

Сравнительная фармакокинетика флуранелера у собак и кошек после однократного местного или внутривенного введения.

Susanne Kilp^{*1}, Diana Ramirez², Mark J Allan¹, Rainer KA Roepke¹

Реферат

Общие сведения: БравектоTM жевательные таблетки для собак, содержащие флуранелер в качестве действующего вещества, являются инновационным препаратом для лечения инфеcтации блохами и клещами, обеспечивающим быстрый и длительный эффект после однократного перорального применения у собак. Флуранелер для местного нанесения также обеспечивает безопасный, быстрый и длительный эффект у собак и кошек. Фармакокинетические характеристики флуранелера изучались у собак и кошек после местного нанесения или внутривенного введения.

Методы: 24 собаки и 24 кошки получили 3 разные дозы наружно, причём средняя доза определялась исходя из соответствующей минимальной рекомендованной дозы, и одну дозу внутривенно. Образцы крови собирались в течение 112 суток, и концентрация флуранелера определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на валидированной системе. Фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью некомпартментного подхода.

Результаты: у собак флуранелер быстро всасывался из места нанесения в кожу, подкожные ткани и кровь. Концентрация флуранелера в плазме характеризовалась плато в промежутке с 7 до 63 суток, t_{max} у отдельных животных приходились на этот период. После фазы плато концентрация медленно снижалась и определялась в течение более 12 недель. У кошек флуранелер быстро всасывался в системный кровоток из места нанесения, максимальная концентрация (C_{max}) в плазме наблюдалась с 3 по 21 сутки после применения, после чего концентрация медленно снижалась и также определялась в течение более 12 недель. Системное воздействие, характеризуемое C_{max} и площадью под кривой «концентрация—время» с начального момента до момента регистрации последней определяемой концентрации ($AUC_{(0 \rightarrow t)}$), росло пропорционально дозе у обоих видов. После внутривенного введения флуранелер характеризовался относительно высоким кажущимся объёмом распределения (V_z), низким клиренсом плазмы, длительным терминальным периодом полувыведения ($t_{1/2}$) и длительным временем удержания (MRT), что указывает на длительное сохранение флуранелера в организме животных обоих видов.

Выводы: фармакокинетические характеристики флуранелера позволяют объяснить

* Адрес для корреспонденции: susanne.kilp@msd.de

¹ MSD Animal Health Innovation GmbH, Цур-Пропштай, Швабенхейм, 55270, Германия. Полная информация об авторах приведена в конце статьи.

значительную продолжительность его действия в отношении блох и клещей у собак и кошек после однократного местного применения.

Ключевые слова: Флураланер, собака, кошка, фармакокинетика, Бравекто™, раствор для точечного нанесения

Общие сведения

Бравекто™ жевательные таблетки для собак, содержащие флураланер в качестве действующего вещества, являются инновационным промышленно выпускаемым препаратом для лечения инфекации блохами и клещами, обеспечивающим быстрый и длительный эффект после однократного перорального применения у собак [1-4]. Активный компонент флураланер принадлежит к изоксазолинам— новому классу соединений с сильным противопаразитарным эффектом. Флураланер действует на ГАМК- и глутаматзависимые хлоридные каналы и обладает значительной селективностью в отношении нейронов членистоногих в сравнении с нейронами млекопитающих [5], что указывает на широкий диапазон безопасности этого противопаразитарного соединения. Флураланер хорошо переносится даже в дозах, существенно превышающих клинически оправданные [2]. Флураланер обладает высокой активностью в отношении блох и клещей при попадании в их организм при кормлении, т.е. блохи и клещи подвергаются действию активного компонента с началом кормления [6].

Недавно разработанный препарат флураланера для точечного нанесения (Бравекто™ раствор для точечного нанесения, MSD Animal Health) также обеспечивает безопасный, быстрый и длительный эффект в отношении блох и клещей у собак и кошек. Однократное местное применение флураланера в минимальной рекомендованной дозе, составляющей 25 мг/кг массы тела (МТ) у собак и 40 мг/кг МТ у кошек, обеспечивает защиту от блох и клещей в течение как минимум 12 недель. Лишь непродолжительное время необходимо для эффективного уничтожения блох (<8 ч.) и клещей (<12 ч) у собак [7] и кошек, обработанных препаратом для местного применения. Быстрое начало и существенная продолжительность действия после однократного местного нанесения обеспечивает большее удобство лечения по сравнению с препаратами от блох и клещей для ежемесячного применения, что, как предполагается, способно привести к повышению комплаентности хозяев домашних животных. Повышенная комплаентность помогает уменьшить перерывы в защите, могущие возникнуть при пропуске препаратов для ежемесячного применения.

Раствор для точечного нанесения Бравекто™ представляет собой дополнительную возможность обеспечить эффективное лечение. Так, поедаемость жевательных таблеток составляет 92,5% [8]; таким образом, часть собак может быть легче обрабатывать средством для наружного применения; кроме того, для собак, нуждающихся в гипоаллергенном рационе, наружное средство может быть предпочтительно. Раствор для точечного нанесения Бравекто™ — единственный доступный препарат с действующим веществом класса изоксазолинов для кошек, обеспечивающий системную защиту от блох и клещей в течение 12 недель и, таким образом, удовлетворяющий насущную потребность владельцев и ветеринарных врачей в эффективном и надёжном средстве для стойкого контроля эктопаразитов у кошек.

Фармакокинетический профиль флураланера у собак и кошек после однократного местного применения описывает скорость всасывания, распределения и выведения и даёт информацию, важную для определения начала, величины и продолжительности эффекта.

Поэтому фармакокинетические характеристики флурананера для местного применения (раствор для точечного нанесения Бравекто™) исследованы в рамках аналогичного дизайна в параллельных группах у собак и кошек.

Методы

В обоих исследованиях животные обрабатывались препаратом — раствором для точечного нанесения Бравекто™, — произведённым в соответствии с Надлежащей производственной практикой [9]. Флурананер для внутривенного (в/в) введения приготовлен в виде 2,5% раствора в ПЭГ200, содержащем 10% (об./об.) воды для инъекций.

Все исследования соответствуют принципам Надлежащей лабораторной практики [10]. Работа с животными проводилась в соответствии с действующим национальным законодательством и, после рассмотрения, утверждена Комитетом по этике экспериментов на животных ENVIGO CRS S.A.

Этап in vivo

В фармакокинетическом исследовании на собаках 24 здоровых самца и самки породы бигль (возраст 12—17 месяцев, масса тела 7,4—12,1 кг) содержались в помещении в загонках, полы которых были покрыты защитным покрытием; содержание было индивидуальным до 5 недель после местного нанесения флурананера для недопущения перекрёстного заражения животных. После этого 5-недельного периода собаки содержались в группах по 3 животных одного пола и из одной группы. В фармакокинетическом исследовании на кошках 24 здоровых самца и самки европейских короткошёрстных кошек (возраст 9—11 месяцев, масса тела 2,2—4,8 кг) содержались в клетках поодиночке для недопущения перекрёстного заражения животных.

Во время индивидуального содержания животным были обеспечены индивидуальные социальные ежедневные контакты с ухаживавшим за ними работником за пределами загонков/клеток. Микроклимат в обоих исследованиях контролировался постоянно: температура поддерживалась в пределах 15—21°C, относительная влажность — 40—70%, кратность воздухообмена — 10-20 смен воздуха/ч, с чередованием 12-часовых периодов освещения люминесцентными лампами и 12-часовых периодов темноты. Собак и кошек кормили один раз в день утром стандартным кормом при свободном доступе к воде.

Собак и кошек в каждом исследовании рандомизировали по 4 группам (по 3 животных каждого пола в каждой группе) отдельно для каждого пола и разделяли по весовым категориям, чтобы обеспечить сбалансированное распределение.

Одна группа из 6 животных получала препарат внутривенно путём инфузии с постоянной скоростью в течение 5 минут с применением автоматической системы для инъекций (KDS Model 200, KD Scientific Inc., Холлистон, США) в дозе 12,5 мг флурананера / кг массы тела. Часовая скорость введения (мл/ч) была приблизительно в 12 раз выше соответствующего объёма препарата, что позволило обеспечить полноту введения в течение 5 минут (данные для в/в введения собакам опубликованы ранее в работе Kilp et al. [4]).

Все дозы препаратов для местного применения рассчитаны исходя из массы тела каждого животного по отдельности и номинального содержания флурананера. В исследовании на собаках флурананер (раствор для точечного нанесения Бравекто™) применялся местно в 3 группах собак в дозе 12,5, 25 и 50 мг/кг массы тела и наносился дорсально на одну или несколько точек на спине собаки. Первая точка находилась

между лопатками, а последующие, если назначенный объём препарата требовал нанесения в нескольких местах, располагались на расстоянии 5—10 см каудально относительно предыдущей. В исследовании на кошках флуранер (раствор для точечного нанесения Бравекто™) применялся местно в дозе 20, 40 и 80 мг/кг массы тела и наносился дорсально на одну или несколько точек на спине кошки. Первая точка находилась у основания черепа, а последующие, если назначенный объём препарата требовал нанесения в нескольких местах, располагались на расстоянии 5—10 см каудально относительно предыдущей.

Образцы крови собирались из яремной вены в пробирки с цитратом натрия до введения препарата и через 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105 и 112 дней после местного применения, а также через 15 мин., 2, 4 и 8 ч., а затем через 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 49, 63, 77, 91 и 112 дней после в/в введения. Плазма выделялась путём центрифугирования и хранилась в замороженном виде ($-75^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$) в стерильных пластиковых флаконах до момента анализа. Тщательное наблюдение за животными велось в течение 1 ч. после применения препарата, а затем ежедневно один раз в день.

Анализ методом ВЭЖХ-МС/МС

Концентрацию флуранера в плазме измеряли методом ВЭЖХ-МС/МС по методике, прошедшей валидацию согласно действующим рекомендациям [11—13]. Образцы плазмы получали путём осаждения белка ацетонитрилом и разбавляли 0,1% муравьиной кислотой. Полученный раствор подвергали количественному анализу с помощью системы автоматической твердофазной экстракции, совмещённой с ВЭЖХ-МС/МС (ТФЭ-ВЭЖХ-МС/МС). Диапазон линейности методики при определении флуранера составлял от 10,0 до 2500 нг/мл, а валидированный предел количественного определения (ПКО) — 10,0 нг/мл.

Фармакокинетический анализ

Фармакокинетические параметры флуранера рассчитывали с помощью некомпартментного подхода с применением прошедшего валидацию ПО WinNonlin® Professional Version 5.3 (Pharsight Corporation, Калифорния, США). $C_{\max}$ и время достижения пиковой концентрации ($t_{\max}$) являлись наблюдаемыми величинами. Время полувыведения ($t_{1/2}$) рассчитывалось с помощью линейной регрессии по угловому коэффициенту конечного сегмента графика временной зависимости концентрации в плазме в полулогарифмических координатах. $AUC_{(0-t)}$ рассчитывалась линейным методом трапеций. Экстраполированная AUC от начального момента времени до бесконечности ($AUC_{(0-\infty)}$) определялась как $AUC_{(0-t)} + C_t/\lambda_z$, где C_t — концентрация в плазме в момент t , а λ_z — константа скорости первого порядка для конечного (лог-линейного) участка графика. V_z после в/в введения рассчитывался для конечного участка как $\text{доза}/\lambda_z \times AUC$. Общий клиренс (Cl) после в/в введения рассчитывался как $\text{доза}/AUC$. Биодоступность ($F\%$) при местном применении рассчитывалась на основе средних $AUC_{(0-t)}$ как $(AUC_{(0-t)} \text{ местно} / AUC_{(0-t)} \text{ в/в}) \times (\text{доза в/в} / \text{доза местно}) \times 100$. MRT, экстраполированное на бесконечность, рассчитывалось как отношение $AUMC/AUC$, где AUMC — площадь под кривой первого момента.

Пропорциональность дозы проверяли для параметров экспозиции $C_{\max}$ и $AUC_{(0-t)}$. С этой целью нормированные на (номинальную) дозу значения анализировали с помощью одностороннего дисперсионного анализа, где параметры экспозиции являлись зависимой переменной, а номинальная доза — независимой переменной. Нулевая гипотеза тестируемой модели заключалась в равенстве групп с одинаковыми дозами (уровень достоверности $\alpha = 5\%$), т.е. в пропорциональном росте параметров

экспозиции $C_{\max}$ и $AUC_{(0-t)}$. Если нулевая гипотеза не будет опровергнута, это означает, что данные, опровергающие дозопропорциональность флураналанера, отсутствуют.

Все данные выражены как среднее арифметическое, если не указано обратное. Отдельные значения, для которых разность между $AUC_{(0-\infty)}$ и $AUC_{(0-t)}$ превышает 20% $AUC_{(0-\infty)}$ и/или скорректированный r^2 (квадрат коэффициента корреляции) линии регрессии для конечной фазы $< 0,85$, считались недостоверными и, как следствие, не учитывались при расчёте среднего. Для графического представления средних концентраций флураналанера в плазме значения ниже ПКО (10 нг/мл) устанавливались на уровне $\frac{1}{2}$ ПКО (5 нг/мл), за исключением случаев, когда все значения в тот или иной момент времени были менее ПКО.

Обсуждение результатов

Фармакокинетический профиль флураналанера у собак и кошек

В фармакокинетическом исследовании у собак каждая из четырёх групп по 6 собак получала флураналанер в качестве средства для наружного применения в одной из трёх доз (12,5, 25 или 50 мг/кг) или в/в в целевой дозе 12,5 мг/кг. В фармакокинетическом исследовании у кошек каждая из четырёх групп по 6 кошек получала флураналанер в качестве средства для наружного применения в одной из трёх целевых доз (20, 40 или 80 мг/кг) или в/в в целевой дозе 5 мг/кг. Ни в одном исследовании не получено клинических данных или информации о наступивших после применения препарата нежелательных явлениях, которые могли бы быть связаны с лечением флураналанером.

После наружного применения у собак флураналанер быстро проникает в кожу и подкожные ткани в достаточном количестве, чтобы обеспечить быстрое начало эффективного уничтожения блох (< 8 ч.) и клещей (< 12 ч.), в организм которых флураналанер попадает при кормлении [6, 7]. Неоднократное интенсивное мытьё шерсти шампунем начиная с 3 дней после местного применения не снизило эффективность в отношении блох и клещей на протяжении 12 недель [14]. Так как флураналанер обладает низкой активностью при контакте, но высокой активностью при проглатывании паразитами [6], это согласуется с быстрым проникновением в кожу и распределением в тканевой жидкости, где флураналанер может проявлять своё действие в отношении эктопаразитов при их кормлении.

Концентрация флураналанера в плазме характеризовалась плато в промежутке с 7 до 63 суток, $t_{\max}$ у отдельных животных приходились на этот период. После фазы плато концентрация флураналанера снижалась, причём в плазме она оставалась определяемой более 12 недель после применения. После в/в введения первоначальное распределение флураналанера происходило быстро, после чего следовала длительная фаза выведения (рис. 1). После как местного применения, так и внутривенного введения на отдельных графиках зависимости концентрации в плазме от времени наблюдались некоторые второстепенные пики, которые могут указывать на перераспределение или рециркуляцию, напр., кишечно-печёночную рециркуляцию.

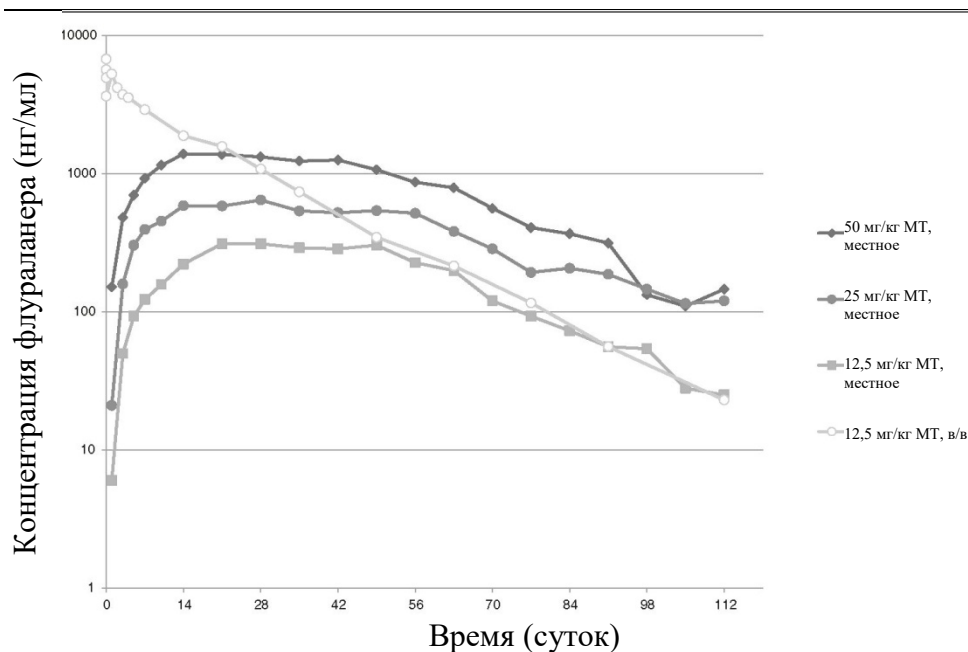


Рис. 1. Средняя концентрация флуранера в плазме крови собак после однократного местного применения и в/в введения

У кошек после местного применения флуранер быстро всасывался, а максимальная концентрация (t_{max}) в плазме достигалась у отдельных животных на 3—21 сутки. После достижения максимума концентрация флуранера постепенно снижается, причём определяемые концентрации в плазме сохраняются более 12 недель после применения. После в/в введения первоначальное распределение флуранера происходило быстро, после чего следовала длительная фаза выведения (рис. 2).

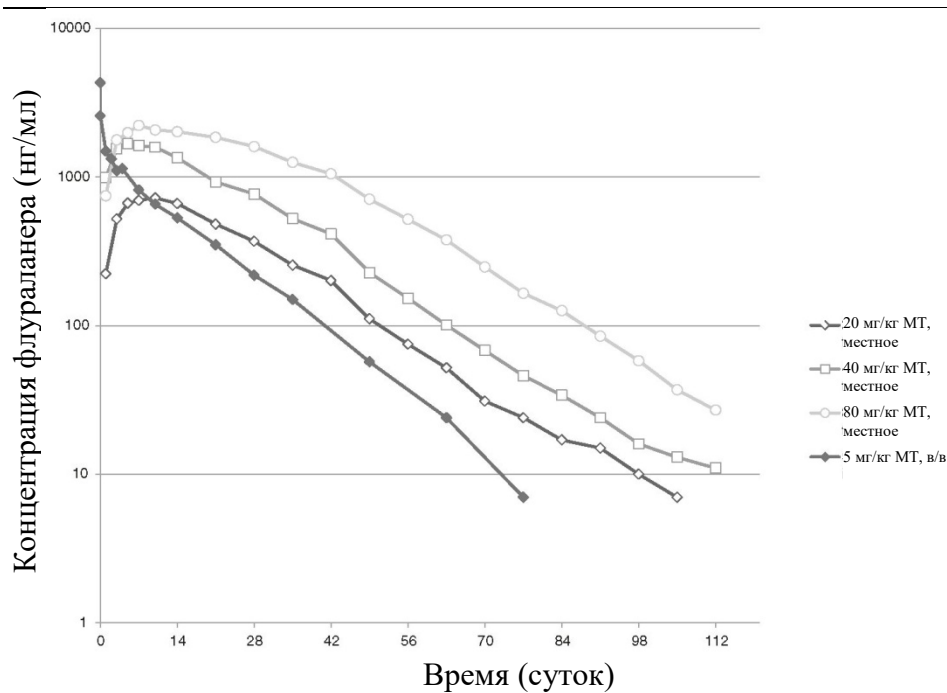


Рис. 2. Средняя концентрация флуранера в плазме крови кошек после однократного местного применения и в/в введения

Таблица 1. Средние арифметические фармакокинетических параметров флураланера в плазме крови собак после однократного местного применения и в/в введения

Параметры	Местное, 12,5 мг/кг, n = 6	Местное, 25,0 мг/кг, n = 6	Местное, 50,0 мг/кг, n = 6	Внутривенное ^b , 12,5 мг/кг, n = 6
C _{max} (нг/мл)	358 ± 94	727 ± 191	1698 ± 318	7109 ± 908
t _{max} (сут.)	42 (размах 21-63)	25 (размах 14-56)	25 (размах 7-42)	н/п
AUC _(0-t) (сут. × нг/мл)	18933 ± 3599	41243 ± 7467	85852 ± 17283	87198 ± 11835
AUC _(0-∞) (сут. × нг/мл)	19577 ± 3982	43375 ^c ± 8752	93468 ^c ± 20424	87779 ± 12004
t _{1/2} (сут.)	17 ± 4	21 ^c ± 3	17 ^c ± 3	15 ± 2
t _{посл} (сут.)	112 ± 0	112 ± 0	112 ± 0	109 ± 9
MRT (сут.)	47 ± 1	48 ^c ± 4	43 ^c ± 6	20 ± 3
Cl (л/кг/сут.)	н/п	н/п	н/п	0,14 ± 0,02
V _z (л/кг)	н/п	н/п	н/п	3,1 ± 0,5
F (%)	22 ± 4	24 ± 4	25 ± 5	н/п

^a Медиана, другие значения — среднее ± стандартное отклонение

^b Данные ранее опубликованы в работе Kilp et al. [4]; ^c Среднее для n = 4 (50,0 мг/кг)/ n = 5 (25,0 мг/кг) значений; другие значения исключены как недостоверные, см раздел «Методы».

н/п: неприменимо.

Согласно расчётам, системная биодоступность после местного нанесения как у собак, так и у кошек составляла ≈25%. Увеличение степени и продолжительности воздействия, на которое указывает C_{max} и AUC_(0-t), по-видимому, пропорционально дозе. Статистически достоверных различий между группами, получавшими разные дозы, по нормированным на дозу параметрам экспозиции AUC_(0-t) и C_{max} (дисперсионный анализ, p = 0,533 (собаки) / 0,866 (кошки) для AUC_(0-t) и p = 0,388 (собаки)/0,254 (кошки) для C_{max}) не было, что указывает на отсутствие данных, противоречащих нулевой гипотезе пропорциональности дозе флураланера и подтверждает линейность кинетики в диапазоне доз от 12,5 мг/кг до 50 мг/кг МТ для собак и от 20 до 80 мг/кг МТ для кошек.

Учитывая общий объём воды в организме (приблизительно 0,6 л/кг для собак и 0,5 л/кг для кошек) [15], флураланер имеет относительно высокий кажущийся объём распределения (V_z = 3,1 л/кг у собак и 3,5 л/кг у кошек) в тканях после в/в инфузии [4]. Это является ожидаемым, так как физико-химические свойства флураланера, молекулярная масса которого составляет 556,29 и который в физиологическом интервале рН (1-12) существует в неионизированной форме и характеризуется низким значением logP_{ow}, равным 5,35 [4, 5], способствуют проникновению через клеточные мембраны.

Для флураланера основным путём выведения, вероятно, является печёночный, так как высокая степень связывания с белками плазмы [4] указывает на минимальную роль выведения посредством почечной фильтрации. Как следствие, можно предполагать, что элиминирование из плазмы эквивалентно печёночному клиренсу. Клиренс флураланера низок и составляет всего 0,14 л/кг/сутки у собак [4] и 0,23 л/кг/сутки у кошек. Учитывая, что физиологичный кровоток через печень составляет приблизительно 44,5 л/кг/день у собак и 38,6 л/кг/день у кошек [15], и предполагая, что печёночный клиренс флураланера равен 0,14 л/кг/день и 0,23 л/кг/день соответственно, печёночная экстракция флураланера, по оценкам, низка (0,3% у собак [4] и 0,2% у

кошек).

Таблица 2. Средние арифметические фармакокинетических параметров флуранерона в плазме крови кошек после однократного местного применения и в/в введения

Параметры	Местное, 20,0 мг/кг, n = 6	Местное, 40,0 мг/кг, n = 6	Местное, 80,0 мг/кг, n = 6	Внутривенно е, 5,0 мг/кг, n = 6
C _{max} (нг/мл)	757 ± 328	1850 ± 808	2399 ± 865	4302 ± 435
t ^a _{max} (сут.)	9 (размах 5-10)	6 (размах 3-14)	9 (размах 7-21)	н/п
AUC(0—t) (сут. × нг/мл)	22065 ± 7996	48161 ± 15294	89193 ± 21413	21863 ± 2160
AUC0—∞ (сут. × нг/мл)	22276 ± 7996	48400 ± 15177	89690 ± 21479	22141 ± 2105
t _{1/2} (сут.)	13 ± 2	12 ± 4	12 ± 1	11 ± 1
t _{посл} (сут.)	93 ± 14	102 ± 12	110 ± 6	68 ± 7
СВУ (сут.)	24 ± 3	23 ± 7	29 ± 5	15 ± 1
Cl (л/кг/сут.)	н/п	н/п	н/п	0,23 ± 0,02
V _z (л/кг)	н/п	н/п	н/п	3,5 ± 0,5
F (%)	25 ± 9	28 ± 9	25 ± 6	н/п

^a Медиана, другие величины — среднее ± стандартное отклонение, н/п — не применимо

Низкий клиренс может быть обусловлен высокой степенью связывания флуранерона с белками плазмы, которая ограничивает концентрацию несвязанной фракции флуранерона, доступной для выведения выделительными органами, в крови, и/или низкой собственной способностью печени метаболизировать флуранерон [16—18].

Так как элиминированию органами выделительной системы могут подвергаться только несвязанные вещества в кровотоке, то кажущийся объём распределения (относительно высокий) и клиренс (низкий) являются факторами, определяющими терминальное время полувыведения [16—18]. Соответственно, не только средний t_{1/2}, но и MRT флуранерона велики. У обоих видов флуранерон определялся в плазме в течение более 12 недель после лечения, что указывает на длительное удержание в организме (рис. 1 и 2).

Терминальный период полувыведения из плазмы крови после местного применения и в/в введения сопоставим; это указывает на то, что концентрация флуранерона в плазме на конечном этапе соответствует истинной фазе выведения. MRT после местного применения было существенно большим, чем после в/в введения, что обусловлено длительностью этапа всасывания.

Некомпаратментные фармакокинетические параметры, рассчитанные исходя из данных зависимости концентрации флуранерона от времени, представлены для собак (табл. 1) и кошек (табл. 2).

Сравнение фармакокинетического профиля у собак и кошек

Фармакокинетический профиль у собак и кошек характеризуется длительным удержанием флуранерона. Это обусловлено высокой степенью связанности с белками плазмы, относительно высоким объёмом распределения и очень низким клиренсом у обоих видов, что обуславливает большую величину терминального периода полувыведения (11 суток у кошек и 15 суток у собак) и MRT (15 суток у кошек и 20 суток у собак) флуранерона.

Максимальная концентрация флуранерона в плазме у собак и кошек при

сопоставимых дозах близка ($C_{\max} = 727$ нг/мл у собак при дозе 25 мг/кг МТ и 757 нг/мл у кошек при дозе 20 мг/кг МТ).

Несмотря на то, что при сопоставимых дозах препарата для местного применения $C_{\max}$ у обоих видов близка, величина системной экспозиции, характеризуемая AUC, у кошек была приблизительно в 2 раза меньше, чем у собак. Профиль концентрации в плазме у собак характеризовался длительным плато между 7 и 63 сутками, в то время как у кошек $t_{\max}$ наступало быстрее, после чего наступала более длительная и несколько более крутая фаза терминального выведения, что указывает на более быстрое всасывание и более быстрое выведение флуранера. Это также выражается в более коротком терминальном периоде полувыведения и MRT у кошек после местного нанесения (12—13 и 23—29 суток) у кошек, чем у собак (17—21 и 43—48 суток).

Эти результаты служат дополнительным обоснованием более высокой минимальной рекомендованной дозы флуранера при местном применении у кошек (40 мг/кг МТ), чем у собак (25 мг/кг МТ), обеспечивающей защиту от блох и клещей на протяжении 12 недель.

Выводы

Фармакокинетические характеристики флуранера позволяют объяснить значительную продолжительность его действия в отношении блох и клещей у собак и кошек после однократного местного применения.

Декларация соответствия

Данное исследование проведено в Испании после получения разрешения соответствующих регуляторных органов.

Конфликт интересов

Все авторы, кроме DR, являются сотрудниками MSD Animal Health.

Вклад авторов

SK, DR, MJA и RKAR являются авторами дизайна и протокола исследования, осуществляли надзор за ходом исследования и проводили интерпретацию результатов. SK составила проект рукописи, и все авторы прочитали и утвердили её итоговую версию.

Благодарности

Авторы хотели бы поблагодарить всех сотрудников, участвовавших в проведении исследования и подготовке рукописи.

Информация об авторах

¹ MSD Animal Health Innovation GmbH, Цур-Пропштай, Швабенхейм, 55270, Германия.

² ENVIGO CRS S.A., Centro Industrial Santiga, c/Argenters, 6, 08130, Santa Perpetua de Mogoda, Барселона, Испания.

Поступило в редакцию: 30 октября 2015 г.

Принято в печать: 4 мая 2016 г.
Опубликовано онлайн: 31 мая 2016 г.

Литература: