

ИССЛЕДОВАНИЯ

Open Access

Начало активности флураланера (Бравекто™) в отношении блохи кошачьей (*Ctenocephalides felis*) у собак

Janina Taenzler^{1*}, Christina Wengenmayer¹, Heike Williams¹, Josephus Fourie², Eva Zschiesche¹, Rainer KA Roepke¹ and Anja R Heckeroth¹

Аннотация

Общие сведения: Флураланер (Бравекто™) – новый инсектицид и акарицид системного действия, обладающий длительным и устойчивым противопаразитарным эффектом после однократного применения минимальной его дозы, равной 25 мг/кг массы тела.

Методы: С целью оценки эффективности флураланера у собак были проведены три рандомизированных исследования с отрицательным контролем; в ходе этих исследований оценивали время до начала уничтожения паразитов (1 исследование) и скорость уничтожения паразитов (2 исследования) после применения препарата. Перед применением препарата все собаки были заражены голодными блохами *C. felis*. Собакам в группах, получавших препарат, однократно давали флураланер перорально в минимальной дозе 25 мг/кг массы тела; в то же время собаки в контрольных группах не получали никакого лечения. В каждой временной точке оценки наличия блох производилось попарное сведение отдельных контрольных групп и групп животных, получавших препарат. С целью оценки времени до начала уничтожения паразитов производился подсчет количества обнаруженных блох после расчесывания собак – через 0,5, 1, 2 или 4 часа после введения флураланера. Чтобы определить показатели скорости уничтожения паразитов на протяжении 12 недель, подсчитывали блох, обнаруженных при расчесывании собак через 4, 8, 12 или 24 часа после применения флураланера, а затем – через 4, 8, 12 и 24 часа после каждого повторного заражения блохами, которое производилось через 4, 8 и 12 недель после приема препарата.

Результаты: В ходе исследования времени до начала уничтожения паразитов активность флураланера в отношении блох проявлялась уже через 1 час после приема препарата (оценка численной эффективности – 8 %). Через 2 и 4 часа после введения препарата наблюдалось носившее достоверный характер снижение количества блох (на, соответственно, 36,7 % и 88 %). В ходе исследований скорости уничтожения паразитов показатели эффективности в отношении блох после введения флураланера составили 80,5 % через 4 часа, а через 8, 12 и 24 часов оставались на уровне $\geq 99,4$ %. Показатель эффективности препарата через 4 часа после повторных заражений блохами на 4-й, 8-й и 12-й неделе составил, соответственно, 96,8; 91,4 и 33,5 %. Показатель эффективности через 8, 12 и 24 часов после повторных заражений блохами составил на протяжении 12 недель исследования 98,0-100 %. За исключением временной точки «4 часа после заражения блохами на 12-й неделе», снижение количества блох носило достоверный характер для всех временных точек после повторных заражений блохами.

(Continued on next page)

* Correspondence: janina.taenzler@msd.de

¹MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany (Германия)

Full list of author information is available at the end of the article

(Continued from previous page)

Выводы: Однократное пероральное введение флуранелера позволяет быстро уничтожить существующую популяцию блох и обеспечивает отличный уровень защиты от блох на протяжении 12 недель после применения препарата.

Ключевые слова: Бравекто™, жевательные таблетки, флуранелер, начало активности, время до начала уничтожения паразитов, скорость уничтожения паразитов, собака, блоха, *Ctenocephalides felis*, эффективность

Общие сведения

Кошачьи блохи *Ctenocephalides felis* – это основной вид блох, поражающий собак и кошек [1] и наиболее значимый эктопаразит собак во многих регионах мира [2]. При отсутствии лечения животные, являющиеся хозяевами блох в течение длительного времени, могут страдать от интенсивного зуда, наносить себе повреждения кожных покровов и даже, в случае массивного заражения, страдать от анемии [2]. У некоторых собак контакт с блохами вызывает более серьезное состояние – блошиный аллергический дерматит (БАД), вызванный гиперчувствительностью к компонентам блошиной слюны [1]. При возникновении сенсибилизации для рецидива характерных для этого состояния очагов поражений достаточно лишь нескольких укусов блох. Клинические симптомы заболевания носят, как правило, транзиторный характер. Однако если популяцию блох не уничтожить, могут наблюдаться хронические изменения кожных покровов, такие как алопеция, образование струпа, гиперпигментация и лихенизация [3]. Собаки поражают исключительно взрослые особи блох. В ходе остальных стадий жизненного цикла блох имеет место контаминация их жизненной среды, т.е. развитие особей через стадии личинок и куколок. Уничтожение взрослых особей блох до того, как они начнут откладывать яйца, имеет большое значение для успешной борьбы с блохами [4]. Между первой порцией крови, насыщаемой блохой, и началом откладывания яиц проходит примерно 24 часа [1]. Таким образом, необходимо в течение вышеупомянутого промежутка времени эффективно уничтожить всех взрослых особей блох.

Действующее вещество препарата Бравекто™ (флуранелер) принадлежит к классу изоксазолинов – новому классу противопаразитарных препаратов, ингибирующих хлоридные каналы, активируемые гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) и глутаматом, обладая при этом значительной селективностью в отношении нейронов насекомых в сравнении с нейронами млекопитающих [5,6]. Флуранелер выпускается в виде ароматизированных жевательных таблеток, доступных в продаже в качестве препарата для немедленного и долгосрочного (на протяжении 12 недель) уничтожения клещей и блох собак, который оказывает

основное действие при кровососании [7]. В ходе полевых испытаний однократное введение флуранелера обеспечивало активность в отношении блох у собак на протяжении 12 недель [8]; кроме этого, препарат характеризовался высокой безопасностью и хорошей переносимостью [8,9].

Настоящее исследование преследует следующие цели: а) определить, насколько быстро флуранелер начинает уничтожать блох (в течение 0,5-4 часов после введения препарата) и б) установить скорость уничтожения блох в течение 4–24 часов после заражения и на протяжении всего срока действия флуранелера длительностью 12 недель.

Методы

Дизайн исследования

Были проведены три слепых рандомизированных исследования с негативным контролем – одно для определения времени до начала уничтожения паразитов (в ЮАР) и два исследования скорости уничтожения паразитов (в Германии). Исследование времени до начала уничтожения паразитов проводилось в соответствии с Надлежащей клинической практикой (руководство Международного сотрудничества по гармонизации технических требований для регистрации ветеринарных средств (VICH) GL9, Надлежащая клиническая практика, Европейское агентство по лекарственным средствам, 2000) и Национальным стандартом ЮАР «SANS 10386:2008: Содержание и использование животных в научных целях»; перед началом исследования было получено разрешение Комитета по этике обращения с животными в клинической ветеринарии (CAEC). 2 исследования скорости уничтожения паразитов проводились согласно Принципам надлежащей лабораторной практики (GLP) ОЭСР и принципам GLP, изложенным в «Законе о химических веществах» (Chemikaliengesetz) Германии, а также в соответствии с нормативно-правовыми актами ФРГ по защите прав животных; перед началом исследования было получено одобрение Комитета по этике.

Каждая временная точка оценки наличия блох в рамках каждого из трех исследований предусматривала наличие 6 собак, получивших препарат, и 6 контрольных животных, что составило в общей

сложности 96 собак (52 самца и 44 самки). Все включенные в исследование собаки были 6-месячного возраста, весили от 8,9 до 18,8 кг и были смешанной или чистой породы (бигль). Состояние здоровья всех собак было хорошим; животные не получали каких-либо противопаразитарных препаратов в течение 3 месяцев, предшествующих 7-дневному периоду акклиматизации; каждое животное было отмечено уникальным номером при помощи микрочипа. Во всех исследованиях (времени до начала уничтожения паразитов и скорости уничтожения паразитов) использовались выращенные в лабораторных условиях линии блох, в обоих случаях – из Германии, собранные в природных условиях менее чем за 10 лет до начала исследований.

В ходе периода акклиматизации восприимчивость каждой собаки к блохам была подтверждена посредством заражения 100 (± 4) блохами (времени до начала уничтожения паразитов) или 80 блохами (исследования скорости уничтожения паразитов) с последующим удалением и подсчетом блох спустя 24 (± 2) часа. Все включенные в исследование собаки имели на себе более 50 % исходного количества блох, которыми они были инфицированы. Собаки были ранжированы в порядке уменьшения количества блох отдельно по полу (исследование времени до начала уничтожения паразитов) или без разделения по полу (исследования скорости уничтожения паразитов) и случайным образом распределены по группам с помощью сгенерированного на компьютере рандомизационного списка. В ходе исследования времени до начала уничтожения паразитов собак с самого начала расселяли отдельно. В ходе исследований скорости уничтожения паразитов собак из одной группы исследования селили вместе в период, предшествующий заражению блохами. В день заражения блохами собак расселяли в отдельные клетки.

Лечение

За один или 2 дня до введения препарата каждое животное инфицировали голодными взрослыми блохами вида *C. felis* в количестве 100 (± 4) (исследование времени до начала уничтожения паразитов) или 80 (исследования скорости уничтожения паразитов). В день применения препарата (день 0) каждая собака получила половину суточного рациона корма приблизительно за 20 мин до введения препарата, а остальную часть — сразу после этого. Собаки в экспериментальных группах получили жевательные таблетки флуранелера (Бравекто™), исходя из массы тела конкретного животного и минимальной дозы флуранелера, составляющей 25 мг/кг массы тела. Жевательная таблетка вводилась путем помещения ее в заднюю часть ротовой полости, над языком (для

стимуляции глотательного рефлекса). В течение 1 часа после введения препарата за каждой получившей его собакой непрерывно наблюдали, чтобы она не вырвала или не выплюнула таблетку; ни в одном из трех исследований таких случаев не было. Собаки из контрольной группы какого-либо лечения не получали. Состояние здоровья животных оценивалось ежедневно на протяжении всего периода исследования в рамках всех 3 исследований.

Заражение блохами и оценка количества блох

В ходе исследования времени до начала уничтожения паразитов все собаки были инфицированы 100 (± 4) блохами за 1 день до применения препарата. Подсчет количества блох производился в паре из одной контрольной и одной экспериментальной группе через 0,5 часа (± 5 мин), 1 час (± 15 мин), 2 часа (± 15 мин) или 4 часа (± 15 мин) после введения флуранелера. В рамках двух исследований скорости уничтожения паразитов собак инфицировали 80 блохами в дни -2, 28 (4 недели), 56 (8 недель) и 84 (12 недель). Подсчет количества блох проводили в одной паре экспериментальной и контрольной группы через 4 и 8 ($\pm 0,75$) часов (в рамках одного исследования) или через 12 и 24 ($\pm 1,5$) часа (в ходе другого исследования) после введения флуранелера (неделя 0) или после каждого повторного инфицирования блохами (недели 4, 8 и 12). Для удаления и подсчета живых взрослых блох каждую собаку тщательно расчесывали. Сотрудники, проводившие подсчет количества полученных в результате расчесывания блох, не имели доступа к информации о том, к какой группе принадлежало каждое животное.

Оценка эффективности

В ходе всех статистических расчетов в качестве статистической единицы служила отдельная собака. Данные, полученные для каждой временной точки подсчета блох, анализировали отдельно. По сравнению с контрольной группой, наблюдались значимые отличия логарифма числа живых блох в каждой получившей препарат группе в каждой временной точке, в которой проводилась оценка. Сравнение групп проводилось при помощи смешанной линейной модели, в которой параметр «группа исследования» выступал в качестве фиксированного эффекта, а параметр «блок» — в качестве случайного эффекта. Критерием наличия двустороннего уровня значимости было принято значение $P \leq 0,05$ (полученное при помощи программного обеспечения компании SAS Institute Inc., Cary, NC, США, релиз 9.2).

Для расчета эффективности использовалось среднее геометрическое, полученное по формуле Эбботта:

Эффективность (%) = 100 × (M_C – M_T)/M_C, где M_C – среднее общее число взрослых живых блох на собаках, не получавших препарат, а M_T – среднее общее число взрослых живых блох на собаках, получивших препарат. Если число блох было равно нулю, среднее геометрическое (количества блох) рассчитывалось следующим образом:

$$X_g = \left(\prod_{i=1}^n (x_i + 1) \right)^{\frac{1}{n}} - 1$$

Результаты

Ни у одной из собак не наблюдалось нежелательных явлений, которые были бы связаны с пероральным применением флуранера.

В ходе исследования времени до начала уничтожения паразитов (см. таблицу 1) активность флуранера в отношении блох проявлялась уже через 1 час после применения препарата (оценка численной эффективности – 8 %). Значимое снижение числа блох наблюдалось через 2 и через 4 часа (эффективность 36,7 % и 88 %). Через 4 часа после применения препарата у одной собаки блохи исчезли, а у трех собак обнаружили ≤ 6 блох.

В ходе исследований скорости уничтожения паразитов (см. таблицу 2) показатели эффективности в отношении блох составили после введения флуранера 80,5 % через 4 часа, а через 8, 12 и 24 часов оставались на уровне ≥ 99,4 %.

Показатель эффективности препарата через 4 часа после повторных заражений блохами на 4-й, 8-й и 12-й неделе составил, соответственно, 96,8, 91,4 и 33,5 %. Показатель эффективности через 8, 12 и 24 часов после повторных заражений блохами составил на протяжении 12 недель исследования 98,0-100 %.

В этих временных точках обнаруживали лишь единичных блох на собаках или полное отсутствие блох. За исключением временной точки «4 часа после заражения блохами на 12-й неделе», снижение количества блох носило достоверный характер для всех временных точек после лечения и для повторных заражений.

Обсуждение

Флуранер (Бравекто™) – это первое пероральное средство от эктопаразитов с доказанной эффективностью в отношении блох в течение более 12 недель [7]. Результаты, полученные в ходе исследования времени до начала уничтожения паразитов, свидетельствуют о том, что флуранер начинает уничтожать находящихся на собаке блох уже через 1 час после перорального введения. Через 4 часа после применения препарата было уничтожено 88 %, а через 8 часов – 99,4 % блох. Столь убедительная эффективность, наблюдавшаяся через 8 часов после применения препарата, сохранялась на протяжении всех 12 недель после его введения. Эти результаты согласуются с почти 100 % эффективностью препарата, наблюдавшейся в ходе проводившегося в Европе полевого испытания в различных его временных точках [8]. В ходе вышеупомянутого полевого испытания группа, получавшая фипронил, характеризовалась более низкими показателями эффективности во всех временных точках; вследствие этого для достижения эффективности, сопоставимой с однократным применением флуранера, потребовалось применять препарат несколько раз (ежемесячно). Выраженная эффективность флуранера в отношении блох, проявляющаяся уже через 8 часов и длящаяся не менее 12 недель после его применения, способствует уменьшению блошиной популяции в окружающей среде посредством постепенного уничтожения блох

Таблица 1. Исследование времени до начала уничтожения паразитов: среднее число блох, диапазон значений числа блох и процент эффективности через 0,5, 1, 2 и 4 часа после однократного перорального введения флуранера у собак

Время, прошедшее после применения препарата	0,5 часа		1 час		2 часа		4 часа	
	Флуранер	Контрольная группа	Флуранер	Контрольная группа	Флуранер	Контрольная группа	Флуранер	Контрольная группа
Среднее ^a число блох (n)	78,71	73,96	78,14	84,89	48,70	76,97	7,38	61,57
Размах значений (n)	74-86	65-89	47-96	64-97	33-69	61-99	0-80	30-80
Эффективность (%)	0,0 %		8,0 %		36,7 % b		88,0 % b	

^aГеометрическое среднее.

^bЗначение логарифма числа живых блох в группе, получившей препарат, значимо отличалось (p ≤ 0,05) от аналогичного показателя в соответствующей контрольной группе, не получившей препарат.

Таблица 2. Исследование скорости уничтожения паразитов: среднее число блох, размах значений числа блох и процент эффективности на протяжении 12 недель после однократного перорального введения флураланера у собак

Временные точки оценки ^a Группа исследования		4 часа		8 часов		12 часов		24 часа	
		Флураланер	Контрольная группа	Флураланер	Контрольная группа	Флураланер	Контрольная группа	Флураланер	Контрольная группа
0 неделя	Среднее ^b число блох (n)	4,14	21,21	0,30	49,93	0,0	73,59	0,0	13,85
	Размах значений (n)	0-21	1-71	0-4	6-80	0	58-79	0	0-75
Неделя 4	Эффективность (%)	80,5 % ^c	74,78	99,4% ^c	77,79	100% ^c	73,53	100% ^c	69,35
	Среднее ^b число блох (n)	2,38		0,0		0,0		0,0	
	Размах значений (n)	0-13	69-80	0	73-80	0	66-80	0	61-75
Неделя 8	Эффективность (%)	96,8% ^c	66,61	100% ^c	75,01	100% ^c	69,56	100% ^c	71,48
	Среднее ^b число блох (n)	5,71		0,0		0,12		0,0	
	Размах значений (n)	0-43	60-77	0	62-80	0-1	59-80	0	65-79
Неделя 12	Эффективность (%)	91,4% ^c	69,02	100% ^c	74,24	99,8% ^c	76,44	100% ^c	73,25
	Среднее ^b число блох (n)	45,91		1,49		1,02		0,0	
	Размах значений (n)	15-75	64-75	0-14	67-77	0-16	72-80	0	68-78
	Эффективность (%)	33,5 %		98,0% ^c		98,7% ^c		100% ^c	

^aОценка зависимости числа блох от времени (ч) после применения препарата или после повторного заражения блохами на протяжении периода действия препарата.

^bСреднее геометрическое.

^cЗначение логарифма числа живых блох в группе, получившей препарат, значимо отличалось ($p \leq 0,05$) от аналогичного показателя в соответствующей контрольной группе, не получившей препарат.

на конечной стадии развития. Самки блох начинают откладывать яйца через 24–48 часов после начала кровососания, которое играет важную роль в процессе образования и созревания блошиных яиц [10]. Уничтожая на протяжении длительного срока (12 недель) всех только что появившихся взрослых блох до того, как они начнут откладывать яйца, мы тем самым прерываем жизненный цикл блохи, т.е. не даем появиться на кожно-волосных покровах собаки личинкам, куколкам и новым взрослым особям. Долгосрочная эффективность в отношении блох подкрепляется дополнительным влиянием на репродуктивные процессы у блох, поскольку флураланер напрямую подавляет развитие куколок и, таким образом, препятствует появлению новых взрослых особей блох [11]. Таким образом, лечение флураланером не только приводит к уничтожению существующей популяции блох у конкретного животного, но и способствует прерыванию жизненного цикла блохи и, таким образом, искоренению блох в ареале их обитания. Благодаря тому, что флураланер начинает действовать быстрее, возможность укусить животное имеет меньшее число блох, что способствует профилактике БАД [8], часто даже устраняя необходимость в дальнейшей сопутствующей терапии [неопубликованные наблюдения]. Распространенная причина неудовлетворительной результативности лечения эктопаразитов у собак – несоблюдение их владельцами протоколов применения существующих противоэктопаразитарных препаратов, требующих введения повторных доз раз в месяц [12,13]. Несоблюдение владельцами животных правил применения этих препаратов может также приводить к появлению резистентных блох в популяции, поскольку тем самым особям, у которых развилась невосприимчивость к инсектицидам, предоставляется возможность выжить [13]. Продолжительный интервал повторного введения препарата и лучшее соблюдение владельцем животного графика его применения способствуют снижению вероятности развития резистентности. Таким образом, применение действующего вещества с продолжительным интервалом повторного введения, такого как флураланер, позволяет достичь большего эффекта в уничтожении блох.

Выводы

После однократного перорального введения флураланера собакам в виде жевательной таблетки (Бравекто™), процесс уничтожения блох начинается уже через 1 час; эффективность в отношении блох составляет 98–100 % – через 8 часов после применения препарата или в случае повторного заражения на протяжении всего 12-недельного периода действия препарата. Флураланер эффективно уничтожает блох в

течение нескольких часов после заражения, чем способствует прерыванию жизненного цикла блохи и, соответственно, снижению популяции блох в окружающей среде. Препарат также способствует профилактике и лечению БАД. Более длительный интервал повторного применения флураланера (Бравекто™) значительно удобнее схем с ежемесячным применением препаратов против блох, что обуславливает его вероятное преимущество в плане лучшего соблюдения владельцами животных графика лечения.

Конфликт интересов

Автор JF является сотрудником компании ClinVet, а все остальные авторы данной статьи являются сотрудниками компании MSD Animal Health. Эти исследования проводились в контексте более крупной программы исследований, посвященной оценке безопасности и эффективности флураланера для лечения поражения блохами и клещами у собак и кошек.

Личный вклад авторов

Дизайн и протокол данного исследования, а также отчет по его результатам подготовлены авторами JT, AH, RR и JF. Автор JF и его коллеги в компании ClinVet SA отвечали за фазу проведения исследований на животных и сбор данных, а EZ – за статистическую обработку данных. Дизайн и протокол данного исследования, а также отчет по 2 исследованиям скорости уничтожения паразитов подготовили авторы CW, HW, AH и RR. Исследование было проведено на базе компании MSD Animal Health; автор EZ провел статистические расчеты. Все авторы изучили и утвердили окончательную версию.

Выражение признательности

Авторы статьи хотели бы выразить благодарность всем сотрудникам компаний MSD Animal Health и ClinVet SA за их помощь и вклад в проведении этих исследований.

Author details

¹MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany (Германия). ²ClinVet International, Uitsigweg, Bainsvlei, 9338 Bloemfontein, Free State, South Africa (ЮАР).

Received: 24 July 2014 Accepted: 24 November 2014

Published: 4 December 2014

Список литературы

1. Dryden MW, Rust MK. The cat flea: Biology, ecology and control. *Vet Parasitol* 1994, **52**:1–19.
2. Carlotti DN, Jacobs DE. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Vet Derm* 2000, **11**:83–98.
3. Bruet V, Bourdeau PJ, Roussel A, Imperato L, Desfontis JC. Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol* 2012, **23**:487–93.
4. Rust MK, Dryden MW. The biology, ecology, and management of the cat flea. *Annu Rev Entomol* 1997, **42**:451–73.
5. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahari K, Mita T. The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, **391**:744–9.
6. Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and L-glutamatergic chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol* 2014, **45**:111–24.
7. Bravecto EPAR summary for the public. *European Medicines f. Agency*. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/veterinary/002526/WC500163861.pdf.
8. Rohdich N, Roepke RKA, Zschiesche E. A randomized, blinded controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. *Parasit Vectors* 2014, **7**:83.

9. Walther F, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC. **The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:84.
10. Blagburn BL, Dryden MW. **Biology, treatment and control of flea and tick infestations.** *Vet Clin N Am* 2009, **39**(6):1173–200.
11. Williams H, Young DR, Qureshi T, Zoller H, Heckerroth AR. **Fluralaner, a novel isoxazoline, prevents flea (*Ctenocephalides felis*) reproduction in vitro and in a simulated home environment.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:275.
12. 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 an questionnaire study.** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2013, **126**:69–76.
13. Coles TB, Dryden MW. **Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats.** *Parasit Vectors* 2014, **7**:8.

doi:10.1186/s13071-014-0567-6

Cite this article as: Taenzler *et al.*: Начало активности флуранера (Бравекто™) в отношении блохи кошачьей (*Ctenocephalides felis*) у собак. *Parasites & Vectors* 2014 **7**:567.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

