réalisés après traitement, 147 examens coproscopiques et 147 tests ELISA. Pour les coproscopies, 68 (46%) se sont révélées négatives alors qu'en ce qui concerne les tests ELISA, seulement 43 (29%) l'ont été.

Si l'on s'attache à un prélèvement correspondant à un chien donné, à une date donnée, celui-ci est considéré comme étant :

- Négatif en *Giardia* si à la fois l'examen coproscopique et le test ELISA sont négatifs.
- Positif en *Giardia* dans tous les autres cas de figure (coproscopie positive, test ELISA positif ou bien encore les deux à la fois).

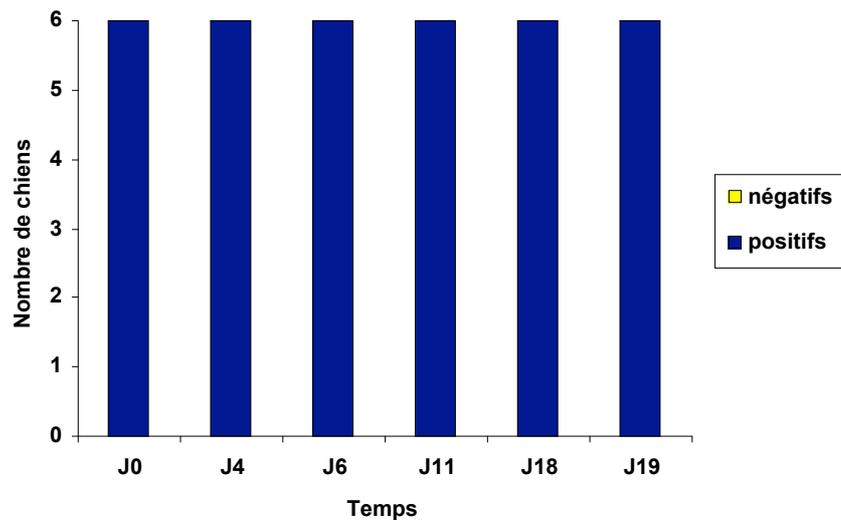
2.1. Résultats du lot témoin.

Le détail des résultats des examens des fèces des chiens du lot témoin figure dans le tableau 2.1 (voir annexe 2). En considérant les critères de positivité donnés ci-dessus, les résultats obtenus sont ceux reportés dans le tableau 2. Ces mêmes résultats sont aussi visibles sous forme de graphique (graphique 1).

Ils montrent que les 6 chiens constituant le lot témoin sont tous restés positifs en *Giardia* tout au long de l'étude.

CHI ENS	Avant traitement	J4	J6	J11	J18	J19
130	+	+	+	+	+	+
156	+	+	+	+	+	+
141	+	+	+	+	+	+
131	+	+	+	+	+	+
151	+	+	+	+	+	+
146	+	+	+	+	+	+

Tableau 2 : Positivité des chiens du lot témoin par au moins l'une des deux méthodes de diagnostic (+ pour positif et – pour négatif).



Graphique 1: Positivité en *Giardia* des chiens du lot témoin.

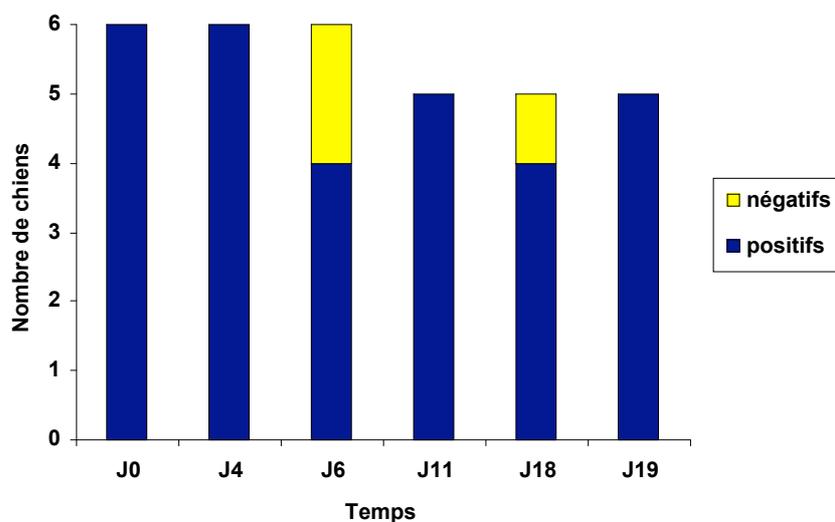
2.2 Résultats du traitement par l'oxfendazole.

Le détail des résultats des examens figure en annexe 2. Le tableau 3 et le graphique 2 montrent la positivité des 6 chiens du lot dans un premier temps puis des 5 chiens le constituant par la suite, puisque l'un d'entre eux est mort entre J6 et J11 suite à une fausse déglutition.

Il apparaît que 2 chiens sur 6 se sont négativés à J6 mais qu'ils étaient de nouveau positifs à J11. En revanche, un autre chien est reconnu négatif à J18 tout en étant positif à J19.

CHI ENS	Avant traitement	Après traitement				
		J4	J6	J11	J18	J19
148	+	+	-	+	+	+
138	+	+	-	+	+	+
143	+	+	+	+	+	+
164	+	+	+	+	+	+
142	+	+	+			
119	+	+	+	+	-	+

Tableau 3 : Positivité des chiens du lot traité par l'oxfendazole, par au moins l'une des deux méthodes de diagnostic (+ pour positif et – pour négatif).



Graphique 2 : Positivité en *Giardia* des chiens traités par l’oxfendazole.

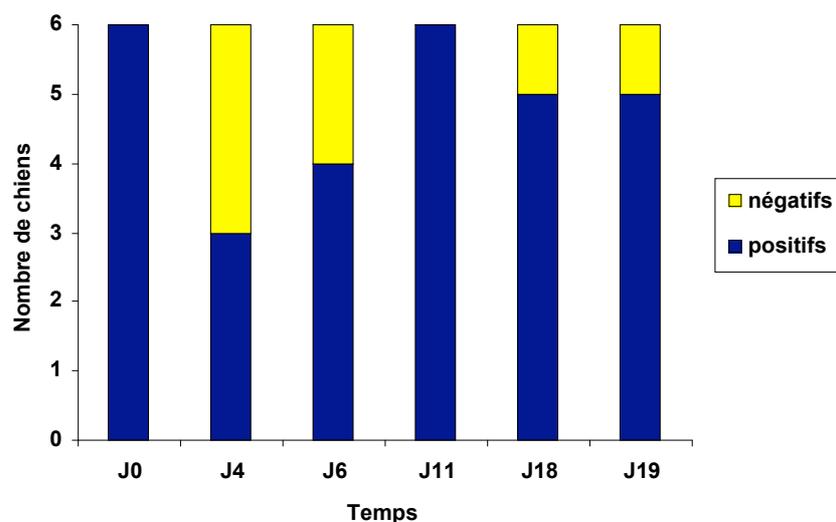
2.3. Résultats du traitement par l’association de fébantel, de praziquantel et d’embonate de pyrantel.

Le détail des résultats des examens figure en annexe 2. Le tableau 4 et le graphique 3 montrent la positivité des 6 chiens du lot au cours de l’étude.

S’ils sont tous positifs à J0, 3 d’entre eux sont négatifs le lendemain de l’arrêt du traitement (J4). L’un de ces 3 chiens est toujours négatif à J6, les 2 autres sont de nouveau positifs mais un quatrième est négatif. A J11 tous sont positifs alors qu’à J18 et J19, le chien n° 126 qui a déjà été 2 fois négatif l’est de nouveau.

CHIENS	Avant traitement	Après traitement				
		J4	J6	J11	J18	J19
140	+	+	+	+	+	+
122	+	-	+	+	+	+
136	+	-	+	+	+	+
147	+	+	-	+	+	+
121	+	+	+	+	+	+
126	+	-	-	+	-	-

Tableau 4 : Positivité des chiens du lot traité par l’association de fébantel, de praziquantel et d’embonate de pyrantel (par au moins l’une des deux méthodes de diagnostic). + pour positif et – pour négatif.



Graphique 3 : Positivité en *Giardia* des chiens traités par l’association de febantel, de praziquantel et d’embonate de pyrantel.

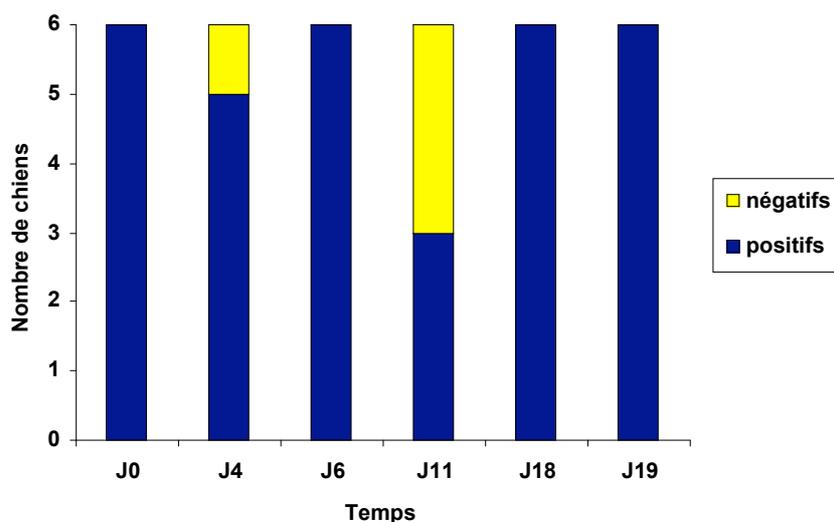
2.4. Résultats du traitement par le fenbendazole.

Le tableau 2.4 situé en annexe 2 indique le détail de ces résultats. Le tableau 5 et le graphique 4 montrent l’évolution de la positivité en *Giardia* dans ce lot.

On peut voir qu’un chien est négatif à J4, il est positif comme tous les autres à J6 puis de nouveau négatif, comme 2 autres chiens à J11. Enfin, ils sont tous positifs lors des 2 examens suivants.

CHIENS	Avant traitement	Après traitement				
		J4	J6	J11	J18	J19
161	+	+	+	-	+	+
162	+	+	+	+	+	+
139	+	-	+	-	+	+
133	+	+	+	-	+	+
152	+	+	+	+	+	+
145	+	+	+	+	+	+

Tableau 5 : Positivité des chiens du lot traité par le fenbendazole, par au moins l’une des deux méthodes de diagnostic (+ pour positif et – pour négatif).



Graphique 4 : Positivité en *Giardia* des chiens traités par le fenbendazole.

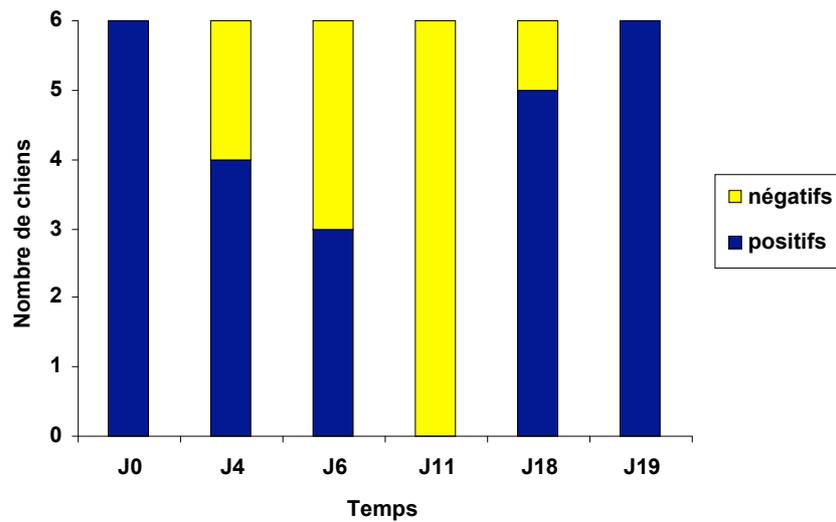
2.5. Résultats du traitement par le métronidazole associé à la spiramycine.

Le détail des résultats peut être consulté en annexe 2. Grâce au tableau 6 et au graphique 5, il est possible de suivre l'évolution du statut en *Giardia* des chiens constituant ce lot.

A J4, 2 chiens se sont déjà négativés alors que le traitement n'a pris fin qu'à J5. A J6, ils le sont toujours et deux autres chiens le sont aussi. A J11, tous sont négatifs mais à J18, un seul le reste et à J19 tous sont de nouveau positifs.

CHIENS	Avant traitement	Après traitement				
		J4	J6	J11	J18	J19
173	+	+	+	-	+	+
149	+	-	-	-	+	+
170	+	-	-	-	-	+
129	+	+	+	-	+	+
120	+	+	-	-	+	+
144	+	+	-	-	+	+

Tableau 6 : Positivité des chiens du lot traité par le métronidazole associé à la spiramycine par au moins l'une des deux méthodes de diagnostic, (+ pour positif et – pour négatif).



Graphique 5 : Positivité en *Giardia* des chiens traités par le métronidazole associé à la spiramycine.

2.6. Synthèse et interprétation des résultats.

Le tableau 7 met en évidence le pourcentage de chiens reconnus comme étant négatifs en *Giardia* avant le traitement et à J4, J6, J11, J18 et J19.

	Avant traitement	Après traitement				
		J4	J6	J11	J18	J19
Dolthène ND	0	0	33	0	20	0
Drontal p ND	0	50*	33	0	17	17
Panacur ND	0	17	0	50*	0	0
Stomorgyl ND	0	33	67*	100*	17	0
Témoins	0	0	0	0	0	0

Tableau 7 : Pourcentage de chiens négatifs en ELISA et en coproscopie dans les différents lots. * Résultats significativement différents de ceux du lot témoin par le test du chi-deux ($P < 0,05$).

Remarque : Pour vérifier si la différence entre les résultats de chaque lot traité et ceux du lot témoin est significative, c'est à dire pour savoir si le traitement a été efficace, nous avons utilisé le test du χ^2 (chi-deux). Celui-ci permet de comparer les résultats obtenus à ceux attendus dans l'hypothèse où il n'y aurait pas de différence entre l'effet d'un traitement et l'absence de traitement (hypothèse nulle). Le χ^2 est égal à la somme des carrés des différences entre chaque valeur observée et attendue divisée par la valeur attendue. A cette valeur du χ^2 correspond une valeur p qui estime la probabilité que la différence observée entre les résultats obtenus et l'hypothèse nulle soit due au hasard. Pour que l'effet d'un traitement soit reconnu comme étant significatif, p doit être inférieur à 0.05.

La réalisation du test du χ^2 figure en annexe 3.

Ainsi, l'étude statistique nous montre que les seuls résultats significatifs sont ceux obtenus à J4 pour le traitement par l'association de fébantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel (Drontal PND), à J6 pour le métronidazole (StomorgylND) et à J11 pour le fenbendazole (PanacurND) et le métronidazole (StomorgylND).

Si l'on compare l'efficacité des traitements entre eux (voir annexe 3), on aboutit aux conclusions suivantes :

- A J4, le traitement au Drontal PND est plus efficace que le traitement au DolthèneND.
- A J6, le traitement au StomorgylND est plus efficace que le traitement au PanacurND.
- A J11, le traitement au StomorgylND est plus efficace que les trois autres alors que le traitement au PanacurND est plus efficace que ceux utilisant le Drontal PND ou le DolthèneND.

3. Discussion.

Le premier constat, à la vue de ces résultats, est que si ponctuellement certains traitements entraînent une négativation des recherches de *Giardia*, aucun n'est à lui seul réellement efficace pour éradiquer une giardiose.

L'oxfendazole (DolthèneND) utilisé à 11,3 mg/kg une fois par jour pendant 3 jours consécutifs n'a à aucun moment montré d'efficacité contre les *Giardia* au cours de notre essai. Une étude récente (52, 53) avait conclu à une efficacité de 100% à cette posologie au moins jusqu'à 6 jours après la fin de l'administration. Cependant, seuls des examens coproscopiques ont été réalisés à J5, J7 et J9 ce qui permet de penser, vu le caractère intermittent de l'excrétion des kystes, que certains positifs n'ont pu être détectés. Dans un autre essai de la même étude, le nombre de kystes excrétés avait certes diminué mais jamais l'excrétion n'avait cessé. Les auteurs mettaient alors en cause le phénomène de recontamination à partir du milieu, ce qui est possible mais notons tout de même que la période prépatente est de 8-10 jours en moyenne chez le chien et que cette recontamination mise en cause survenait ici 6 jours après l'arrêt du traitement.

L'association de fébantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel (Drontal PND) administrée pendant 3 jours à la posologie de 15 mg/kg de fébantel, 5 mg/kg de praziquantel et 5 mg/kg d'embonate de pyrantel s'est révélée efficace à J4, c'est à dire le lendemain de l'arrêt du traitement. Mais dès 3 jours après la fin de l'administration, les résultats n'étaient plus significativement différents de ceux obtenus pour le lot témoin. Mettre en cause une recontamination paraît peu plausible car la durée de 3 jours est vraiment courte comparée à la période prépatente. Une étude de 1998 (6) avait montré une efficacité de cette association de molécules pendant les 6 jours suivant le traitement mais la dose utilisée était plus importante puisque les chiens avaient alors reçu 26 à 35 mg/kg de fébantel et de pamoate de pyrantel et 5 à 7 mg/kg de praziquantel. Là aussi, seuls des examens coproscopiques avaient été effectués (4 sur 6 jours).

Le fenbendazole (PanacurND) employé pendant 3 jours consécutifs à 50 mg/kg a montré une efficacité notable à J11, soit une semaine après l'arrêt du traitement. Deux études (7, 55) avaient montré son efficacité à cette posologie, l'une pendant 5 jours post-traitement, l'autre pendant 3 semaines. Dans le cas présent, il est envisageable que la positivité des chiens à J18 et J19 soit due à une recontamination puisqu'une période de 15 jours s'est écoulée depuis la fin du traitement. En revanche, le délai d'une semaine avant d'observer l'effet du traitement n'est pas retrouvé dans les 2 autres études et est difficilement interprétable.

Le métronidazole administré à 25 mg/kg, associé à la spiramycine à 150000 U.I./kg, pendant 5 jours consécutifs a montré une efficacité de 67% à J6 (le lendemain de l'arrêt du

traitement) et de 100% à J11. Là encore, le fait que les chiens soient de nouveau positifs à J18 et J19 peut s'expliquer par une recontamination. Une étude (58) avait montré une efficacité de 67% lorsque le métronidazole était utilisé seul à 22 mg/kg, 2 fois par jours pendant 5 jours. Une autre (29) avait mis en évidence une guérison clinique en 5 jours chez 20 chiens traités avec 30 mg/kg de métronidazole, 2 fois par jour pendant 5 jours mais l'absence d'examen coproscopiques ne permet pas de comparer ces résultats aux autres.

Il ressort que dans notre essai associant pour le diagnostic, la coproscopie et la méthode ELISA, le métronidazole (25 mg/kg x 5j) et le fenbendazole (50 mg/kg x 3j) présentent une efficacité notable contre les *Giardia*. En revanche, ils ne protègent pas contre une réinfestation dans les jours qui suivent. Les résultats obtenus avec l'oxfendazole et le febantel sont décevants.

Pour expliquer la différence d'efficacité des 3 benzimidazoles, malgré leurs relations structurales et métaboliques, l'hypothèse la plus probable est celle qui prend en compte l'absorption de chacun de ces composés. En effet, le fenbendazole est le moins bien absorbé par la muqueuse digestive, c'est aussi celui que nous avons administré à la plus forte dose, il en résulte une importante concentration active directement sur les *Giardia*. En revanche, le febantel et l'oxfendazole, déjà administrés à plus faible dose, sont absorbés de façon plus importante et en partie métabolisés, ce qui fait que la proportion de molécules actives qui entrent en contact avec les *Giardia* est beaucoup plus faible malgré le cycle entéro-hépatique. Ces composés sont actifs contre ce parasite, mais les posologies employées, qui sont celles utilisées pour lutter contre les helminthes (pour le DolthèneND et le PanacurND) ou le triple de celle-ci (pour le Drontal PND) apparaissent insuffisantes.

Les résultats obtenus montrent aussi l'importance des mesures d'hygiène dans la lutte contre la giardiose. Nous avons nettoyé quotidiennement les sols en bétons et les gamelles des chiens avec de l'eau sous pression mais cela n'a pas suffi à éviter les recontaminations. Pour lutter efficacement contre les *Giardia*, il est donc fondamental d'associer au traitement, des mesures de nettoyage et de désinfection du milieu fréquentes et répétées.

Enfin, cette étude nous permet aussi de comparer les méthodes de diagnostic de la giardiose canine que nous avons utilisées. Avant traitement, nous avons réalisé 3 coproscopies consécutives et 2 tests ELISA sur chaque chien (Annexe 4). Si l'on considère les 29 animaux

identifiés comme étant positifs à l'aide des 3 coproscopies (c'est-à-dire qu'au moins l'une des 3 est positive en *Giardia*) :

- En moyenne, 21 (72%) auraient été détectés positifs par une seule coproscopie.
- 27,3 (94%) l'auraient été avec 2 coproscopies.
- 27 (93%) sont positifs lorsque l'on réalise 1 seul test ELISA.
- 28 (97%) sont positifs si l'on tient compte des 2 tests ELISA.

Utilisons maintenant les données obtenues à J-1, J0, J18 et J19, c'est-à-dire 2 fois 2 jours consécutifs auxquels ont été pratiqués une coproscopie et un test ELISA pour chaque chien :

- 50 individus sont déclarés positifs en tenant compte d'au moins une coproscopie positive sur 2 coproscopies successives.
- 38,5 (77%) en moyenne auraient été répertoriés parmi les positifs si nous n'avions réalisé qu'une seule coproscopie.
- 48 (96%) sont positifs si l'on ne réalise qu'un test ELISA.
- 49 (98%) sont positifs lorsque l'on réalise 2 tests ELISA sur 2 jours consécutifs.

Grâce à ces résultats, plusieurs conclusions s'imposent. La coproscopie microscopique utilisant la méthode de flottation (ici en solution de sulfate de zinc) est une technique simple et peu coûteuse de diagnostic de la giardiose canine. Pour être efficace, elle doit cependant être répétée sur plusieurs jours consécutifs du fait notamment de l'excrétion discontinue des kystes. Deux coproscopies successives permettent de dépister à peu près 23% de chiens positifs de plus qu'une seule coproscopie et 3 de ces examens augmentent de 28% le nombre d'animaux dépistés par rapport à une seule coproscopie.

La méthode ELISA apparaît comme étant fiable pour détecter les chiens porteurs du parasite. Elle est un peu moins sensible que 2 ou 3 coproscopies consécutives mais bien plus sensible qu'un seul examen coproscopique. Cependant, son coût bien plus important et le nombre de manipulations nécessaires limiteront son utilisation à des cas bien précis comme par exemple le contrôle d'un gros effectif qui rendrait fastidieuse la réalisation des coproscopies. De plus, on pourra noter que la réalisation d'un deuxième test ELISA le jour suivant le premier test ne se justifie pas car cela n'augmente la sensibilité que de 2 à 3% pour un coût élevé.

CONCLUSION.

Des quatre protocoles de traitement évalués dans cette étude, les plus efficaces sont le métronidazole (25 mg/kg x 5j) et le fenbendazole (50 mg/kg x 3j), avec une meilleure efficacité pour le premier. Il serait intéressant de tester les benzimidazoles avec une posologie plus élevée. Il apparaît indispensable d'associer le traitement médical à des mesures d'hygiène du milieu de façon à éviter toute nouvelle contamination. Le dépistage des animaux porteurs peut être fait efficacement par simple coproscopie à condition de les répéter au moins deux fois. Le diagnostic par la technique ELISA est fiable mais son coût élevé le réserve à de gros effectifs. Le risque de transmission de la maladie à l'homme, très probable, demeure un problème non négligeable dans les pays en voie de développement, problème malheureusement difficile à résoudre car le traitement des animaux n'est pas une priorité et les conditions d'hygiène sont insuffisantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1. Abbitt, B., Huey, R.L., Eugster, A.K., Sylver, J.
Treatment of giardiasis in adult Greyhounds, using ipronidazole-medicated water.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 1986, **188**, 1, 67-69.
2. Archibald, S.C., Mitchell, R.W., Upcroft, J.A., et al.
Variation between human and animal isolates of *Giardia* as demonstrated by DNA fingerprinting.
Int. J. Parasitol. 1991, **21**, 1, 123-124.
3. Avedissian, D.
Giardiose canine et féline.
Th. : Med.vet. : Lyon : 1988 : 124. 90p.
4. Barr, S.C., Bowman, D.D.
Giardiasis in dogs and cats.
Comp. Cont. Educ. 1994, **16**, 5, 603-610.
5. Barr, S.C., Bowman, D.D., Erb, H.N.
Evaluation of two test procedures for diagnosis of giardiasis in dogs.
Am. J. Vet. Res. 1992, **53**, 11, 2028-2031.
6. Barr, S.C., Bowman, D.D., Frongillo, M.F., Joseph, S.L.
Efficacy of a drug combination of praziquantel, pyrantel pamoate, and febantel against giardiasis in dogs.
Am. J. Vet. Res. 1998, **59**, 9, 1134-1136.
7. Barr, S.C., Bowman, D.D., Heller, R.L.
Efficacy of fenbendazole against giardiasis in dogs.
Am. J. Vet. Res. 1994, **55**, 7, 988-990.
8. Barr, S.C., Bowman, D.D., Heller, R.L., Erb, H.N.
Efficacy of albendazole against giardiasis in dogs.

- Am. J. Vet. Res.* 1993, **54**, 6, 926-928.
9. Bemrick, W.J., Erlandsen, S.L.
Giardiasis – is it really a zoonosis ?
Parasitol. Today. 1988, **4**, 3, 69-71.
10. Beugnet, F.
Le parasitisme digestif des carnivores domestiques, importance des protozooses.
Act. Vet. 1998, 1453, 12-18.
11. Beugnet, F., Guillot, J., Polack, B, Chermette, R.
Enquête sur le parasitisme digestif des chiens et des chats de particuliers de la région parisienne.
Rev. Méd. Vét. 2000, **151**, 5, 443-446.
12. Bourdeau, P.
Les giardioses des carnivores.
Rec. Méd. Vét. 1993, **169**, 5/6, 393-400.
13. Bourdoiseau, G.
Parasitologie clinique du chien.
Créteil : Nouvelles éditions vétérinaires et alimentaires, 2000. 456p.
14. Bryskier, A.
Antibiotiques. Agents antimicrobiens et antifongiques.
Paris : Ellipses, 1999. 1216p.
15. Capon, A.G., Upcroft, J.A., Boreham, P.F.L., et al.
Similarities of *Giardia* antigens derived from human and animal sources.
Int. J. Parasitol. 1989, **19**, 1, 91-98.
16. Cassier, P., Brugerolle, G., Combes, C. et al.
Le parasitisme : un équilibre dynamique.

Paris : Masson, 1998. 366p.

17. Delatour, P., Euzéby, J.

Communautés structurale, métabolique et anthelminthique entre febantel, fenbendazole et oxfendazole.

Point Vét. 1983, **15**, 71, 63-68.

18. Delatour, P., Yoshimura, H., Garnier, F., Benoit, E.

Embryotoxicité comparée des métabolites de l'oxfendazole.

Rec. Méd. Vét. 1982, **158**, 4, 369-373.

19. Dow, S.W., LeCourteur, R.A., Poss, M.L., Beadleston, D.

Central nervous system toxicosis associated with metronidazole treatment of dogs : five cases (1984-1987).

J. Am. Med. Vet. Assoc. 1989, **195**, 3, 365-368.

20. Düwel, D.

Fenbendazole. II. Biological properties and activity.

Pestic. Sci. 1977, **8**, 550-555.

21. Edling, T.D., Hang, T.L., Chakraborty, P.R.

Activity of the Anthelmintic Benzimidazoles against *Giardia lamblia* In Vitro.

J. Infect. Dis. 1990, **162**, 1408-1411.

22. Euzéby, J.

Protozoologie Médicale Comparée, Vol. 1. Généralités – Sarcostigophores (Flagellés, Rhizopodes) – Ciliés.

Lyon : Collection Fondation Marcel Mérieux, 1986. 463p.

23. Farbey, M.D., Reynoldson, J.A., Thompson, R.C.A.

In vitro drug susceptibility of 29 isolates of *Giardia duodenalis* from humans as assessed by an adhesion assay.

Int. J. Parasitol. 1995, **25**, 5, 593-599.

24. Faubert, G.M.

Evidence that giardiasis is a zoonosis.

Parasitol. Today. 1988, **4**, 3, 66-68.

25. Galtier, P.

Métabolisme des benzimidazoles et activité inductrice enzymatique.

Rev. Méd. Vét. 1991, **142**, 8-9, 633-636.

26. Gasser, R.B.

Is giardiasis a zoonosis ?

Aust. Vet. J. 1990, **67**, 12, p 456.

27. Gottschall, D.W., Theodorides, V.J., Wang, R.

The metabolism of benzimidazole anthelmintics.

Parasitol. Today. 1990, **6**, 4, 115-124.

28. Hardman, J.G., Limbird, L.E.

Goodman and Gilman. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments.
9^e édition.

New-York : McGraw-Hill. 1998. 1677p.

29. Jayagopala Reddy, N.R., Thimmappa Rai, M., Ranganath, L., et al.

Treatment of giardiasis with metronidazole in dogs.

Indian. Vet. J. 1992, **69**, 163-164.

30. Johnson, P.J.

Metronidazole and drug resistance.

Parasitol. Today. 1993, **9**, 5, 183-186.

31. Kirkpatrick, C.E., Farrell, J.P.

- Feline giardiasis : Observations on natural and induced infections.
Am. J. Vet. Res. 1984, **45**, 10, 2182-2188.
32. Lacey, E.
The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles.
Int. J. Parasitol. 1988, **18**, 7, 885-936.
33. Lacey, E.
Mode of action of benzimidazoles.
Parasitol. Today. 1990, **6**, 4, 112-115.
34. Larcher, M.
Essai du fenbendazole dans le traitement de l'ankylostomose chez le chat.
Th. : Med.vet. : Toulouse : 2002-TOU 3-4051. 85p.
35. Leib, M.S., Zajac, A.M.
Giardiasis in dogs and cats.
Vet. Med. 1999, **94**, 793-802.
36. McCracken, R.O., Stillwell, W.H.
A possible biochemical mode of action for benzimidazole anthelmintics.
Int. J. Parasitol. 1991, **21**, 1, 99-104.
37. McKellar, Q.A., Galbraith, E.A., Baxter, P.
Oral absorption and bioavailability of fenbendazole in the dog and the effect of concurrent ingestion of food.
J. Vet. Pharmacol. Therap. 1993, **16**, 189-198.
38. McKellar, Q.A., Harrison, P., Galbraith, E.A., Inglis, H.
Pharmacokinetics of fenbendazole in dogs.
J. Vet. Pharmacol. Therap. 1990, **13**, 386-392.
39. McKellar, Q.A., Scott, E.W.

- The benzimidazole anthelmintic agents – a review.
J. Vet. Pharmacol. Therap. 1990, **13**, 223-247.
40. Meyer, E.K.
Adverse events associated with albendazole and other products used for treatment of giardiasis in dogs.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 1998, **213**, 1, 44-46.
41. Olson, M.E., Ceri, H., Mork., D.W.
Giardia Vaccination.
Parasitol. Today. 2000, **16**, 5, 213-217.
42. Pitts, R.P., Twedt, D.C., Mallie, K.A.
Comparison of duodenal aspiration with fecal flotation for diagnosis of giardiasis in dogs.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 1983, **182**, 11, 1210-1211.
43. ProSpecT[®] *Giardia* Microplate Assay. Package insert.
Alexon-Trend, Inc. August 2000. Printed in U.S.A. 4195-6.
44. Roos, M.H.
The molecular nature of benzimidazole resistance in helminths.
Parasitol. Today. 1990, **6**, 4, 125-129.
45. Shi-Xin, X., Ding, Z., Yu-Mei, S., et al.
Subchronic toxicity studies of fenbendazole in rats.
Vet. Hum. Toxicol. 1992, **34**, 5, 411-413.
46. Short, C.R., Flory, W., Hsieh, L.C., Barker, S.A.
The oxidative metabolism of fenbendazole : a comparative study.
J. Vet. Pharmacol. Therap. 1988, **11**, 50-55.
47. Smith, N.C., Bryant, C., Boreham, P.F.L.

- Possible roles for pyruvate :ferredoxin oxidoreductase and thiol-dependent peroxidase and reductase activities in resistance to nitroheterocyclic drugs in *Giardia intestinalis*.
Int. J. Parasitol. 1988, **18**, 7, 991-997.
48. Stokol, T., Randolph, J.F., Nachbar, S., et al.
Development of bone marrow toxicosis after albendazole administration in a dog and cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 1997, **210**, 12, 1753-1756.
49. Thompson, R.C.A., Hopkins, R.M., Homan, W.L.
Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals.
Parasitol. Today. 2000, **16**, 5, 210-212.
50. Upcroft, J.A., Upcroft, P.
Drug resistance and *Giardia*.
Parasitol. Today. 1993, **9**, 5, 187-190.
51. Van den Bossche, H., Rochette, F., Horig, C.
Mebendazole and related anthelmintics.
Adv. Pharmacol. Chemother. 1982, **19**, 67-128.
52. Villeneuve, V.
Essai de l'oxfendazole dans le traitement de la giardiose canine.
Th. : Med.vet. : Lyon : 2000 : 23. 120p.
53. Villeneuve, V., Beugnet, F., Bourdoiseau, G.
Efficacy of oxfendazole for the treatment of giardiosis in dogs. Experiments in dog breeding kennels.
Parasite. 2000, **7**, 221-226.
54. Zajac, A.M.
Giardiasis.
Comp. Cont. Educ. 1992, **14**, 5, 604-610.
55. Zajac, A.M., LaBranche, T.P., Donoghue, A.R., Chu, T-C.

Efficacy of fenbendazole in the treatment of experimental *Giardia* infection in dogs.
Am. J. Vet. Res. 1998, **59**, 1, 61-63.

56. Zajac, A.M., Leib, M.S., Burkholder, W.J.
Giardia infection in a group of experimental dogs.
J. Small. An. Pract. 1992, **33**, 257-260.

57. Zimmer, J.F., Burrington, D.B.
Comparison of four techniques of fecal examination for detecting canine giardiasis.
J. Am. An. Hosp. Assoc. 1986, **22**, 3/4, 161-167.

58. Zimmer, J.F., Burrington, D.B.
Comparison of four protocols for the treatment of canine giardiasis.
J. Am. An. Hosp. Assoc. 1986, **22**, 3/4, 168-172.

ANNEXES

CHIENS	SEXE	AGE (sem)	POIDS (kg)	J-2	J-1		J0	
				COP	COP	ELISA	COP	ELISA
130	F	16	5,88	0	1	POS	0	POS
156	M	17	6,79	1	0	POS	1	POS
141	F	17	4,92	4	0	POS	3	POS
131	F	16	6,03	5	2	POS	2	POS
151	M	16	6,4	15	8	POS	0	POS
146	M	17	7,02	1	37	POS	5	POS
148	M	17	5,1	0	1	NEG	1	NEG
138	F	16	7,7	1	0	POS	1	POS
143	M	16	6,85	4	1	POS	0	POS
164	M	16	5,07	0	7	POS	0	POS
142	F	16	5,41	10	12	POS	2	POS
119	F	17	6,17	2	0	POS	90	POS
140	F	16	6,32	0	0	POS	0	POS
122	F	16	7,02	0	0	POS	3	POS
136	F	17	4,73	0	4	POS	3	POS
147	M	16	6,73	0	1	POS	7	POS
121	F	16	4,62	1	3	POS	17	POS
126	F	17	6,35	22	1	POS	1	POS
161	M	17	6,98	1	0	NEG	0	POS
162	M	17	7,48	0	1	POS	1	POS
139	F	16	4,98	2	1	POS	1	NEG
133	F	16	7,54	0	2	POS	8	POS
152	M	16	6,98	19	1	POS	3	POS
145	M	16	4,87	1	49	POS	17	POS
173	M	16	6,7	0	2	POS	0	POS
149	M	16	5,67	0	2	POS	1	POS
170	M	16	7,45	1	0	POS	4	POS
129	F	16	6,57	0	4	POS	4	POS
120	F	17	4,92	6	1	POS	5	POS
144	M	16	7,8	138	1	POS	2	POS

Annexe 1 : Détail des résultats coproscopiques et ELISA du contrôle de l'infestation des chiens avant le début de l'essai (les nombres reportés dans les colonnes « COP » sont les nombres de kystes de *Giardia* observés sur 10 champs au grossissement 400). Pour les résultats ELISA : « NEG » signifie négatif et « POS » signifie positif.

Annexe 2 : Résultats coproscopiques et ELISA de tous les chiens participant à l'essai. La colonne « COP » donne le nombre de kystes de *Giardia* observés sur 10 champs au grossissement 400. « NEG » signifie négatif et « POS » est utilisé pour positif.

CHIENS	J4		J6		J11		J18		J19	
	COP	ELISA								
130	3	NEG	0	POS	2	POS	0	POS	1	POS
156	0	POS	0	POS	1	POS	1	POS	0	POS
141	4	NEG	1	NEG	2	POS	1	NEG	2	POS
131	20	POS	6	POS	3	POS	4	POS	9	POS
151	0	POS	1	POS	1	POS	1	POS	11	POS
146	2	POS	3	POS	0	POS	4	POS	0	POS

Tableau 2.1 : Résultats coproscopiques et ELISA du lot témoin.

CHIENS	J4		J6		J11		J18		J19	
	COP	ELISA								
148	0	POS	0	NEG	0	POS	1	POS	1	POS
138	0	POS	0	NEG	0	POS	0	POS	1	POS
143	0	POS	12	POS	3	POS	1	POS	1	POS
164	20	POS	1	POS	4	POS	1	POS	1	POS
142	64	POS	1	POS						
119	1	POS	2	POS	1	POS	0	NEG	0	POS

Tableau 2.2 : Résultats coproscopiques et ELISA du lot traité par l'oxfendazole.

CHIENS	J4		J6		J11		J18		J19	
	COP	ELISA								
140	0	POS	2	NEG	0	POS	1	POS	0	POS
122	0	NEG	5	POS	2	NEG	0	POS	0	POS
136	0	NEG	0	POS	1	NEG	0	POS	9	POS
147	1	NEG	0	NEG	1	NEG	0	POS	4	POS
121	1	POS	2	POS	1	POS	1	POS	0	POS
126	0	NEG	0	NEG	0	POS	0	NEG	0	NEG

Tableau 2.3 : Résultats coproscopiques et ELISA du lot traité par l'association de febantel, de praziquantel et d'embonate de pyrantel.

CHIENS	J4		J6		J11		J18		J19	
	COP	ELISA								
161	0	POS	0	POS	0	NEG	1	POS	1	POS
162	0	POS	1	NEG	3	POS	1	POS	1	POS
139	0	NEG	0	POS	0	NEG	0	POS	0	POS
133	0	POS	3	POS	0	NEG	0	POS	0	POS
152	0	POS	1	POS	1	NEG	0	POS	0	POS
145	1	POS	1	POS	1	POS	5	POS	2	POS

Tableau 2.4 : Résultats coproscopiques et ELISA du lot traité par le fenbendazole.

CHIENS	J4		J6		J11		J18		J19	
	COP	ELISA								
173	1	NEG	1	NEG	0	NEG	0	POS	10	POS
149	0	NEG	0	NEG	0	NEG	0	POS	1	POS
170	0	NEG	0	NEG	0	NEG	0	NEG	0	POS
129	1	POS	1	NEG	0	NEG	0	POS	2	POS
120	1	NEG	0	NEG	0	NEG	5	POS	4	POS
144	1	NEG	0	NEG	0	NEG	0	POS	5	POS

Tableau 2.5 : Résultats coproscopiques et ELISA du lot traité par le métronidazole associé à la spiramycine.

Annexe 3 : Tableaux de résultats statistiques (test du chi-deux).

J4	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Dolthène ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12
p=#DIV/0!			

J4	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Drontal P ND	3	3	6
TOTAL	9	3	12
p=0,04550 02			

J4	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Panacur ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12
p=0,29627 01			

J4	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Stomorgyl ND	4	2	6
TOTAL	10	2	12
p=0,12133 52			

J4	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	6	0	6
Drontal P ND	3	3	6
TOTAL	9	3	12
p=0,04550 02			

J4	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	6	0	6
Panacur ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12
p=0,29627 01			

J4	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	6	0	6
Stomorgyl ND	4	2	6
TOTAL	10	2	12
p=0,12133 52			

J4	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	3	3	6
Panacur ND	5	1	6
TOTAL	8	4	12
p=0,22067 14			

J4	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	3	3	6
Stomorgyl ND	4	2	6
TOTAL	7	5	12
p=0,55818 46			

J4	positif	négatif	TOTAL
Panacur ND	5	1	6
Stomorgyl ND	4	2	6
TOTAL	9	3	12
p=0,50498 50			

Résultats statistiques à J4.

P est la probabilité que la différence entre les résultats des deux lots ne soit pas due au hasard.
 #DIV/0! Signifie que le calcul n'est pas réalisable car le nombre de chiens négatifs est égal à 0 à la fois dans le lot témoin et le lot traité.

J6	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Dolthène ND	4	2	6
TOTAL	10	2	12

p=0,12133
52

J6	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Drontal P ND	4	2	6
TOTAL	10	2	12

p=0,12133
52

J6	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12

#DIV/0!

J6	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Stomorgyl ND	2	4	6
TOTAL	8	4	12

p=0,01430
58

J6	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	2	6
Drontal P ND	4	2	6
TOTAL	8	4	12

p=1

J6	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	2	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	10	2	12

p=0,12133
52

J6	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	2	6
Stomorgyl ND	2	4	6
TOTAL	6	6	12

p=0,24821
32

J6	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	4	2	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	10	2	12

p=0,12133
52

J6	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	4	2	6
Stomorgyl ND	2	4	6

J6	positif	négatif	TOTAL
Panacur ND	6	0	6
Stomorgyl ND	2	4	6

TOTAL	6	6	12
p=0,24821			
32			

TOTAL	8	4	12
p=0,01430			
58			

Résultats statistiques à J6.

J11	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Dolthène ND	5	0	5
TOTAL	11	0	11
#DIV/0!			

J11	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Drontal P ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12
#DIV/0!			

J11	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Panacur ND	3	3	6
TOTAL	9	3	12
p=0,04550			
02			

J11	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Stomorgyl ND	0	6	6
TOTAL	6	6	12
p=0,00053			
20			

J11	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Drontal P ND	6	0	6
TOTAL	11	0	11
#DIV/0!			

J11	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Panacur ND	3	3	6
TOTAL	8	3	11
p=0,06373			
20			

J11	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Stomorgyl ND	0	6	6
TOTAL	5	6	11

J11	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	6	0	6
Panacur ND	3	3	6
TOTAL	9	3	12

p=0,00091
11

p=0,04550
02

J11	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	6	0	6
Stomorgyl ND	0	6	6
TOTAL	6	6	12

p=0,00053
20

J11	positif	négatif	TOTAL
Panacur ND	3	3	6
Stomorgyl ND	0	6	6
TOTAL	8	4	12

p=0,00035
60

Résultats statistiques à J11.

J18	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Dolthène ND	4	1	5
TOTAL	10	1	11

p=0,25059
22

J18	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Drontal P ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J18	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12

#DIV/0!

J18	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Stomorgyl ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J18	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	1	5
Drontal P ND	5	1	6
TOTAL	9	2	11

p=0,88650

J18	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	1	5
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	10	1	11

p=0,25059

75

22

J18	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	4	1	5
Stomorgyl ND	5	1	6
TOTAL	9	2	11

p=0,88650
75

J18	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	5	1	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J18	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	5	1	6
Stomorgyl ND	5	1	6
TOTAL	10	2	12

p=1

J18	positif	négatif	TOTAL
Panacur ND	6	0	6
Stomorgyl ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

Résultats statistiques à J18.

J19	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Dolthène ND	5	0	5
TOTAL	11	0	11

#DIV/0!

J19	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Drontal P ND	5	1	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J19	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12

J19	positif	négatif	TOTAL
témoins	6	0	6
Stomorgyl ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12

#DIV/0!

#DIV/0!

J19	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Drontal P ND	5	1	6
TOTAL	10	1	11

p=0,33835
17

J19	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	11	0	11

#DIV/0!

J19	positif	négatif	TOTAL
Dolthène ND	5	0	5
Stomorgyl ND	6	0	6
TOTAL	11	0	11

#DIV/0!

J19	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	5	1	6
Panacur ND	6	0	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J19	positif	négatif	TOTAL
Drontal P ND	5	1	6
Stomorgyl ND	6	0	6
TOTAL	11	1	12

p=0,29627
01

J9	positif	négatif	TOTAL
Panacur ND	6	0	6
Stomorgyl ND	6	0	6
TOTAL	12	0	12

#DIV/0!

Résultats statistiques à J19.

Annexe 4 : Comparaison des techniques de diagnostic de la giardiose canine.

CHIENS	COP J-2	COPJ-1	COPJ0	COP J-2 et J-1	COP J-1 et J0	COP J-2 et J0	COP J-2 J-1 et J0	ELISA J-1	ELISA J0	ELISA J-1 et J0
130	0	1	0	1	1	0	1	POS	POS	POS

156	1	0	1	1	1	2	2	POS	POS	POS
141	4	0	3	4	3	7	7	POS	POS	POS
131	5	2	2	7	4	7	9	POS	POS	POS
151	15	8	0	23	8	15	23	POS	POS	POS
146	1	37	5	38	42	6	43	POS	POS	POS
148	0	1	1	1	2	1	2	NEG	NEG	NEG
138	1	0	1	1	1	2	2	POS	POS	POS
143	4	1	0	5	1	4	5	POS	POS	POS
164	0	7	0	7	7	0	7	POS	POS	POS
142	10	12	2	22	14	12	24	POS	POS	POS
119	2	0	90	2	90	92	92	POS	POS	POS
140	0	0	0	0	0	0	0	POS	POS	POS
122	0	0	3	0	3	3	3	POS	POS	POS
136	0	4	3	4	7	3	7	POS	POS	POS
147	0	1	7	1	8	7	8	POS	POS	POS
121	1	3	17	4	20	18	21	POS	POS	POS
126	22	1	1	23	2	23	24	POS	POS	POS
161	1	0	0	1	0	1	1	NEG	POS	POS
162	0	1	1	1	2	1	2	POS	POS	POS
139	2	1	1	3	2	3	4	POS	NEG	POS
133	0	2	8	2	10	8	10	POS	POS	POS
152	19	1	3	20	4	22	23	POS	POS	POS
145	1	49	17	50	66	18	67	POS	POS	POS
173	0	2	0	2	2	0	2	POS	POS	POS
149	0	2	1	2	3	1	3	POS	POS	POS
170	1	0	4	1	4	5	5	POS	POS	POS
129	0	4	4	4	8	4	8	POS	POS	POS
120	6	1	5	7	6	11	12	POS	POS	POS
144	138	1	2	139	3	140	141	POS	POS	POS

Tableau 4.1 : Résultats coproscopiques et ELISA avant traitement. Dans les colonnes « COP » figurent les nombres de kystes de *Giardia* comptés sur 10 champs au grossissement 400. (COP : coproscopie ; POS : positif ; NEG : négatif).

	Nombre de chiens positifs	Pourcentage de chiens positifs
3 COPROS	29	100
COPRO J-2	18	62,1
COPRO J-1	22	75,9

COPRO J0	23	79,3
MOYENNE	21	72,4
COPRO J-2 et J-1	28	96,6
COPRO J-1 et J0	28	96,6
COPRO J-2 et J0	26	89,7
MOYENNE	27,3	94,3

Tableau 4.2 : Comparaison de la sensibilité d'une, de deux et de trois coproscopies. (COPRO : coproscopie).

		3 COPROS		
ELISA J-1	POS	27	1	28
	NEG	2	0	2
Se=93%		29	1	

		3 COPROS		
ELISA J0	POS	27	1	28
	NEG	2	0	2
Se=93%		29	1	

		3 COPROS		
ELISA J-1 et J0	POS	28	1	29
	NEG	1	0	1
Se=96,5%		29	1	

Tableau 4.3 : Sensibilité de la technique ELISA. (COPROS : coproscopies ; POS : positifs ; NEG : négatifs, Se : sensibilité).

CHIENS	COP J18	COP J19	COP J18 et J19	ELISA J18	ELISA J19	ELISA J18 et J19
130	0	1	1	POS	POS	POS
156	1	0	1	POS	POS	POS
141	1	2	3	NEG	POS	POS
131	4	9	13	POS	POS	POS
151	1	11	12	POS	POS	POS
146	4	0	4	POS	POS	POS
148	1	1	2	POS	POS	POS

138	0	1	1	POS	POS	POS
143	1	1	2	POS	POS	POS
164	1	1	2	POS	POS	POS
142						
119	0	0	0	NEG	POS	POS
140	1	0	1	POS	POS	POS
122	0	0	0	POS	POS	POS
136	0	9	9	POS	POS	POS
147	0	4	4	POS	POS	POS
121	1	0	1	POS	POS	POS
126	0	0	0	NEG	NEG	NEG
161	1	1	2	POS	POS	POS
162	1	1	2	POS	POS	POS
139	0	0	0	POS	POS	POS
133	0	0	0	POS	POS	POS
152	0	0	0	POS	POS	POS
145	5	2	7	POS	POS	POS
173	0	10	10	POS	POS	POS
149	0	1	1	POS	POS	POS
170	0	0	0	NEG	POS	POS
129	0	2	2	POS	POS	POS
120	5	4	9	POS	POS	POS
144	0	5	5	POS	POS	POS

Tableau 4.4 : Résultats coproscopiques et ELISA à J18 et J19. Dans les colonnes « COP » figurent les nombres de kystes de *Giardia* comptés sur 10 champs au grossissement 400. (COP : coproscopie ; POS : positif ; NEG : négatif).

	Nombre de chiens positifs	Pourcentage de chiens positifs
2 COPROS	50	100
1 COPRO	36	72
1 COPRO	41	82
MOYENNE	38,5	77

Tableau 4.5 : Comparaison de la sensibilité d'une et de deux coproscopies. (COPRO : coproscopie).

		2 COPROS		
1 ELISA	POS	POS	NEG	53 6
	NEG	48	5	
Se=96%		2	9	
		50		

		2 COPROS		
1 ELISA	POS	POS	NEG	56 3
	NEG	48	8	
Se=96%		2	9	
		50		

		2 COPROS		
2 ELISA	POS	POS	NEG	57 2
	NEG	49	8	
Se=98%		1	9	
		50		

Tableau 4.6 : Sensibilité de la technique ELISA. (COPROS : coproscopies ; POS : positifs ; NEG : négatifs, Se : sensibilité).