

EFFICACITE *IN VITRO* DE DIFFERENTS PRODUITS, A L'ENCONTRE DE *TETRATRICHOMONAS GALLINARUM*. COMPARAISON AVEC LE DIMETRIDAZOLE.

Reynaud Marie-Claude ¹, Pascalon Annette ¹ et Chauve Claude ¹

¹ Equipe associée I.N.R.A./E.N.V.L., Laboratoire de Parasitologie, Ecole Vétérinaire de Lyon, 1, avenue Bourgelat, 69280 MARCY L'ETOILE, FRANCE

Résumé

L'efficacité de différents produits à l'encontre de *Tetratrichomonas gallinarum* a été testée *in vitro* et comparée à celle du dimétridazole. Le Water-treet, le détartrant-acidifiant ainsi que le complexe d'extraits d'huiles essentielles paraissent les plus efficaces. La Tiamutine 20 % et l'oxytétracycline HCl agissent aux concentrations correspondant à leur posologie. Le dimétridazole reste cependant le produit le plus efficace.

Abstract

Effectiveness of different medicines tested *in vitro* against *Tetratrichomonas gallinarum*. Comparison with dimetridazole.

The effectiveness of different drugs against *Tetratrichomonas gallinarum* has been tested *in vitro*, and compared with dimetridazole. Water-treet, "detrartrant-acidifiant" and the mixing of extracts from essential oils seem to be more effective than Tiamutine 20 % and oxytetracycline HCl. Dimetridazole is still the most effective drug.

Introduction

Le dimétridazole est un médicament très efficace contre les flagellés. Jusqu'à son interdiction, il était très utilisé dans les élevages de canards pour lutter contre le "syndrome flagellé". Ce syndrome apparaît dès la troisième semaine de la vie avec une aggravation au moment du gavage, il se manifeste par de l'apathie suivie de nervosité, du pica et des troubles entéritiques. Le traitement au dimétridazole fait disparaître ces troubles. Le dimétridazole a été interdit en tant que traitement le 23.09.95, par contre, il reste autorisé en tant qu'additif pour le moment. Il devient nécessaire de trouver des substances susceptibles de le remplacer. L'objet de cette étude est de tester *in vitro* l'efficacité de divers produits à l'encontre de *Tetratrichomonas gallinae*. Ces produits utilisés pour d'autres indications pourraient éventuellement remplacer le dimétridazole dans le traitement de la trichomonose du canard.

1. Matériel

1.1. Flagellés : isolement et entretien

La source de flagellés est constituée par les fientes de canards Pékin, *Anas platyrhynchos*, infectés naturellement. Les isollements sont réalisés soit sur milieu diphasique (milieu de Dobell et Laidlaw), soit sur milieu liquide M. 199 enrichi; en raison de l'importance de la contamination bactérienne un antibiotique, le chloramphénicol, est toujours

ajouté à la dose de 0,12 mg par ml pour l'isolement.

L'observation des caractères morphologiques des flagellés isolés permet de les identifier comme *Tetratrichomonas gallinarum*. Ensuite l'entretien de la souche est assuré par deux repiquages chaque semaine sur les milieux décrits précédemment et conservation en étuve à 37°C. La culture précédant immédiatement la réalisation des tests est toujours effectuée sans antibiotique et le nombre de flagellés par ml est de l'ordre de $2 \cdot 10^6$ pour chaque essai.

1.2. Milieux d'épreuve

Selon les différents produits à tester, trois milieux sont utilisés pour réaliser le contact avec les flagellés :

- Milieu diphasique (milieu de Dobell et Laidlaw)

- Milieu M. 199 enrichi, dont la composition est la suivante :

| M. 199 sans bicarbonate.....75 %
| Extrait d'embryon de poulet ultra-filtrat 75 - .5 %
| Sérum de cheval inactivé à la chaleur.....10 %
| Ringer sérum (amidon de riz : 12 mg/ml).....10 %

- Milieu M. 199 enrichi et additionné d'agar à 1/1000.

1.3. Différents produits testés

1. Tiamutine 20 %. Posologie indiquée : 100 mg/kg/jour (soit 20 mg/kg/jour de produit pur).
2. Lincomix 110. Posologie indiquée : 45 mg/kg/jour (soit 5 mg/kg/jour de produit pur).
3. Oxytétracycline HCl. Posologie indiquée : 50 mg/kg/jour.
4. Sulfaquinoxaline sodique. Posologie indiquée : 80 mg/kg/jour.
5. Détartrant-acidifiant. Posologie indiquée : 2 à 3 ml par litre d'eau de boisson.
6. Water-treet. Posologie indiquée 2 à 3 ml par litre d'eau de boisson.
7. Dehem P (complexe d'extraits d'huiles essentielles). Posologie non précisée.
8. Diméridazole DMZ 30 Coophavet. Posologie indiquée : 50 mg/kg/jour (soit 15 mg/kg/jour de produit pur). Ce produit servira de référence.

2. Méthode

2.1. Choix des concentrations

Pour 5 des produits, les posologies indiquées sont exprimées par kg de poids vif et par jour et pour les produits liquides (détartrant-acidifiant et Water-treet) par litre d'eau de boisson, les animaux étant traités plusieurs jours de suite.

Pour déterminer les concentrations à étudier *in vitro*, il a fallu proposer une correspondance entre la posologie par kg de poids vif et la concentration en produit par ml de culture. Nous avons choisi la correspondance suivante : n mg par kg de poids vif équivalant à n µg par ml de culture (ce qui constitue la plus faible concentration étudiée = C). Pour déterminer la concentration théorique maximum (C.T.M.) atteinte dans l'intestin après administration du produit à la posologie recommandée, Vuillaume et Panko (1993) font intervenir, non pas le poids vif de l'animal, mais le poids du contenu intestinal, ce qui donne en théorie pour un animal de 7 semaines (choix arbitraire) pesant 3 kg, un poids de contenu intestinal d'environ 15 g, soit un rapport de 200. Ce rapport nous amène ainsi à proposer pour notre étude *in vitro* que n mg par kg de poids vif corresponde à 200 fois n µg par ml de culture (C.T.M. = 200 C).

Pour le détartrant acidifiant et le Water-treet, nous ne connaissons pas la posologie par kg de poids vif et par jour, nous l'avons évaluée en considérant qu'un canard de 7 semaines consommant 0,5 litre d'eau par jour, reçoit 1,5 ml de détartrant acidifiant ou de Water-treet par jour (posologie choisie 3 ml par litre d'eau de boisson). Excepté pour le complexe d'huiles essentielles, les concentrations de produit étudiées par ml de culture sont les suivantes C, C x 10, C x 100 et C x 200 (= C.T.M.)

Pour le complexe d'extraits d'huiles essentielles, le choix des concentrations est indépendant d'une posologie qui est à déterminer.

2.2. Réalisation des tests

Mis à part les tests concernant le Water-treet et le complexe d'huiles essentielles, tous les tests sont réalisés sur le milieu diphasique. L'efficacité du Water-treet a été recherchée sur le milieu M 199 enrichi et l'efficacité du complexe d'huiles essentielles sur ce même milieu additionné d'agar à 1/1000 qui permet de stabiliser l'émulsion. Tous les tests sont réalisés en double, et pour chaque série, deux tubes Témoin sont préparés. Tous les tubes sontensemencés avec une suspension homogène de *Trichomonas*, de façon à obtenir une concentration de l'ordre de 2.10^5 *Trichomonas* par ml. Les tubes sont incubés dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

2.3. Lecture

A la fin du temps d'incubation, le comptage est effectué à l'aide de la cellule de Malassez. Le pourcentage d'efficacité du produit est calculé par rapport au nombre de *Trichomonas* vivants comptés dans les tubes Témoin.

Lorsque la lecture est négative, l'absence de *Trichomonas* vivants est confirmée par une culture de contrôle.

3. Résultats et discussion

Les résultats obtenus correspondent à la moyenne des lectures de deux tubes. Ils sont regroupés dans les tableaux 1 et 2.

Les cultures de contrôle destinées à confirmer une efficacité de 100 % se sont toutes révélées négatives au terme de 24 heures d'incubation.

Pour qu'un produit mérite d'être retenu, il faut que l'on puisse obtenir une efficacité de 100 % à une dilution compatible avec la posologie utilisée chez les animaux.

Le diméridazole, produit connu pour son efficacité à l'encontre des *Trichomonas* est actif à 100 % dès la plus faible concentration testée. L'efficacité 100 % *in vitro* est obtenue pour 5 des produits testés : Water-treet, détartrant-acidifiant, Tiamutine 20 %, oxytétracycline HCl et complexe d'extraits d'huiles essentielles mais à des concentrations différentes. En effet le Water-treet est efficace à 100 % dès la concentration de 5 µl/ml (C x 10), le détartrant acidifiant à une concentration 10 fois plus élevée (C x 100) mais la Tiamutine 20 % et l'oxytétracycline HCl ne sont efficaces à 100 %

qu'à la concentration théorique maximum (C x 200). Le complexe d'huiles essentielles présente une efficacité de 100 % à une concentration relativement faible : 1/3000.

Pour deux des produits testés (sulfaquinoxaline sodique et Lincomix 110) une efficacité de 100 % n'est jamais obtenue. Pour le Lincomix 110, les

résultats sont difficilement interprétables, ceci étant probablement lié à sa très mauvaise solubilité.

En conclusion, le diméridazole reste le plus efficace *in vitro*, cependant des études complémentaires seraient à envisager pour au moins 2 des produits testés : Water-treet et huiles essentielles.

TABLEAU 1. Pourcentages d'efficacité des produits testés *in vitro* à l'encontre de *Tetratrichomonas* après 24 heures de contact aux différentes concentrations.

Produit testé (1)	C	C x 10	C x 100	C x 200 C.T.M.
Tiamutine 20 %	0,1 mg 0 %	1 mg 44,5 %	10 mg 99,5 %	20 mg 100 %
Lincomix 110	0,045 mg 20,8 %	0,45 mg 0 %	4,5 mg 64,1 %	9 mg 56,7 %
Oxytétracycline HCl	0,05 mg 62,5 %	0,5 mg 85,2 %	5 mg 99,5 %	10 mg 100 %
Sulfaquinoxaline sodique	0,08 mg 0 %	0,8 mg 0 %	8 mg 10,3 %	16 mg 40 %
Détartrant-acidifiant	0,5 µl 0 %	5 µl 25,9 %	50 µl 100 %	100 µl 100 %
Water-treet	C x 2 = 1 µl (2) 95 %	5 µl 100 %	50 µl 100 %	100 µl 100 %
Diméridazole DMZ 30	0,05 mg 100 %	0,5 mg 100 %	5 mg 100 %	10 mg 100 %

(1) Les concentrations sont exprimées en mg ou en µl par ml de milieu.

(2) Pour le Water-treet la plus faible dose testée = C x 2

TABLEAU 2. Pourcentage d'efficacité du complexe d'extraits d'huiles essentielles testé *in vitro* à l'encontre de *Tetratrichomonas* après 24 heures de contact.

Concentration	1/3000	1/4500	1/6000	1/9000	1/12000	1/15000	1/18000
efficacité	100 %	99,5 %	43 %	34 %	0 %	34 %	25 %

Références

Reynaud M. Cl., Chauve C.M., 1987, Bull. Soc. Fr. Parasit., 5, 167-174.

Vuillaume A., Panko A., 1993, Bull. Acad. Vét. de France, 66, 87-93.