

Рандомизированное слепое контролируемое многоцентровое полевое исследование по сравнению эффективности и безопасности препаратов Bravecto™ (флураланер) и Frontline™ (фипронил) у собак с инвазией блох и клещей

Nadja Rohdich, Rainer KA Roepke, Eva Zschiesche

Аннотация

Общие сведения. Флураланер — новое действующее вещество класса изоксазолинов — обладает мощным инсектицидным и акарицидным эффектом и может безопасно применяться у собак.

Методы. Рандомизированное многоцентровое полевое исследование в слепом для исследователей режиме. Цель — сравнение эффективности защиты против блох и клещей в течение 12-недельного периода после применения одной дозы препарата для приема внутрь Bravecto (флураланер), выпускающегося в виде жевательной таблетки, или серии из трех применений наружного средства Frontline (фипронил). За статистическую единицу в случае клещей были приняты отдельные собаки, а в случае блох — домохозяйства. Препарат Bravecto (флураланер) получили в общей сложности 108 собак с клещевой инвазией, а препарат Frontline (фипронил) — 54 собаки с клещевой инвазией. Собаки в 115 домохозяйствах с блошиной инвазией получали препарат Bravecto (флураланер), а собаки в 61 домохозяйстве с блошиной инвазией — препарат Frontline (фипронил). Подсчет блох и клещей проводился на всех собаках на 2, 4, 8 и 12-й неделе после первоначального лечения, а эффективность рассчитывалась как среднее процентное снижение количества клещей или блох в каждый момент времени в сравнении со средним исходным количеством до лечения в каждой группе животных. Кроме того, определялась доля домохозяйств без клещей и без блох.

Результаты. На 2, 4, 8 и 12-й неделе эффективность препарата Bravecto (флураланер) для борьбы с блохами в домохозяйствах, где проводилась терапия, составила 99,2%, 99,8%, 99,8% и 99,9% соответственно, а эффективность препарата Frontline (фипронил) — 94,1%, 93,0%, 96,0% и 97,3% соответственно. Эффективность Bravecto (флураланер) с точки зрения борьбы с клещами у получавших лечение собак на 2, 4, 8 и 12-й неделе составила 99,9%, 99,9%, 99,7% и 100% соответственно, а эффективность препарата Frontline (фипронил) в отношении клещей составила 97,6%, 93,8%, 100% и 100% соответственно. Из числа собак, у которых на момент начала исследования наблюдались симптомы клинического блошиного аллергического дерматита (БАД), 85,7% в группе Bravecto (флураланера) и 55,6% в группе Frontline (фипронила) по оценкам в каждый момент времени вплоть до окончания исследования не проявляли клинических симптомов БАД.

Выводы. Препарат Bravecto (флураланер) при однократном применении в виде жевательной таблетки в течение 12 недель демонстрировал высокую эффективность в отношении блох и клещей на собаках в частном владении и был достоверно не менее эффективен (клещи) и более эффективен (блохи), чем наружное средство Frontline (фипронил), применявшееся последовательно три раза.

Ключевые слова: блохи, клещи, Bravecto (флураланер), изоксазолин, Frontline (фипронил), эффективность, полевое исследование, собака.



Общие сведения

Новые эффективные препараты для лечения эктопаразитарных инвазий у домашних животных имеют особую важность, поскольку паразиты могут приобретать толерантность к существующим лекарственным средствам и потенциально могут выработать резистентность [1]. Ветеринары и владельцы животных также стремятся включить в схемы борьбы с паразитами более эффективные препараты с более длительным сроком действия. Опасения вызывают раздражение и травмы, наносимые непосредственно блохами и клещами, а также риски, связанные с этими паразитами как переносчиками инфекционных заболеваний. Кроме того, ветеринаров беспокоит вызывает низкий уровень соблюдения владельцами текущих рекомендаций относительно повторного применения лекарственных средств при борьбе с эктопаразитами [2].

Флураланер относится к классу изоксазолинов — новому классу противопаразитарных препаратов, представляющих собой безопасные и эффективные новые акарицидные и инсектицидные препараты для лечения инвазии эктопаразитов у собак и кошек [3]. Доказано, что флураланер обладает высокой эффективностью в отношении эктопаразитов и безопасен при применении у собак [4]. При испытаниях *in vitro* было определено, что флураланер является высокоактивным блокатором специфических для членистоногих ГАМК-зависимых хлоридных каналов, обладающим меньшей, однако тем не менее значительной, ингибиторной активностью в отношении глутаматзависимых хлоридных каналов членистоногих; его способность к связыванию с ГАМК-зависимыми хлоридными каналами членистоногих была в 5–236 раз выше, чем у фипронила. Более значительная активность в отношении рецепторов может обусловить более высокую эффективность флураланера при борьбе с эктопаразитами в полевых условиях в сравнении с фипронилом.

В настоящей работе представлены результаты строгого, соответствующего требованиям Надлежащей клинической практики (GCP) слепого исследования по сравнению препарата Bravecto (флураланер) с положительным контролем (фипронилом) в типичных условиях ветеринарной практики. Данное исследование было призвано ответить на вопрос о том, является ли препарат Bravecto (флураланер) статистически как минимум столь же эффективным (анализ не меньшей эффективности), как препарат положительного контроля.

Методы

Данное многоцентровое рандомизированное полевое исследование эффективности проводилось в ветеринарных лечебницах в Германии, Франции и Испании; в исследование включались находившиеся в частном владении собаки любой породы и любого пола. Исследование было начато в августе 2011 г. и завершилось в феврале 2012 г.

Ветеринары, проводившие клиническое обследование и подсчет паразитов, не были осведомлены о групповой принадлежности собак. Согласно дизайну исследования, за статистическую единицу в случае клещей принимались отдельные собаки, а в случае блох — домохозяйства.

Для включения собаки в исследование у животного на момент первичного осмотра должна была иметься явная блошиная или клещевая инвазия (или и то и другое) с наличием как минимум четырех наблюдаемых особей эктопаразитов. Кроме того, собаки должны были обладать темпераментом, позволявшим проводить необходимые манипуляции для подсчета паразитов; быть в возрасте от 10 недель; иметь массу тела не менее 2 кг; и быть достаточно здоровыми для выполнения графика исследования. Собаки не включались в исследование, если в домохозяйстве присутствовало тяжелообольное животное, требующее интенсивной ветеринарной терапии; не включались собаки, получавшие лечение эктопаразитами препаратами в течение предыдущих 7–30 дней в зависимости от предполагаемой продолжительности эффекта лечения; самки во время беременности и лактации; при наличии более пяти собак или животных других видов, способных являться хозяевами блох и/или клещей (напр., кошек, кроликов, морских свинок) и занимающих общую зону; если в течение предыдущих двух месяцев в домохозяйстве проводилась обработка предметов обстановки инсектицидом или регулятором роста насекомых; или если в течение периода исследования собака должна была проводить значительное время с временным хозяином или в приюте для собак. Владельцев собак проинструктировали относительно протокола исследования; от них также требовалось подписать форму информированного согласия, позволяющую включить собаку/собак в исследование.

Собаки были случайным образом, с помощью сгенерированного на компьютере списка, разделены на группы для получения либо препарата Bravecto (флураланер, 25–56 мг/кг массы тела однократно), либо препарата положительного контроля Frontline (фипронил, $\geq 6,7$ мг/кг три раза последовательно), причем соотношение количества животных, направленных в группу для получения флураланера/фипронила, составляло 2:1. Собаки из одного и того же домохозяйства получали один и тот же препарат. Был проведен клинический осмотр, включая описательную оценку кожи и шерсти для документальной фиксации поражений кожи, возможно, связанных с БАД. Начальное определение количества паразитов осуществлялось методом подсчета при вычесывании, который рекомендован Всемирной ассоциацией содействия развитию ветеринарной паразитологии [6], после чего в ветеринарной лечебнице производилось первичное применение препарата. Всем собакам, получавшим препарат Bravecto (флураланер) перорально, вначале было предложено съесть таблетку добровольно. При отказе собакам вводили таблетку непосредственно в ротовую полость.



Все собаки оставались в домах своих хозяев и получали свой обычный корм с доступом к воде в соответствии с нормальным распорядком. Во время исследования разрешалось вычесывать и купать собак и разрешать им плавать, за исключением периода, составлявшего три дня до назначенного визита к ветеринару и два дня после применения препарата. От участвующих ветеринаров и владельцев требовалось собирать сведения обо всех предполагаемых нежелательных явлениях в течение всего исследования.

Регулярные осмотры на 2, 4, 8 и 12-й неделе после первичного лечения включали повторное обследование собак для фиксации состояния здоровья и изменений со стороны очагов поражения на коже и шерсти у собак, у которых в исходном состоянии отмечен БАД, после чего проводился подсчет паразитов. На 4 и 8-й неделе собаки из группы положительного контроля получали после этих процедур повторное лечение. Клещей осторожно удаляли пинцетом, подсчитывали и относили к категории живых или мертвых; затем клещей направляли на микроскопическое исследование для определения видовой принадлежности.

Процентное снижение количества клещей у изначально пораженных ими собак и процентное снижение количества блох в домохозяйствах с блошиной инвазией рассчитывалось на 2, 4, 8 и 12-й неделе относительно исходного состояния по следующей формуле:

$$\text{Снижение } [\%] = \frac{\bar{x} \text{ до лечения} - \bar{x} \text{ после лечения}}{\bar{x} \text{ до лечения}} \times 100$$

где \bar{x} до лечения — среднее геометрическое количества клещей или блох в исходном состоянии (0-й день), а \bar{x} после лечения — среднее геометрическое количества живых клещей или блох после лечения (на 2, 4, 8 и 12-й неделе).

При каждом посещении ветеринара в группе Bravecto (флураланер) наблюдалась не меньшая эффективность по доле свободных от паразитов домохозяйств, чем в группе Frontline (фипронил). Использовался критерий не меньшей эффективности Фаррингтона — Маннинга [7] для разности рисков при уровне значимости $\alpha = 0,025$ и допустимой разности $\delta = 0,15$.

Все данные для статистического анализа (SAS Institute Inc., Кэри, Северная Каролина, США, версия 9.2) вводились в компьютер методом двойного ввода данных с последующим сравнением массивов данных и проверкой на правдоподобие для выявления пропущенных значений, ошибочно введенных и недостоверных данных.

Результаты

Популяция исследования включала собак в домохозяйствах Германии, Франции и Испании. В общей сложности участие в исследовании приняли 176 домохозяйств с инвазией блох (в 115 проводилась терапия препаратом

Bravecto (флураланер), а в 61 — Frontline (фипронил)), и 162 собаки с клещевой инвазией (108 получали лечение препаратом Bravecto (флураланер), а 54 — препаратом Frontline (фипронил)). Средний возраст собак составлял 4,6 года (диапазон от 10 недель до 15 лет), а средняя масса тела была равна 19,9 кг (диапазон 2,2–59,8 кг); 46% собак являлись самцами (13% самцов были кастрированы), а 54% — самками (17% самок были стерилизованы). Более чем десятью особями были представлены следующие породы: большая англо-французская гончая, английский сеттер, испанский гальго, бретонский эспаньол, бигль, йоркширский терьер, такса, рыжий бретонский бассет, кавалер-кинг-чарльз-спаниель, мальтийская болонка. Были также зафиксированы дополнительные характеристики популяции (табл. 1).

Таблица 1. Демографические параметры включенной в исследование популяции собак

	Bravecto (флураланер) n = 325	Frontline (фипронил) n = 154
Длина шерсти:		
Короткая	139 (42,8%)	66 (42,9%)
Умеренная	137 (42,2%)	64 (41,6%)
Длинная	49 (15,1%)	24 (15,6%)
Условия проживания:		
В помещении:	84 (25,8%)	44 (28,6%)
На улице:	155 (47,7%)	59 (38,3%)
В помещении и на улице	86 (26,5%)	51 (33,1%)
Количество собак в домохозяйстве:		
	n = 144	n = 70
1	76 (52,8%)	32 (45,7%)
2	19 (13,2%)	14 (20,0%)
3	11 (7,6%)	8 (11,4%)
4	11 (7,6%)	8 (11,4%)
5	27 (18,8%)	8 (11,4%)

В исходном состоянии (0-й день) среднее количество клещей на собаке составляло 6,5 (диапазон 1–57) и 6,1 (диапазон 1–6) в группах, получавших Bravecto (флураланер) и Frontline (фипронил) соответственно. Наиболее распространенным видом клещей, выявленным в исходном состоянии (0-й день), был *Rhipicephalus sanguineus* (34,8%), за которым следовали *Ixodes hexagonus* (25,4%), *Ixodes ricinus* (25,2%), *Dermacentor reticulatus* (9,6%), личинки рода *Ixodes* (4,0%) и нимфы рода *Ixodes* (1,0%). Среднее количество блох/домохозяйство составляло 41,8 (диапазон 0–254 на собаку) и 38,1 (диапазон 0–176 на собаку) в группе Bravecto (флураланер) и Frontline (фипронил) соответственно (табл. 2 и 3).



Таблица 2. Блошная инвазия в домохозяйствах до лечения препаратом Bravecto (флураланер) и Frontline (фипронил)

	Германия		Франция		Испания	
	Кол-во ДХ	Кол-во блох (среднее \pm SD)	Кол-во ДХ	Кол-во блох (среднее \pm SD)	Кол-во ДХ	Кол-во блох (среднее \pm SD)
Bravecto (флураланер)	35	695 (19,9 \pm 23,0)	52	3056 (58,8 \pm 92,7)	28	1059 (37,8 \pm 38,2)
Frontline (фипронил)	17	261 (15,4 \pm 17,2)	27	1280 (47,4 \pm 59,2)	17	783 (46,1 \pm 44,0)

*ДХ — домохозяйства.

Таблица 3. Клещевая инвазия у собак до лечения препаратом Bravecto (флураланер) и Frontline (фипронил)

	Германия		Франция		Испания	
	Кол-во собак	Кол-во клещей (среднее \pm SD)	Кол-во собак	Кол-во клещей (среднее \pm SD)	Кол-во собак	Кол-во клещей (среднее \pm SD)
Bravecto (флураланер)	26	186 (7,2 \pm 8,3)	16	164 (10,3 \pm 16,7)	66	353 (5,3 \pm 2,9)
Frontline (фипронил)	13	73 (5,6 \pm 7,9)	11	98 (8,9 \pm 17,4)	30	160 (5,3 \pm 3,1)

Эффективность контроля блох в домохозяйствах была выше среди собак, получавших препарат Bravecto (флураланер), и составляла 99,2% или более во все моменты времени (табл. 4). Эффективность контроля клещей на отдельных собаках была выше среди тех особей, которые получали препарат Bravecto (флураланер) на 2 и 4-й неделе. На 8-й неделе эффективность препарата Frontline (фипронил) была незначительно выше (100%), чем Bravecto (флураланер, 99,7%). На 12-й неделе эффективность в обеих группах составляла 100% (табл. 5).

Доля свободных от блох домохозяйств (верхняя часть табл. 6, повышенная эффективность $p < 0,025$) была выше при лечении препаратом Bravecto (флураланер), нежели при лечении препаратом Frontline (фипронил), во все моменты времени. Доля свободных от клещей домохозяйств среди тех домохозяйств, в которых собаки получали Bravecto (флураланер), была во всех временных точках выше, чем среди тех, где собаки получали Frontline (фипронил) (нижняя часть табл. 6, не меньшая эффективность $p < 0,0024$), за исключением недели 12, в которой в обеих группах клещи отсутствовали в 100% случаев.

Таблица 4. Эффективность борьбы с блохами, рассчитанная по данным подсчета блох в домохозяйствах

	Bravecto (флураланер)	Frontline (фипронил)
2 неделя	99,2%	94,1%
4 неделя	99,8%	93,0%
8 неделя	99,8%	96,0%
12 неделя	99,9%	97,3%

На момент включения в исследования клинические симптомы БАД наблюдались у 35 (10,8%) собак, получавших Bravecto (флураланер), и у 18 (11,7%) собак, получавших Frontline (фипронил). В группе, получавшей препарат Bravecto (флураланер), у 85,7% (30 из 35) этих собак, по данным осмотра, клинические признаки отсутствовали во все моменты времени до окончания исследования, в то время как в группе, получавшей препарат Frontline (фипронил), клинические симптомы БАД отсутствовали только у 55,6% (10 из 18) животных.

В общей сложности 8 нежелательных явлений, зафиксированных в течение всего 12-недельного периода исследования, были сочтены возможно связанными с применявшимся препаратом, причем в каждой группе зафиксировано по четыре таких явления, несмотря на распределение в соотношении 1:2. Из 383 собак в группе, получавшей Bravecto (флураланер), имелось две собаки (0,5%) с рвотой/диареей и две собаки (0,5%) со снижением аппетита; у всех этих собак клинические симптомы исчезли, а животные остались в исследовании. Из 178 собак, получавших Frontline (фипронил), у трех собак

Таблица 5. Эффективность борьбы с клещами, рассчитанная по данным подсчета клещей на отдельных собаках

	Bravecto (флураланер)	Frontline (фипронил)
2 неделя	99,9%	97,6%
4 неделя	99,9%	93,8%
8 неделя	99,7%	100%
12 неделя	100%	100%



Таблица 6. Доля домохозяйств, свободных против блох и клещей

	Bravecto (флураланер)	Frontline (фипронил)	Значение P	Нижн. гр. 97,5% 1-стор. ДИ ^a
Блохи				
2 неделя	89,57%	62,30%	<0,0001	0,1498
4 неделя	94,87%	63,93%	<0,0001	0,1916
8 неделя	95,65%	70,49%	<0,0001	0,1416
12 неделя	97,39%	81,97%	<0,0001	0,0586
Клещи				
2 неделя	97,67%	89,47%	0,0006	-0,0575
4 неделя	97,67%	84,21%	0,0001	-0,0175
8 неделя	97,67%	94,74%	0,0024	-0,0953
12 неделя	100,0%	100,0%	н/п ^b	н/п ^b

^a Для подтверждения достоверно не меньшей эффективности результат должен быть больше -0,15 Для подтверждения достоверно большей односторонней эффективности результат должен быть больше 0 при $\alpha = 0,025$

^b Статистические критерии не применялись, так как на 12-й неделе все домохозяйства были свободны от клещей.

н/п: неприменимо.

(1,7%) развилась алопеция и появились корки в пояснично-крестцовой области, а у одной собаки (0,6%) возник интенсивный зуд. Все эти собаки остались в исследовании; у трех собак клинические проявления исчезли, а у одной на момент окончания исследования по-прежнему отмечались клинические симптомы.

Обсуждение результатов

Однократное пероральное применение препарата Bravecto (флураланер) в рекомендованной дозе обеспечило эффективный контроль над блошиной и клещевой инвазией у принадлежавших клиентам собак в течение 12 недель в условиях естественной инвазии. Bravecto (флураланер) — первый эктопаразитицид для перорального применения, демонстрирующий столь значительную продолжительность действия в отношении как блох, так и клещей у собак после однократного введения. Однократное применение препарата Bravecto (флураланер) характеризовалось достоверно не меньшей эффективностью с точки зрения борьбы с блохами и клещами у собак, чем последовательность из трех применений препарата Frontline (фипронил); об этом свидетельствует и то, что во всех временных точках нижняя граница 97,5% доверительного интервала соответствовала $>-0,15$ (табл. 6). Более того, доказано что лечение препаратом Bravecto (флураланер) более эффективно по сравнению с лечением препаратом Frontline (фипронил) с точки зрения доли свободных от блох домохозяйств в данном исследовании; об этом также свидетельствует тот факт, что нижняя граница доверительного интервала во всех временных точках соответствовала >0 (табл. 6). Таким образом, полученные результаты исследования эффективности согласуются с ранее опубликованными

результатами сравнительного исследования связывания флураланера и фипронила с мембранными рецепторами насекомых *in vitro* [5].

Для препарата Bravecto (флураланер) зафиксированы более высокие результаты борьбы с блохами во все моменты времени (табл. 4) и борьбы с клещами во все моменты времени, кроме недель 8 и 12, в которых результат был близок к 100% для обоих препаратов (табл. 5). Эффективность препарата Bravecto (флураланер) в отношении клещей оставалась близка к 100% в течение всего 12-недельного периода исследования. Для однократного перорального применения акарицида такая продолжительность действия является уникальной.

У ветеринаров-клиницистов вызывает особое беспокойство безопасность новых препаратов для пациента. В течение всего периода исследования продолжительностью 12 недель нежелательные эффекты были зафиксированы лишь у четырех из 383 (1,0%) собак, получавших препарат Bravecto (флураланер), причем эти эффекты представляли собой исключительно кратковременные проявления со стороны желудочно-кишечного тракта, включая рвоту и снижение аппетита. У 178 собак, получавших Frontline (фипронил), также зафиксировано четыре нежелательных явления (2,2%), в первую очередь со стороны кожных покровов, чего можно ожидать при использовании препарата для наружного применения.

Потенциальным фактором наблюдаемой сниженной эффективности лечения против эктопаразитов является низкая комплаентность при существующих схемах терапии, требующих ежемесячного повторного лечения. В отличие от стандартных препаратов, требующих ежемесячного применения, препарат Bravecto (флураланер) эффективен в течение 12 недель. Необходимость



в повторном лечении препаратом Bravecto (флураланер) отсутствует, что, таким образом, должно обеспечить повышенную комплаентность в сравнении с рекомендованными препаратами для ежемесячного применения.

У собак, получавших Bravecto (флураланер), зафиксирована очень высокая вероятность исчезновения клинических симптомов БАД, причем у 85,7% этих собак обнаружено немедленное исчезновение всех клинических симптомов в сравнении с очагами поражения кожи, имевшимися на момент включения в исследование. Несмотря на то, что воздействие препарата системного действия Bravecto (флураланер) на блох возможно только в том случае, если блохи потребляют кровь животного, достигающаяся при этом эффективность борьбы с блохами способствовала большей частоте устранения клинических симптомов БАД, чем при лечении препаратом Frontline (фипронил) для наружного применения.

Выводы

Однократное пероральное применение препарата Bravecto (флураланер) для собак в виде жевательной таблетки обеспечивает высокую эффективность борьбы с естественными блошиными и клещевыми инвазиями у принадлежащих клиентам собак в полевых условиях. Однократное пероральное применение препарата Bravecto (флураланер) достоверно не менее эффективно (против клещей) и более эффективно (против блох), чем применение трех доз наружного средства Frontline (фипронил) за тот же период. Препарат Bravecto (флураланер) безопасен и хорошо переносится собаками, а продолжительность действия обеспечивает большее удобство лечения по сравнению с препаратами против блох и клещей для ежемесячного применения, что потенциально может способствовать повышению комплаентности.

Литература

1. Coles TB, Dryden MW: Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. *Parasit Vectors* 2014, 7:8.
2. Beck S, Schein E, Baldermann C, von Samson-Himmelstjerna G, Kohn B: Tick infestation and tick prophylaxis in dogs in the area of Berlin/Brandenburg – results of a questionnaire study. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2013, 126:69–76.
3. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahira K, Mita T: The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, 391:744–749.
4. European Commission, Community register of veterinary medicinal products, Product information Bravecto: Annex 1 Summary of product characteristics. Bruxelles; 2014. <http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/html/v158.htm>.
5. Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T: The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol* 2014, 45:111–124.
6. Marchiondo AA, Holdsworth PA, Green P, Blagburn BL, Jacobs DE: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. *Vet Parasitol* 2007, 145:332–344.
7. Farrington CP, Manning G: Test statistics and sample size formulae for comparative binomial trials with null hypothesis of non-zero risk difference or non-unity relative risk. *Stat Med* 2009, 9:1447–1454.