

Влияние воды и шампуня на эффективность раствора флураланера для местного применения (спот-он) в отношении инвазий *Ixodes ricinus* и *Ctenocephalides felis* у собак

Taenzler et al.

Тезисы

Исходные данные: раствор флураланера для местного применения (спот-он) обеспечивает немедленный и постоянный эффект в отношении инвазий клещей и блох у собак и кошек на протяжении 12 недель после нанесения. Действующее вещество, входящее в состав препарата, системно распределяется путем трансдермального всасывания. Таким образом, в исследовании оценивалась гипотеза о том, влияет ли воздействие воды или шампуня у собак, обработанных местным раствором флураланера, на последующую эффективность препарата в отношении клещей и блох.

Методы: тридцать две собаки породы бигль были распределены в 4 группы исследования, каждая из которых включала по 8 собак. В день 0 собаки в 2 группах лечения получали местно флураланер (Бравекто™ Спот Он) в соответствии с инструкцией по применению. В двух контрольных группах собаки не получали лечения. В день 3, 21, 49 и 77 собак в одной группе лечения и в одной контрольной группе погружали в воду на срок 2-5 минут, в то время как собаки в другой группе лечения и в контрольной группе обрабатывались шампунем в течение 6-8 минут. Для этого использовался доступный на рынке пенящийся продукт, не имеющий запаха, представленный в виде микроэмульсии. На день 4, 28, 56 и 84 все собаки заражались клещами *Ixodes ricinus* (50 ± 2 самки и 10 ± 2 самца) и блохами *Ctenocephalides felis* (100 ± 4) с последующим удалением блох и клещей и их подсчетом через 48 ± 2 часа после инвазии. Эффективность в отношении блох и клещей рассчитывалась для каждого момента времени.

Результаты: ни у одной из 16 собак, получавших лечение местным раствором флураланера, за время лечения не отмечалось связанных с лечением нежелательных явлений.

Эффективность в отношении клещей в каждый оцениваемый момент времени составила от 99,7% до 100% в группе, где собак погружали в воду, и от 99,2% до 100% в группе, где использовался шампунь. Эффективность в отношении блох составила 100% в каждый момент времени оценки, как в группе водного воздействия, так и в группе, где применялся шампунь. Снижение инвазии блохами и клещами в обеих группах лечения было значимым во все моменты времени, когда проводилась оценка ($p < 0,0001$).

Выводы: ни погружение в воду, ни воздействие шампуня после однократного местного применения раствора флураланера не оказывают влияния на эффективность флураланера в отношении блох и клещей при применении с рекомендуемым интервалом нанесения, составляющим 12 недель.

Ключевые слова: Bathing (купание), Bravecto™ spot-on solution (Бравекто Спот Он), Fluralaner (флураланер), Dog (собака), Flea (блоха), *Ctenocephalides felis*, Efficacy (эффективность), Water-immersion (погружение в воду), Shampooing (купание с шампунем), Tick (клещи), *Ixodes ricinus*.

Исходные данные

Клещи и блохи – наиболее важные эктопаразиты, встречающиеся у собак по всему миру. Они вызывают дискомфорт у зараженных собак, а также являются предметом беспокойства для владельцев в случае поражения их питомцев. Кроме того, есть риск развития вторичных осложнений, например, блошиного аллергического дерматита (БАД) [1] и трансмиссивных заболеваний. [2, 3]. Таким образом, борьба с клещами и блохами у собак остается важной медицинской и ветеринарной проблемой.

За последние десятилетия число препаратов и вариантов борьбы с блохами и клещами значительно возросло, в частности, за счет комбинирования различных активных компонентов в одну лекарственную форму с целью расширения спектра антипаразитарного действия или за счет использования различных путей введения препарата, включая пероральные, инъекционные и местные формы. Таким образом, ветеринарные врачи и владельцы животных могут выбирать наиболее удобный для них препарат [4, 5].

На продолжительность действия и уровень эффективности препаратов, назначаемых местно, потенциально могут влиять воздействие воды (например, попадание под дождь или плавание) или действия владельца (например, мытье собаки с шампунем). Так, например, некоторые собаки (в частности, служебные или проводящие большую часть времени на природе) могут в значительной степени подвергаться воздействию воды и/или владельцы могут часто мыть собак из косметических соображений или для улучшения их состояния здоровья. Воздействие воды может в значительной степени снизить эффективность местного воздействия имидаклоприда и флуметрина, входящих в состав антипаразитарных ошейников, в отношении блох [6]. Таким образом, при применении местного эктопаразита важно удостовериться, что лечение остается эффективным на всем протяжении рекомендуемого периода лечения, в том числе, учесть возможность повторного воздействия воды или шампуня.

Препарат Бравекто™, в состав которого входит действующее вещество флуранер, доступен на рынке в виде ароматизированных жевательных таблеток [7], а также в последнее время в виде раствора для местного применения [8]. В обеих лекарственных формах флуранер при применении оказывает системное действие и эффективен в отношении эктопаразитов при их питании. Как в форме жевательных таблеток, так и в форме раствора для местного применения препарат оказывает воздействие в течение 12 недель и обеспечивает немедленное стойкое уничтожение клещей и блох у собак. Поскольку раствор флуранера применяется местно и распределяется системно путем трансдермальной абсорбции, высказывалась гипотеза, что мытье или воздействие шампуня у собак, получавших лечение, не оказывает влияния на последующую эффективность уничтожения блох и клещей. Таким образом, цель данного исследования состояла в оценке этой гипотезы путем изучения потенциального воздействия воды (путем имитирования плавания собаки) и потенциального воздействия шампуня на эффективность препарата в отношении уничтожения блох и клещей после однократного применения местного раствора флуранера.

Методы

Проведение исследования

Исследование проводилось в соответствии с принципами надлежащей клинической практики (руководство

VICH GL9, надлежащая клиническая практика, ЕМА, 2000) и в соответствии с нормативно-правовым актом S.I №566 из 2002, согласно которому директива Евросоюза 86/609/ЕС включается в законодательство Ирландии. Исследование было представлено этическому комитету Charles River Laboratories Preclinical Services Ireland Ltd, организация одобрила его проведение. Данный проект представляет собой слепое рандомизированное исследование по эффективности с отрицательным контролем.

Всего 32 собаки породы бигль (16 самцов, 16 самок) с неповрежденным волосяным покровом в месте нанесения препарата (т.е. дорсальная часть спины) в возрасте старше 6 месяцев с массой тела от 8,1 до 18,9 кг были включены в исследование. Все собаки были здоровы, не получали лечения какими-либо противопаразитарными препаратами в течение 3 месяцев до 8-дневного периода акклиматизации, и идентифицировались по номеру микрочипа.

До рандомизации проводилось клиническое обследование собак, и была подтверждена чувствительность к паразитам каждой собаки с помощью заражения 100 ± 4 голодными взрослыми особями *Ctenocephalides felis* с последующим удалением и подсчетом блох через 48 часов (± 2 часа). В исследовании использовался изолят блох, полученный в Кардиффском университете, Великобритания, который сохранялся с 1996 года и в последний раз использовался в августе 2004 года в Charles River Laboratories Preclinical Services Ireland Ltd. У всех собак, включенных в исследование, на шерсти сохранялось более 50% от числа блох, которые были использованы при исходном инфицировании. Ранжирование собак проводилось в пределах особи одного пола по уменьшению числа блох, при этом собаки были случайным образом распределены на 4 группы (в 2 группах проводилось лечение и 2 группы использовались для контроля, в каждой группе проводилась имитация купания или обработка шампунем), каждая группа составила до 8 собак, для создания группы использовался список рандомизации, сгенерированный компьютером.

Все собаки содержались в помещении. На протяжении периодов, когда не проводилось заражение паразитами, вся соответствующая группа собак находилась в одном помещении, в то время как на протяжении периодов заражения паразитами каждая собака содержалась отдельно. В дни, когда собаки содержались отдельно, при этом не предусматривалось каких-либо взаимодействий с собаками, для каждой из них обеспечивалось социальное взаимодействие на протяжении, по меньшей мере, от 2 минут. Социальное взаимодействие подразумевало, что с животными разговаривали, играли, гладили их в помещении, где они находились.

Температура в помещении для собак составляла от 16°C до 20°C, а относительная влажность – от 38% до 73%. Собаки получали стандартный доступный на рынке сухой корм 1 раз/сутки и питьевую воду в неограниченном количестве. Оценка состояния здоровья проводилась 1 раз/сутки на всем протяжении исследования.

Лечение

В день 0 (т.е. в день проведения лечения) собаки в 2 группах лечения получали местно флуранер (Бравекто™ Спот Он) в соответствии с инструкцией производителя. До применения проводилась визуальная оценка состояния кожи и шерсти в местах нанесения препарата для исключения какой-либо патологии, не выявленной до сих пор. Раствор флуранера применялся местно на 1 или 2 участках вдоль по линии позвоночника у со-

баки, в зависимости от применяемого объема. Первая доза вводилась между лопатками, а вторая – приблизительно на 5-10 см каудальнее от первой точки. Шерсть раздвигалась, и конец пипетки помещался вертикально на кожу, при этом раствор вводился непосредственно на кожу путем сжатия пипетки для высвобождения ее содержимого. После нанесения препарата собаку удерживали в вертикальном положении приблизительно на протяжении 5 минут, чтобы убедиться, что не произошло стекания раствора по шерсти животного во время или непосредственно после (5 ± 2 минуты) лечения. Не отмечено признаков ошибок при применении препарата, в частности, разбрызгивания или стекания препарата по шерсти у какого-либо животного, получавшего лечение. У собак в обеих контрольных группах лечение не проводилось.

Купание и обработка собак шампунем

В дни 3, 21, 49 и 77 после лечения собаки в одной группе лечения подвергались воздействию воды, а в другой группе лечения обрабатывались шампунем с использованием доступной на рынке пенящейся микроэмульсии от локального производителя, не имеющей запаха. Шампунь не должен был содержать какого-либо инсектицида для собак (шампунь Allermyl®, Virbac Animal Health, Франция). Собаки в соответствующей контрольной группе обрабатывались водой или шампунем, соответственно, через такие же промежутки времени после лечения, как и собаки в соответствующих группах лечения. Для водной обработки каждая собака погружалась под воду на 2-5 минут в отдельной ванне, содержащей свежую воду комнатной температуры, при этом голова собаки держалась над водой. Для мытья головы на нее отдельно лилась вода. Для обработки шампунем (длительностью 6-8 минут) тело собаки сперва полностью омывалось водой комнатной температуры. Затем проводилось мытье собаки с использованием 15-20 мл шампуня (избегая попадания шампуня на область носа и глаз). Проводился массаж шерсти собак до образования пены. Затем собаку еще раз промывали свежей водой комнатной температуры для удаления остатков шампуня. После погружения в воду или обработки шампунем каждую собаку высушивали с использованием отдельного полотенца, а затем феном.

Одновременное инфицирование клещами и блохами и оценка их числа

В данном исследовании используются изоляты клещей из Словакии, Германии и Ирландии, которые поддерживаются с 2004 года с ежегодным обновлением в Charles River Laboratories Preclinical Services Ireland Ltd. Одновременное инфицирование блохами и клещами проводилось у собак после применения кетамина/ксилазина в дни 4, 28 (4 недели), 56 (8 недель) и 84 (12 недель) после лечения. Каждый раз для заражения собак использовались 100 (± 4) голодных взрослых особей блох *C. felis* и 60 (± 4) жизнеспособных голодных взрослых особей клещей *I. ricinus* (50 ± 2 самки и 10 ± 2 самца). Дополнительное инфицирование 10 взрослыми самцами клещей улучшало возможности присасывания для самок клещей *Ixodes*. Удаление клещей и блох и их подсчет проводился через 48 часов (± 2 часа) после каждого заражения. В соответствии с классификацией клещи делились на мертвых и живых, присосавшихся и не присосавшихся, а также насытившихся и не насытившихся. Блохи классифицировались как мертвые или живые, при этом проводился подсчет только живых взрослых особей блох.

Сотрудники, проводившие подсчет и классификацию блох и клещей, не знали о том, какое лечение получала каждая собака.

Оценка эффективности

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SAS® (SAS Institute Inc., Cary, NC, США, выпуск 9.2). В качестве экспериментальной единицы при всех статистических подсчетах использовалась одна особь (собака). Анализ данных для каждого подсчета числа блох и клещей в отдельный момент времени проводился отдельно. Процент эффективности для блох и клещей рассчитывался для каждой группы лечения в каждый момент оценки времени с использованием геометрического среднего по формуле Эбботта.

Эффективность (%) = $100 \times (MC - MT) / MC$, где MC – среднее число от общего числа живых самок клещей (присосавшихся и не присосавшихся) или от общего числа живых взрослых особей блох у собак в контрольной группе, не получавших лечения (которые погружались в воду или у которых использовался шампунь); и MT – средний показатель общего числа живых самок клещей (присосавшихся и не присосавшихся) или общего числа живых взрослых блох на собаках, получавших лечение (погружавшихся в воду или у которых использовался шампунь). В случае если их число составило 0, геометрическое среднее (блох или клещей) рассчитывалось по следующей формуле:

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

Оценка значимых различий проводилась при учете логарифмических показателей числа живых клещей и блох в каждой группе лечения в каждый момент времени, когда проводилась оценка, а также по логарифмическим показателям в соответствующих контрольных группах, где не проводилось лечение. Для сравнения исследуемых групп использовалась линейная смешанная модель, где исследуемая группа включалась как фиксированный эффект, а выделенный блок собак – как случайный эффект. О двустороннем уровне достоверности заявлялось в случае, если $p \leq 0,05$.

Результаты

Ни у одной из 16 собак, получавших местную терапию раствором флуранера, на протяжении исследования не отмечалось связанных с исследованием нежелательных явлений.

Адекватное заражение клещами (по меньшей мере, у 6 из 8 животных >25% клещей присосалось) было достигнуто во всех контрольных группах во все моменты времени заражения, за исключением животных в контрольных группах, которые обрабатывались шампунем в день 58. В этот момент времени у 5 из 8 животных в контрольной группе частота присасывания клещей составила >25%, и присасывание клещей у отдельных особей составило от 5% до 51,5%. Однако, поскольку это произошло только в одном случае и только у одной собаки, заражение клещами рассматривалось как достаточное для получения надежного результата. Эффективность в отношении клещей в каждый момент времени составила 99,7%-100% после однократного местного применения раствора флуранера в группе, где собак погружали в воду. В группе, где собаки обрабатыва-

лись шампунем, эффективность в отношении клещей в каждый момент времени составила 99,2%-100% времени после однократного применения местного раствора флуранера. Во все моменты времени показано значимое снижение числа клещей в обеих группах лечения ($p < 0,0001$) (таблица 1).

Адекватное заражение блохами (по меньшей мере, у 6 из 8 животных заражение блохами составило >50%) было достигнуто в обеих контрольных группах во все моменты времени заражения, за исключением контрольной группы животных, которые обрабатывались шампунем в день 6. В этот момент времени у 4 из 8 контрольных животных уровень инфицирования блохами составил >50%, и инфицирование блохами у отдельных особей составило от 6% до 97%. Сниженная частота инфицирования у этих собак могла быть связана с тем, что собаки обрабатывались шампунем за 1 день до заражения блохами – на день 4. Во все остальные моменты времени заражения собаки обрабатывались шампунем за 7 дней до заражения блохами. Вместе с тем, поскольку

это произошло только в одном случае, заражение блохами рассматривалось как достаточное для обеспечения надежности результата. Эффективность в отношении блох в каждый момент времени составила 100% после однократного местного применения раствора флуранера как у собак, погружавшихся в воду, так и у собак, которые обрабатывались шампунем. Снижение числа блох в обеих группах лечения было достоверно во все моменты времени, когда проводилась оценка ($p < 0,0001$) (таблица 2).

Обсуждение

Результаты этого исследования показывают, что однократное местное применение раствора флуранера остается высокоэффективным в отношении клещей и блох на протяжении 12 недель после лечения даже в случае повторного погружения в воду (имитация плавания собак) и обработки их шампунем. В реальности избегать намочения шерсти у собак не удастся, и собаки, которые проводят большое количество времени на природе, ско-

Таблица 1. Среднее число клещей и эффективность (%) после однократного местного применения раствора флуранера с последующим погружением собак в воду или обработкой шампунем перед каждым инфицированием клещами

Группа исследования	Моменты времени для оценки ^a	День исследования 6		День исследования 30		День исследования 58		День исследования 86	
		Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль
Погружение в воду	Среднее ^b число клещей (n)	0,0	27,5	0,0	29,7	0,0	19,3	0,1	28,7
	Диапазон числа клещей (n)	0	18-38	0	21-35	0	9 ^d -39	0-1	21-32
	Эффективность %	100 ^c		100 ^c		100 ^c		99,7 ^c	
Обработка шампунем	Среднее ^b число клещей (n)	0,0	28,9	0,0	28,5	0,0	14,3	0,2	29,6
	Диапазон числа клещей (n)	0	20-39	0	20-37	0	3 ^e -31	0-4	21-41
	Эффективность %	100 ^c		100 ^c		100 ^c		99,2 ^c	

a – Оценка числа клещей через 48 часов (± 2 часа) после лечения или повторное инфицирование после лечения.

b – Геометрическое среднее.

c – Логарифмические показатели живых клещей в группе лечения достоверно отличались ($p \leq 0,05$) от логарифмических показателей в соответствующей контрольной группе, где не проводилось лечение

d – У 7 из 8 собак адекватно проведено заражение.

e – У 5 из 8 собак адекватно проведено заражение.

Таблица 2. Среднее число блох и эффективность (%) после однократного местного применения раствора флуранера с последующим погружением собак в воду или обработкой шампунем перед каждым инфицированием блохами

Группа исследования	Моменты времени для оценки ^a	День исследования 6		День исследования 30		День исследования 58		День исследования 86	
		Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль	Флуранер	Контроль
Погружение в воду	Среднее ^b число блох (n)	0,0	92,2	0,0	88,6	0,0	88,3	0,0	81,7
	Диапазон числа блох (n)	0	85-99	0	78-101	0	79-100	0	65-96
	Эффективность %	100 ^c		100 ^c		100 ^c		100 ^c	
Обработка шампунем	Среднее ^b число блох (n)	0,0	34,5	0,0	80,2	0,0	87,7	0,0	89,1
	Диапазон числа блох (n)	0	6 ^d -97	0	55-101	0	78-101	0	73-99
	Эффективность %	100 ^c		100 ^c		100 ^c		100 ^c	

a – Оценка числа блох через 48 часов (± 2 часа) после лечения или повторное инфицирование после лечения.

b – Геометрическое среднее.

c – Логарифмические показатели живых блох в группе лечения достоверно отличались ($p \leq 0,05$) от логарифмических показателей в соответствующей контрольной группе, где не проводилось лечение

d – У 4 из 8 собак адекватно проведено заражение.

рее всего, часто контактируют с водой – в случае дождя или купания. Кроме того, часто собак моют и обрабатывают шампунем с косметическими и гигиеническими целями. Таким образом, важно, чтобы при местном применении длительно действующий эктопаразитицид сохранял эффективность на всем протяжении времени между применениями, даже в случае погружения в воду или обработки шампунем собаки. Исследование показало, что погружение в воду или обработка собак шампунем в виде пенящейся микроэмульсии без запаха, не содержащим какого-либо инсектицида, до 4 раз в течение 12 недель не оказывало влияния на длительность и эффективность местного раствора флуранелера на протяжении 12 недель рекомендуемого интервала между курсами лечения. Таким образом, ветеринарные врачи и владельцы собак не должны беспокоиться, что эффективность в отношении блох и клещей уменьшится в случае, если собака после проведенного лечения флуранелером будет купаться, попадет под дождь или в случае мытья этой собаки с применением шампуня.

Первое погружение собак под воду или обработка шампунем в этом исследовании проводились через 3 дня после нанесения местного раствора флуранелера с последующим заражением блохами и клещами всего через 1 день, при этом эффективность в отношении обоих паразитов составила 100%. Таким образом, погружение в воду и обработка шампунем через 3 дня после местного применения не оказывает влияния на уровень эффективности. Данные фармакокинетики показывают, что флуранелер быстро проникает под кожу при местном назначении, и позволяют предположить, что обработка водой или шампунем не снижает эффективность препарата в отношении блох и клещей в случае, если они будут проводиться даже раньше, чем через 3 дня после лечения [9].

Вероятно, что любое воздействие воды или шампуня на эффективность будет справедливо в отношении любых видов эктопаразитов. Для выбранных исследуемых паразитов (*I. ricinus* или *C. felis*) не показано отрицательного влияния на эффективность при погружении собак под воду или обработке шампунем. Таким образом, ожидается, что такое воздействие не окажет отрицательного влияния в отношении эффективности флуранелера по отношению к другим, чувствительным к нему, эктопаразитам.

Выводы

Ни погружение под воду, ни обработка шампунем после однократного местного применения раствора флуранелера не оказывает влияния на его отличную эффективность в отношении блох и клещей на протяжении 12 недель рекомендуемого периода между лечением.

Конфликт интересов

BG является сотрудником CRL Preclinical Services Ireland Ltd., а все другие авторы данной статьи являются сотрудниками MSD Animal Health. Исследование проводилось в рамках программы исследования оценки влияния погружения под воду и обработки шампунем на эффективность в отношении клещей и блох у собак после однократного местного применения флуранелера.

Вклад авторов

Дизайн исследования, протокол и отчет по исследованию подготовлены JT, AH, RR и BG. BG со своей группой сотрудников в CRL Preclinical Services Ireland Ltd. отвечают за фазу проведения исследования на животных, сбор данных, а EZ – за статистическую обработку. Итоговая версия статьи просмотрена всеми авторами и получила их одобрение.

Благодарности

Авторы хотят отблагодарить всех сотрудников CRL Preclinical Services Ireland Ltd. за их помощь и вклад в проведение исследования.

Получено: 02 ноября 2015 года

Опубликовано: 31 мая 2016 года

Список литературы

1. Драйден MB, Раст МК. Кошачьи блохи: биология, экология и контроль. *Vet Parasitol* (Ветеринарная паразитология). 1994;52:1–19.
2. Шоу СЕ, Кенни МУ, Таскер С, Биртлс РД. Носительство кошачьих блох *Ctenocephalides felis* (Bouché) в Великобритании. *Vet Microbiol* (Ветеринарная микробиология). 2004;102:183–8.
3. Шоу СЕ, Дей МДж, Биртлс РДж, Брайтшвердт ЕБ. Трансмиссивные инфекционные болезни собак. *Trends Parasitol* (Тенденции в паразитологии). 2001;17:74–80.
4. Тейлор МА. Последние достижения в разработке эктопаразитицидов. *Vet J* (Журнал ветеринарии). 2001;161:253–68.
5. Раст МК. Достижения в области борьбы с *Ctenocephalides felis* (кошачьи блохи) у кошек и собак. *Trends Parasitol* (Тенденции в паразитологии). 2005;21:232–6.
6. Галос ЛФ. Дж, Бестер И, Поллмейер М, Бенье Ф. Долгосрочная эффективность в отношении блох (*Ctenocephalides felis*, Bouché 1835) при ежемесячном местном применении лекарственных препаратов на основе фипронила по сравнению с использованием ошейника, содержащего флуметрин/имidakлоприд у собак при регулярном воздействии воды. *Intern J Appl Res Vet Med* (Международный журнал практической ветеринарии). 2014;12:101–6.
7. Европейская комиссия: реестр ветеринарных лекарственных препаратов, информация о препарате Бравекто: приложение 1 «Краткая характеристика препарата». http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/medicines/002526/vet_med_000285.jsp&mid=WC0b01ac058001fa1c.
8. Европейская комиссия. Реестр ветеринарных лекарственных препаратов, информация о препарате Бравекто, http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/medicines/002526/vet_med_000285.jsp&mid=WC0b01ac058001fa1c.
9. Килп С, Рамирез Д, Аллан МДж, Рёпке PA: сравнительная фармакокинетика флуранелера у собак и кошек после местного или однократного внутривенного применения. В печати.