

Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in Sakiz lambs

Tratamiento con dosis única con secnidazol en corderos naturalmente infectados con *Giardia duodenalis*

Kerem Ural,^{1*} Ph.D, Nuran Aysul,² Ph.D, Huseyin Voyvoda,¹ Ph.D, Bulent Ulutas,¹ Ph.D, Osman S. Aldemir,² Ph.D, Hasan Eren,² Ph.D.

¹University of Adnan Menderes, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, PK: 17, 09016, Isikli, Aydin, Turkey. ²Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Işıklı Mevki, 09016, Aydın, Turkey. *Corresponding: uralkerem@gmail.com

Received: June 2013; Accepted: November 2013.

ABSTRACT

Objective. The purposes of this study were to determine whether secnidazole administered at a single dose of 10 mg/kg, orally, lessens or eliminates *Giardia* cyst shedding, and to validate the benefit of secnidazole treatment on clinical signs and faecal consistency in lambs naturally infected with *Giardia duodenalis*. **Materials and methods.** To this extent weaned 12 weeks of age lambs were selected and randomly assigned into two groups based on placebo (group C, n=7 untreated control group) or treatment (group S, n=10 lambs treated with a single dose of secnidazole at 10 mg/kg). **Results.** On days 0 and 10, before and after treatment, respectively, reduction in cyst excretion was determined. The faecal consistency and general health were recorded at each sampling day. **Conclusions.** During the study there was a high (99.98%) reduction in cyst excretion in the secnidazol treatment group compared to the positive control group on day 10, resulting in a significant ($p<0.001$) reduction, making secnidazole highly effective treatment option.

Key words: Clinics, evaluation, lamb, secnidazol (Source: CAB).

RESUMEN

Objetivo. El objetivo de este estudio fue determinar si la administración oral de una dosis única de secnidazol de 10mg/kg reduce o elimina la presencia de quistes de *Giardia* y validar el beneficio del tratamiento con secnidazol en los signos clínicos y la consistencia fecal de corderos infectados naturalmente con *Giardia duodenalis*. **Materiales y métodos.** Se seleccionaron corderos destetados de 12 semanas de edad que fueron asignados al azar a dos grupos con base a placebo (grupo C, n=7, grupo de control sin tratar) o tratamiento (grupo S, n=10 corderos con tratamiento de dosis única de secnidazol de 10 mg/kg). **Resultados.** En los días 0 y 10, antes y después del tratamiento, respectivamente, se determinó una merma en la excreción de quistes. La consistencia de la materia fecal y el estado general de salud fue registrado en cada muestreo diario. **Conclusiones.** Durante el estudio hubo una alta reducción en la excreción de quistes (99.98%) en el grupo tratado con secnidazol comparado con el grupo control positivo en el día 10, resultando en una disminución significativa ($p<0.001$), haciendo del tratamiento con secnidazol una opción altamente efectiva.

Palabras clave: Evaluación, clinica, cordero, secnidazol, (Fuente: CAB).

INTRODUCCIÓN

La *Giardia duodenalis* (*G. lamblia* and *G. intestinalis*) es el parásito intestinal más comúnmente diagnosticado en seres humanos y especies de animales en todo el mundo. Se sugiere que anualmente se presentan 2.5 millones de casos humanos relacionados con giardiasis en los Estados Unidos (1). La giardiasis también se presenta comúnmente en rumiantes. La prevalencia de la infección de *G. duodenalis* en el ganado puede presentar tasas del 9 al 38% en ovejas adultas (2-4) y del 68% en corderos (5). Las tasas de prevalencia en animales y humanos son a menudo subestimadas debido a la baja sensibilidad de algunos métodos de detección del parásito y la excreción intermitente de quistes. En Turquía, la prevalencia real de la giardiasis en el ganado ovino sigue siendo poco clara con relativamente pocos estudios que indican un 36.6% (6) y 48.48% (7).

Entre las especies de *Giardia* morfológicamente definidas, *Giardia agilis*, *G. microti*, *G. muris*, *G. psicatti* y *G. duodenalis*, sólo el último infecta a los seres humanos y a la mayoría de mamíferos domésticos y salvajes (8). El espectro de la infección de *Giardia* varía desde la presentación asintomática de quistes de *Giardia* a giardiasis sintomática. La infección resultante de la *G. duodenalis* puede causar pérdida de la función de la barrera epitelial, atrofia de las vellosidades y hiperplasia de las criptas del intestino delgado (9, 10). Los resultados muestran que la infección y las alteraciones patológicas relacionadas con pueden ocasionar diarrea intermitente y mucosa (10), en la combinación de malabsorción intestinal e hipersecreción (11). Aunque la enfermedad clínica manifiesta carece de las alteraciones patológicas en asociación con el sistema gastrointestinal, puede por lo tanto resultar en una disminución de peso y una eficacia alterada de la alimentación (3,12). Los animales jóvenes son más propensos a desarrollar síntomas clínicos especialmente aquellos que se encuentran tensionados o inmunocomprometidos (8-11).

La *Giardia duodenalis* se ha establecido como zoonosis en base a similitudes morfológicas y bioquímicas entre animales y humanos aislados así como en exámenes cruzados de infección. Por lo tanto los animales de compañía y sacrificio pueden tener el potencial de infectar a los seres humanos a través de transmisión por el agua o el contacto directo con heces contaminadas (13, 14). A pesar de la falta evidencia convincente que relacione la contaminación de fuentes de agua por ovinos con brotes de *Giardia*, los rebaños de ovejas son considerados como una amenaza potencial (14). En este sentido, los rumiantes pequeños se proponen como un reservorio de para la infección humana (2, 14). Todos los animales infectados con giardiasis

INTRODUCTION

Giardia duodenalis (*G. lamblia* and *G. intestinalis*) is the most commonly diagnosed intestinal parasite of humans and livestock species worldwide. It is suggested that 2.5 million human cases of giardiasis exist annually in the United States (1). Giardiasis also occur commonly in ruminants. The prevalence of *G. duodenalis* infection in livestock may present rates from 9 to 38% in adult sheep (2-4) and 68% in lambs (5). Prevalence rates in both humans and animals are often underestimated through the low sensitivity of some parasite detection methods and the intermittent cyst excretion. In Turkey, the real prevalence of giardiasis in sheep remains unclear with relatively few studies indicating 36.6% (6) and 48.48% (7).

Among the morphologically defined *Giardia* species, *Giardia agilis*, *G. microti*, *G. muris*, *G. psicatti* and *G. duodenalis*, only the latter infects humans and most domestic and wild mammals (8). The spectrum of *Giardia* infection vary from asymptomatic shedding of giardial cysts to symptomatic giardiasis. The infection resulted from *G. duodenalis* may cause epithelial barrier function loss, villus atrophy and crypt hyperplasia in the small intestine (9, 10). Findings presented that infection and related pathological alterations may result in intermittent and mucous diarrhea (10), within the combination of intestinal malabsorption and hypersecretion (11). Even if overt clinical disease is lacking the pathological alterations in association with the gastrointestinal system may consequently result in a declined weight gain and to an altered feed efficiency (3,12). Young animals are most likely to develop clinical symptoms especially those stressed or immunocompromised (8-11).

Giardia duodenalis has established itself as zoonoses based upon biochemical and morphological similarities among animal and human isolates as well as cross infection surveys. Thus companion and food animals may have the potential to infect humans either through waterborne transmission or direct contact with contaminated feces (13, 14). Albeit the lack of strong evidence connecting contamination of water supplies by sheep with *Giardia* outbreaks, sheep flocks are considered as a potential threat (14). In this sense, small ruminants are suggested as a reservoir for human infections (2, 14). All animals infected with giardiasis should therefore promptly treated whether presenting clinical signs or not, because of potential source of infection for humans or other animals (9).

deben por lo tanto ser tratados rápidamente ya sea que presenten signos clínicos o no, debido a la potencial fuente de infección para los seres humanos u otros animales (9).

El tratamiento tradicional contra la giardiasis en seres humanos incluye el uso de 5-nitroimidazoles como metronidazol, tinidazol y ornidazol, que a pesar de ser una terapia efectiva en poblaciones con prevalencias altas, puede consistir del uso de una dosis oral única del medicamento que posee una baja toxicidad y relativamente pocos efectos secundarios (15), por ejemplo podría ser proporcionada mediante secnidazol (15-17). Al igual que en los exámenes entre seres humanos, se obtuvo una tasa de erradicación parasitológica del 100% después del tratamiento con una dosis única de secnidazol en gatos infectados con *G. duodenalis* (18). Actualmente ningún medicamento está autorizado o aprobado por la FDA para el tratamiento de la giardiasis en rumiantes. El Fenbendazol (9,19) y albendazol (20) tuvieron como resultado un beneficio clínico en corderos y ovejas tratadas. Además, se encontró que la paromomicina es efectiva en corderos (21). Sin embargo, el fenbendazol y albendazol requieren de múltiples dosis y la paromomicina es costosa. Ya que los datos sobre la eficacia del tratamiento contra la giardiasis en ovejas se basan en estudios limitados y ya conocidos, además de los casos refractarios al tratamiento tradicional existe la necesidad de evaluar regímenes de tratamientos novedosos con precios razonables. El propósito de este estudio fue evaluar la eficacia de una dosis única de secnidazol en corderos infectados naturalmente con *G. duodenalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales, alojamiento y cría. Un tamaño de muestra de un total de 17 corderos Sakiz de 12 semanas de edad que fueron comprados a un proveedor comercial nacional, donde fueron agrupados y ubicados en heno como lecho. Durante el período de asignación (10 días) todos los corderos fueron evaluados dos veces con un intervalo de 10 días para confirmar la presencia/ausencia de quistes de *G. duodenalis* y ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en las heces. Todos los animales fueron previamente tratados profilácticamente con toltrazuril (Cevazuril® Ceva-Vet, 20 mg/kg peso corporal) para prevenir la coccidiosis. Antes de la prueba, el alojamiento fue limpiado y desinfectado con un producto que contiene amonio cuaternario para la eliminación de la posible contaminación ambiental existente. Por un periodo de 10 días de duración se agregó paja al lecho de los corrales. Además se tomaron medidas estrictas para evitar la contaminación cruzada entre ambos grupos experimentales. Todos los corderos recibieron

The traditional anti-Giardial treatment in humans includes the usage of 5-nitroimidazoles such as metronidazole, tinidazole and ornidazole, albeit effective therapy among populations with high prevalences, may be conformed by the usage of single oral dose drug possessing low toxicity and relatively few side effects (15), for instance might be provided by secnidazole (15-17). Similar to surveys among humans, parasitological eradication rate of 100% was obtained after single-dose treatment with secnidazole in cats infected with *G. duodenalis* (18). Currently no drug is licensed or FDA approved for the treatment of giardiasis in ruminants. Fenbendazole (9,19) and albendazole (20) resulted in a clinical benefit in treated lambs and sheep. Furthermore, paromomycin was found to be effective in lambs (21). However, fenbendazole and albendazole require multiple doses, and paramomycin is expensive. As data on the efficacy of anti-Giardial treatment in sheep involves limited and aforementioned studies, besides cases refractory to traditional treatment there is a need to evaluate novel and reasonably priced treatment regimens. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of a single dose of secnidazole in lambs naturally infected with *G. duodenalis*.

MATERIALS AND METHODS

Animals, housing and husbandry. A sample size of a total of 17 Sakiz lambs at the age of 12 weeks were purchased from a national commercial vendor, where they were group housed on hay as contact bedding. During the allocation period (10 days) all lambs were screened twice with a 10 days interval to confirm the presence/absence of *G. duodenalis* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts in the faeces. All animals were previously treated prophylactically with toltrazuril (Cevazuril® Ceva-Vet, 20 mg/kg bodyweight) to prevent coccidiosis. Prior to the trial, the housing was cleaned and disinfected with a product containing quaternary ammonium for elimination of probable existing environmental contamination. For 10 days duration straw bedding was added to the pens. In addition strict measures were performed to prevent cross-contamination between both experimental groups. All lambs received commercial lamb flakes, to ensure equivalent diets. Water and hay was provided *ad libitum* throughout the study period. Ethical guidelines were taken into consideration for enrollment into the groups.

hojuelas comerciales para cordero, para asegurar dietas equivalentes. Se proporcionó agua y heno *ad libitum* durante todo el período de estudio. Se tomaron en consideración guías éticas para la asignación de los grupos.

Flotación de materia fecal y examen microscópico de las muestras de heces. El día 0 (D0) previo al tratamiento fue designado como el tratamiento inicial de la prueba. Se tomaron muestras de cada cordero en 2 ocasiones y fueron designadas como D0 o día 10 (D10) (después del tratamiento). Las muestras fecales (aprox. 10 g) fueron recolectadas en D0 manualmente del recto de todos los corderos participantes y fueron enviadas de inmediato al Departamento de Parasitología para flotación fecal. Se mezcló la materia fecal con 15 ml de una solución de ZnSO₄ al 33% (p/v) que fue filtrada en tubos de centrifuga, que luego fueron centrifugados a 880 x *g* durante 5 minutos como se anotó anteriormente (5). Tras la centrifugación, una muestra pequeña de la solución de la mezcla fecal fue recogida y colocada sobre un portaobjetos y cubiertas con Lugol. El portaobjetos fue examinado con una ampliación de 40x para detectar la presencia de quistes de *Giardia*. La última prueba se repitió 2 veces a partir de diferentes muestras para cada cordero recogidas en el día 0 por un solo investigador a ciegas. Para participar en el presente estudio se demostró una monoinfección con *G. doudenalis* únicamente por medio de muestras fecales microscópicas según lo reportado anteriormente por Escobedo et al (17).

Criterios clínicos. Se registraron los datos sobre la salud general y la consistencia de la materia fecal antes y después del tratamiento. La consistencia fecal fue examinada por la forma descrita por Le Jambre et al (22) y similar a Geurden et al (9).

Evaluación de la eficacia del tratamiento. La eficacia del tratamiento con secnidazol en el presente estudio fue evaluada mediante el examen microscópico de muestras fecales recolectadas en D0 y D10 (después de la finalización del tratamiento), con el fin de evitar el sesgo que sería introducido por una reinfección y medida en base a la reducción de la excreción de quistes para el grupo de tratamiento en comparación con los del grupo de control. La reducción en la excreción de quistes fue calculada mediante la fórmula de Henderson-Tilton (23), que involucra la media geométrica del recuento de quistes similar a Geurden et al (9):

$$100 \times \left[1 - \frac{Ta \times Cb}{Tb \times Ca} \right]$$

Ta y Tb representan la media geométrica del recuento de quistes en el grupo de tratamiento

Fecal flotation and microscopic examination of fecal samples. Pretreatment day 0 (D0) was designated as the initial treatment of the trial. Collections from each lamb were obtained on 2 occasions and were designated either D0 or day 10 (D10) (after treatment). Fecal samples (approximately 10 g) were collected on D0 manually from the rectum of all lambs involved and were submitted immediately to Department of Parasitology for fecal flotation. Fecal material was mixed with 15 ml of 33% (w/v) ZnSO₄ solution and strained onto centrifuge tubes, which then was spinned in centrifuge at 880 x *g* for 5 minutes as reported previously (5). Following centrifugation, a small sample of the fecal mixture solution was collected and placed on a microscope slide involving Lugol iodine, which was covered by a slip. The slide was examined 40x power for the presence of *Giardia* cysts. The latter test was repeated for 2 times from different samples for each lamb collected on day 0 by a single blinded researcher. For enrollment in the present study mono infection with *G. doudenalis* was proven only by microscopical fecal samples as reported previously by Escobedo et al (17).

Clinical criteria. Data on general health and faecal consistency were recorded before and after treatment. The faecal consistency was scored as previously described by Le Jambre et al (22), and similar to that of Geurden et al (9).

Assessment of efficacy of treatment. Secnidazole treatment efficacy in the present study was assessed by microscopic examination of fecal samples collected on D0 and D10 (after treatment completion), in order to avoid the bias that would be introduced by reinfection, and measured based on the reduction in cyst excretion for treatment group compared to those of control group. The reduction in cyst excretion was calculated using the Henderson-Tilton formula (23), involving geometric mean cyst counts similar to those of Geurden et al (9):

$$100 \times \left[1 - \frac{Ta \times Cb}{Tb \times Ca} \right]$$

Ta and Tb; represented the geometric mean cyst count in the secnidazole treatment group before and after treatment, respectively; where as Ca and Cb; the geometric mean cyst count in the control animals before and after treatment (24).

The Henderson-Tilton formula is considered as the most appropriate method as described and used previously by Geurden et al (9).

con secnidazol antes y después del tratamiento, respectivamente; mientras que Ca y Cb representan la media geométrica del recuento de quistes en los animales de control antes y después del tratamiento (24).

La fórmula de Henderson-Tilton es considerada como el método más apropiado de acuerdo con lo que ha sido descrito y utilizado previamente por Geurden et al (9).

Análisis estadístico. Se realizaron análisis estadísticos utilizando el paquete estadístico SPSS (versión 13; SPSS Inc., Chicago, IL). La distribución normal de los resultados de los recuentos de quistes fecales en los grupos de control y de tratamiento fue comprobada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El recuento de quistes fecales no tuvo una distribución normal; por lo tanto, los datos del conteo de quistes fecales fueron transformados a una función logarítmica para lograr una distribución casi normal. Se realizó una prueba t de muestras independiente para comparar los recuentos de quistes fecales antes (D0) y 10 días después del inicio del tratamiento (D10) entre los grupos. Se realizaron comparaciones dentro de cada uno de los grupos con el valor base de quistes determinado mediante la prueba de t para medidas dependientes. Se consideró que la probabilidad ($p < 0.05$) obtenida indica una diferencia significativa. Los datos resumidos se presentan como una media geométrica y un rango.

RESULTADOS

Manejo de los animales y aplicaciones del tratamiento. No se detectaron reacciones observables y significativas adversas al tratamiento con secnidazol en este estudio. Todos los corderos involucrados se encontraban en buenas condiciones generales de salud. Todos los corderos en ambos grupos presentaron signos clínicos compatibles con la *Giardiosis* adquirida naturalmente, los cuales incluyeron diarrea. No se encontró ninguna infección de *Cryptosporidium* ni coccidiosis en ninguno de los animales que participaron durante todo el período de estudio. Diecisiete corderos Sakiz de 12 semanas de edad, de ambos sexos, que tuvieron resultados positivos cuando fueron examinados mediante un microscópico para detectar *G. duodenalis*, fueron distribuidos en dos grupos. Siete corderos fueron asignados aleatoriamente al grupo control positivo (grupo C), teniendo en cuenta pautas éticas y los consentimientos escritos de sus propietarios. Los corderos restantes ($n=10$) fueron asignados al grupo con el tratamiento con secnidazol (grupo S), a los cuales se les administró el fármaco anterior (Flagentyl® Eczacıbaşı, tabletas de 500 mg) en una dosis oral única de 10 mg/kg. Debido a las preocupaciones éticas y el valor comercial

Statistical analysis. Statistical analyses were performed using the SPSS statistical software package (version 13; SPSS Inc., Chicago, IL). The results for faecal cyst counts in both control and treatment groups were tested for normality using the Kolmogorov-Smirnov test. The faecal cyst count was not normally distributed; therefore, the data on faecal cyst count were log-transformed to achieve near-normality. An independent-samples t test was conducted to compare faecal cyst counts before (D0) and 10 days after the start of treatment (D10) between the groups. Within-group comparisons with baseline cyst value were made using t test for dependent measures. Probability ($p < 0.05$) was considered to indicate a significant difference. Summarized data were presented as geometric mean and range.

RESULTS

Animal management and treatment applications. No observable and significant adverse reactions to secnidazole treatment were detected in the present study. All involved lambs were in good general health condition. All lambs in both groups had clinical signs compatible with naturally occurring *Giardiosis*, involving diarrhea. No *Cryptosporidium* and nor coccidiosis infection were found in any of the animals enrolled throughout the study period. Seventeen Sakiz lambs at the age of 12 weeks, of both sexes, that tested microscopically positive for *G. duodenalis*, were allocated into two groups. Seven lambs were randomly assigned to the positive control group (group C), with taking into account the ethical guidelines and written owners consent. The remaining lambs ($n=10$) were enrolled in secnidazole group (group S), receiving the latter drug (Flagentyl® Eczacıbaşı, 500 mg tablets) at a single dosage of 10 mg/kg perorally. Due to ethical concerns and commercial value of the lambs, only a limited number of animals served as controls. Albeit at the end of the study all positive control animals were also treated with secnidazol at the same dosage to the previously treated animals.

Cyst excretion. The results of the cyst counts were presented in table 1. Throughout the study period lambs in control group C remained positive, besides 5 out of 7 lambs presented an increase in cyst counts on day 10 (ranged 340-47600) compared to the initial values (ranged between 1000-39500), albeit there was no statistical significance. On day 10, after secnidazol treatment, the percentage reduction in cyst excretion calculated based on geometric

de los corderos, únicamente un número limitado de animales fueron asignados al grupo de control. Aunque al final del estudio todos los animales del grupo control positivo fueron tratados también con secnidazol en la misma dosis que los animales tratados anteriormente.

Excreción de quistes. Los resultados de los recuentos de quistes se presentan en la Tabla 1. Durante el período de estudio, los corderos en el grupo de control C permanecieron como positivos, además 5 de 7 corderos presentaron un aumento en el recuento de quistes en el día 10 (intervalo de 340-47.600) en comparación con los valores iniciales (variación de 1.000-39.500), aunque no hubo significación estadística. El día 10, después del tratamiento con secnidazol, la reducción porcentual en la excreción de quistes calculada en base a la media geométrica fue sorprendentemente alta con el 99.98%. Para el grupo S la media geométrica para la excreción de quistes fue significativamente menor ($p < 0.001$) después del tratamiento.

Resultados de la calificación fecal. La consistencia de la materia fecal fue elevada en aproximadamente la mayoría de los animales y 15 de 17 corderos tuvieron una calificación de 2 o 3 fecal en un solo día de muestreo 0, mientras que en el día 10 todos los corderos tratados tuvieron una consistencia fecal normal (calificación 1).

DISCUSIÓN

A pesar del reconocimiento de la giardiasis como un patógeno intestinal significativo en seres humanos, relativamente pocas opciones, específicamente derivados del nitroimidazol, están disponibles comercialmente como terapia (25). Por un largo periodo de tiempo, los compuestos de 5-nitroimidazol (metronidazol y otros), son la primera opción de tratamiento contra la giardiasis y son utilizados más ampliamente aun (25,26). Aunque su eficacia parcial y los casos refractarios a las aplicaciones de terapia dentro de los compuestos anteriores se están volviendo comunes (27). Claramente existe una necesidad de evaluar opciones de tratamientos novedosos tanto en seres humanos y en campos veterinarios de animales pequeños y grandes.

Los derivados del nitroimidazol, especialmente la segunda generación como el secnidazol, son efectivos en una sola dosis y han demostrado ser efectivos y baratos (25). El secnidazol se encuentra relacionado con los 5-nitroimidazoles utilizados. Los medicamentos anteriores son activos contra microorganismos anaerobios y son eficaces para el tratamiento de la giardiasis. (28). El secnidazol se absorbe rápida y completamente después de ser administrado por vía oral y tiene una

Table 1. The *Giardia duodenalis* cyst excretion in the control (Group C) and in the secnidazole treated (Group S) groups at each sampling day (before treatment [day 0] and after treatment [day 10]): the geometric mean (geomean) (X_g) was presented and the percentage reduction calculated based on geometric mean. The values at day 0 were cyst excretion prior to treatment.

| | D0 | | D10 | |
|--|------------------------|------------|------------------------|-----------|
| | X_g | Range | X_g | Range |
| Group C | 11947.854 ^a | 1000-39500 | 13175.021 ^a | 340-47600 |
| Group S | 10676.056 ^a | 800-35200 | 1.47876 ^b | 0-50 |
| Reduction in cyst excretion (%) | | | | 99.98% |

*Different letters among parameters at the same columns and rows indicated statistically significant difference ($p < 0.001$).

mean was surprisingly very high as 99.98%. For group S geometric mean for cyst excretion was significantly decreased ($p < 0.001$) after treatment.

Faecal scoring results. The faecal consistency was high in approximately most of the animals and 15 out of 17 lambs had a fecal score of 2 or 3 on a single sampling day 0, whilst on day 10 all treated lambs had normal faecal consistency (score 1).

DISCUSSION

Despite the recognition of giardiasis as a significant human intestinal pathogen, relatively few options, specifically nitroimidazole derivatives are commercially available for therapy (25). For a long while, 5-nitroimidazole compounds, (metronidazole and other ones), are first line anti-Giardial treatment choice and are still been widely using (25,26). Albeit their partial efficacy, cases refractory to therapy applications within the latter compounds are becoming common (27). There is clearly a need for evaluating novel treatment options both in humanbeing and for small and large animal veterinary fields.

Nitroimidazole derivatives, especially the second generation such as secnidazole, is effective in a single dose, and have proven to be efficacious and inexpensive (25). Secnidazole is related to the commonly used 5-nitroimidazoles. The latter drugs present an activity against anaerobic microorganisms and are effective for the treatment of giardiasis. (28). Secnidazole is rapidly and completely absorbed after oral administration

vida media de eliminación terminal mayor (aproximadamente de 17 a 29 horas) que los medicamentos utilizados comúnmente en esta clase (28,29). Se comercializa para el tratamiento de la giardiasis en los seres humanos. Tiene la ventaja de poder ser administrado en una dosis única con efectos curativos demostrados. La terapia contra la giardiasis con secnidazol ha sido objeto de varios artículos de investigación en seres humanos (15-17).

Un brote de giardiasis fue detectado en ovejas en Italia, mientras que los corderos infectados con una edad de 30 a 90 días presentaron síndrome de malabsorción con una disminución de peso y deterioro en la eficiencia de alimentación con excreción de heces malolientes y mal formadas. La terapia con fenbendazol en una dosis de 10 mg/kg durante 3 días consecutivos tuvo como resultado la desaparición exitosa de la infección (19). En un estudio previo que evaluó la eficacia del fenbendazol en una dosis de 15 mg/kg/día durante 3 días consecutivos en corderos infectados experimentalmente con giardiasis, hubo una alta ($\geq 97.8\%$) y continua reducción en la excreción de quistes en el grupo de tratamiento en comparación con el grupo control positivo (placebo) durante 12 días, resultando en una reducción significativa ($p < 0.001$) de la excreción de quistes acumulados (9). El tratamiento con albendazol fue objeto de otra prueba en ovejas con infección de *Giardia sp.* en 2 diferentes grupos de animales con 10 y 20 mg/kg de albendazol durante 3 días consecutivos, en el cual las eficacias de albendazol en una dosis de 10 y 20 mg/kg en ovejas fueron del 58.8% y del 100%, respectivamente 20 días después del tratamiento (20). En un estudio reciente con corderos infectados naturalmente con *Giardia* en Turquía, se comparó la eficacia terapéutica de 20 mg de albendazol, 50 mg y 100 mg de paromomicina (kg peso corporal por vía oral) por 3 días consecutivos. De acuerdo a los resultados de este estudio, la paromomicina pareció ser más efectiva que el albendazole para el tratamiento (21).

De acuerdo con conocimiento de estos autores, la alta eficacia de una dosis única de 10 mg/kg en un tratamiento oral con secnidazol en contra de giardiasis adquirida naturalmente en corderos ha sido demostrada por primera vez. En el presente estudio clínico, el secnidazol fue tolerado de forma adecuada, sin efectos gastrointestinales adversos evidentes, por lo tanto no requirió la intervención en el tratamiento o el retiro del tratamiento. La evidencia disponible sugiere que el secnidazol puede ser eficaz como otros medicamentos 5-nitroimidazoles en el tratamiento de la giardiasis en corderos.

and has a longer terminal elimination half-life (approximately 17 to 29 hours) than commonly used drugs in this class (28,29). It is commercialized for the treatment of giardiasis in humans. It has the advantage to be administered in a single dose with sound curative effects. Anti-Giardial therapy within secnidazole has been the subject of various research articles in humanbeing (15-17).

An outbreak of giardiasis was detected among sheep in Italy, whereas infected lambs at the age of 30–90 days presented malabsorption syndrome with decreased weight gain and impairment in feed efficiency within the excretion of malodorous and poorly formed faeces. Therapy with fenbendazole at a dose of 10 mg/kg for 3 consecutive days resulted in successful clearance of the infection (19). In a prior study evaluating the efficacy of fenbendazole at 15 mg/kg/day during 3 consecutive days in lambs experimentally infected with giardiasis, there was a high ($\geq 97.8\%$) and continuous reduction in cyst excretion in the treatment group compared to the positive control group (placebo) for 12 days, resulting in a significant ($p < 0.001$) reduction of the cumulative cyst excretion (9). Albendazole treatment was the subject of another trial in sheep with *Giardia sp.* infection at 2 different groups of animals with 10 and 20 mg/kg albendazole for 3 consecutive days, in which the efficacies of 10 mg/kg and 20mg/kg albendazole on sheep were 58.8% and 100%, respectively after 20 days posttreatment (20). In a recent trial lambs with naturally occurring *Giardia* infection in Turkey, the therapeutic efficacy of 20 mg albendazole, 50 mg and 100 mg paromomycin (kg body weight orally) for 3 consecutive days were compared. According to the results of that study paromomycin appeared to be more effective than albendazole for the treatment (21).

To the present authors' knowledge the high efficacy of a single dose of an oral treatment with secnidazole at 10 mg/kg against naturally occurring giardiasis in lambs has been demonstrated for the first time. In the present clinical trial, secnidazole was well tolerated, no adverse events were evident within gastrointestinal in nature, thus did not require treatment intervention or withdrawal from therapy. Available evidence suggested that secnidazole may be efficacious as other 5-nitroimidazole drugs in the treatment of giardiasis in lambs.

La eficacia del secnidazol en corderos es comparable con aquella descrita en gatos infectados naturalmente con giardiasis, en los cuales una única dosis oral de 30 mg/kg produjo una eficacia del 100%, ya que no se encontraron quistes en las heces después del tratamiento (18). En el presente estudio, el tratamiento con secnidazole redujo significativamente la excreción de quistes calculada en base a la media geométrica en un 99.98% el día 10 después del inicio del tratamiento, lo tiene como resultado una reducción significativa ($p < 0.001$) en la excreción de quistes en el grupo tratado con secnidazol. De igual manera en otra especie parásita de protozoo ciliado, la infección de *Balantidium coli* en ganado en Pakistán fue tratada con secnidazol en una dosis vía oral de 10 mg/kg con una eficacia final del 87.5%, convirtiéndolo en la opción más efectiva a diferencia del metronidazol o la oxitetraciclina en ese estudio (30). La conveniencia y facilidad de administración asociada con el tratamiento de dosis única, combinado con un buen perfil de tolerabilidad, hacen del secnidazol una opción adecuada y una alternativa atractiva, además de probablemente superior a los regímenes de dosis múltiples con otros derivados del nitroimidazol.

Dada la eficacia del secnidazol (ya que tuvo como resultado una excreción significativamente menor de quistes) en un tratamiento de una sola dosis para infecciones de *Giardia* adquiridas naturalmente entre los corderos Sakiz involucrados en el presente estudio, se recomienda el uso de este medicamento. La alta reducción de quistes del secnidazol en contra de la *G. duodenalis* puede ofrecer un beneficio importante en un ambiente clínico donde un diagnóstico específico es imposible o poco práctico, así como la condición de los animales. La disponibilidad de este medicamento económico, el costo (aproximadamente 2,2 dólares por cordero por terapia) y la disponibilidad de oportunidades de mercado han sido impedimentos importantes para el uso de este medicamento antiparasitario en contra de la giardiasis en ovinos.

The efficacy of secnidazole in lambs is comparable to what has been described in cats naturally infected with giardiasis, in which an oral single dose of 30 mg/kg resulted in 100 % efficacy, as no cysts were found in faeces after treatment (18). In the present study secnidazole treatment significantly reduced the cyst excretion calculated based on geometric mean by 99.98% on day 10 after the start of the treatment, resulting in a significant reduction ($p < 0.001$) in cyst excretion in secnidazole treatment group. Similarly in another parasitic species of ciliate protozoan, *Balantidium coli* infection cattle in Pakistan were treated with secnidazole at a dosage of 10 mg/kg perorally with a final efficacy of 87.5%, making it the most effective choice in contrast to metronidazole or oxytetracycline in that study (30). The convenience and ease of administration associated with single-dose therapy, combined with a good tolerability profile, make secnidazole a suitable option and an attractive, besides probably superior alternative to multiple dosage regimens with other nitroimidazole derivatives.

Given the efficacy of secnidazole (as it resulted in a significantly decreased cyst excretion) as a single dose for treatment of naturally occurring *Giardia* infection among Sakiz lambs involved in the present study, the usage of this of drug should be encouraged. The high cyst reducing activity of secnidazol against *G. duodenalis* may provide an important benefit in a clinical setting where a specific diagnosis is impossible or impractical, likewise livestock field condition. The availability of this inexpensive drug, the cost (approximately 2.2 dollars per a lamb for therapy) and the easily availability for market opportunity have been significant impediments for usage of this antiparasitic drug against giardiasis in sheep.

REFERENCES

1. Furness BW, Beach MJ, Roberts JM. Giardiasis surveillance - United States, 1992-1997. Morbidity and Mortality weekly Report (MMWR) 2000; 49(SS07):1-13.
2. Geurden T, Vercruyssen J, Claerebout E. Is giardia a significant pathogen in production animals?. Exp Parasitol 2009; 124:98-106.
3. Olson ME, McAllister TA, Deselliers L, Morck DW, Cheng KJ, Buret AG, Ceri H. Effects of Giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. Am J Vet Res 1995; 56:1470-1474.
4. Ryan UM, Bath C, Robertson I, Read C, Elliot A, McInnes L, Traub R, Besier B. Sheep may not be an important zoonotic reservoir for Cryptosporidium and Giardia parasites. Appl Environ Microbiol 2005; 71:4992-4997.

5. Wilson JM, Hankenson FC. Evaluation of an inhouse rapid ELISA test for detection of *Giardia* in domestic sheep (*Ovis aries*). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2009; 49(6):809-813.
6. Ozmen O, Yukari BA, Haligur M, Sahinduran S. Observations and immunohistochemical detection of coronavirus, cryptosporidium parvum and giardia intestinalis in neonatal diarrhoea in lambs and kids. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2006; 148:357-364.
7. Ozdal N, Tanritanir P, Goz Y, Deger S, Kozat S. Parasitic protozoans (*Eimeria*, *Giardia*, and *Cryptosporidium*) in lambs with diarrhoea in the Van Province (Turkey). *Bull Vet Inst Pulawy* 2009; 53:47-51.
8. van der Giessena JWB, de Vriese A, Roosa M, Wielingaa P, Kortbeekb LM, Mankc TG. Genotyping of *Giardia* in Dutch patients and animals: A phylogenetic analysis of human and animal isolates. *Int J Parasitol* 2006; 36(7):849-858.
9. Geurden T, Pohleb H, Sarrea C, Dreesena L, Vercruyssa J, Claerebouta E. The efficacy of a treatment with fenbendazole against an experimental *Giardia duodenalis* infection in lambs. *Small Rum Res* 2011; 96(2-3):211-215.
10. Ruest N, Couture Y, Faubert GM, Girard C. Morphological changes in the jejunum of calves naturally infected with *giardia* spp. and *cryptosporidium* spp. *Vet Parasitol* 1997; 69:177-186.
11. Buret AG. Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasite* 2008; 15(3):261-265.
12. Sweeny JP, Jacobson C, Robertson I, Ryan UM. Carcass productivity consequences of trichostrongylid and protozoan parasites in Merino x Suffolk prime lambs in the South West of Western Australia. Conference proceedings: Melbourne, Australia: The International Congress of parasitology (ICOPA); 2010.
13. Gaydos J. *Giardia* and Wildlife South Coop Wild Dis St Br 1998; 14:2.
14. Robertson LJ. *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in sheep and goats: A review of the potential for transmission to humans via environmental contamination. *Epidemiol Infect* 2009; 137:913-921.
15. Di Prisco MC, Jiménez JC, Rodríguez N, Costa V, Villamizar J, Silvera A, Carrillo M, Lira C, Zerpa E, López Y. Clinical trial with secnidazole in a single dose in venezuelan children infected by *Giardia intestinalis*. *Invest Clin* 2000; 41:179-188.
16. Almirall P, Escobedo AA, Ayala I, Alfonso M, Salazar Y, Cañete R, et al. Mebendazole compared with secnidazole in the treatment of adult giardiasis: A randomised, non-inferiority, open clinical trial. *J Parasitol Res* 2011; 1-6. doi:10.1155/2011/636857.
17. Escobedo AA, Canete R, Gonzalez ME, Pareja A, Cimerman S, Almirall P. Randomized trial comparing mebendazole and secnidazole for the treatment of giardiasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97(5): 499-504.
18. DaSilva AS, Castro VSP, Tonin AA, Brendler S, Costa MM, Jaques JA, Bertolotti B, Zanette RA, Raiser AG, Mazzanti CM, Lopes STA, Monteiro SG. Secnidazole for the treatment of giardiasis in naturally infected cats. *Parasitol Int* 2011; 60(4):429-432.
19. Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G, Cacciò M S, Pozio E. Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. *Vet Parasitol* 2006; 142(1-2):154-158.
20. Mohammed BA. Efficacy of albendazole with two different doses for the treatment of giardiasis in domestic ruminants. *Iraq J Vet Sci* 2006; 20(2):265-282.
21. Albay MK, Sahinduran S, Adanir R, Yukari BA, Kose O. Efficacy of albendazole and two different doses of paromomycin for treatment of naturally occurring giardia infection in lambs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17:1021-1024.
22. Le Jambre LF, Dominika S, Eadya SJ, Henshalla JM, Colditza IG. Adjusting worm egg counts for faecal moisture in sheep. *Vet Parasitol* 2007; 145:108-115.
23. Henderson CF, Tilton EW. Tests with acaricides against the brown wheat mite *J Econ Entomol* 1955; 48:157-161.
24. Presidente PJA. Resistance in nematodes to anthelmintic drugs. Australia: CSIRO Division of Animal Health Australian Wool Corporation; 1985.

25. Rossignol JF. Cryptosporidium and Giardia: Treatment options and prospects for new drugs. *Exp Parasitol* 2010; 124:45-53.
26. Busatti HGNO, Santos JFG, Gomes MA. The old and new therapeutic approaches to the treatment of giardiasis: Where are we? *Biologics* 2009; 3:273-287.
27. Nash TE, Ohi CA, Thomas E, Subramanian G, Keiser P, Moore TA. Treatment of Patients with Refractory Giardiasis. *Clin Infect Dis* 2001; 33:22-28.
28. Gillis JC, Wiseman LR. Secnidazole. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in the management of protozoal infections and bacterial vaginosis. *Drugs* 1996; 51:621-638.
29. Videau D, Niel G, Catalan F. Secnidazole A 5-nitroimidazole derivative with a long half-life. *Brit J Vener Dis* 1978; 54:77-80.
30. Bilal CQ, Khan MS, Avais M, Ijaz M, Khan JA. Prevalence and chemotherapy of *Balantidium coli* in cattle in the River Ravi region, Lahore (Pakistan). *Vet Parasitol* 2009; 163(1-2):15-17.