

Эффективность Фронтлайна® «Комбо» при местном применении у собак против различных стадий развития кошачьей блохи

D.R. YOUNG, P.C. JEANNIN, A. BOECKH

До середины XX века контроль блошиной инвазии осуществлялся с помощью неоднократного нанесения профилактических препаратов на шерстный покров животных, обработки мест обитания животных инсектицидами или регуляторами роста насекомых (Marchiondo, 1993; Dryden и Prestwood, 1993). Большинство инсектицидов при первоначальном лечении эффективно уничтожали существующих взрослых особей блох, но не затрагивали возбудителя инвазии на других стадиях развития. Соблюдение владельцами животных программ обработки животных и мест их обитания оказалось очень сложной задачей. По прошествии 2 недель лечение инсектицидами теряло активность в отношении взрослых особей блох, животные вновь заражались блохами из внешней среды, поэтому инфестации носили рецидивирующий или непрерывный характер.

Современная разработка инсектицидов и ингибиторов роста насекомых длительного остаточного действия в удобной форме спот-он существенно улучшила условия соблюдения владельцами животных схем лечения и помогла избавиться от рецидивирующих инфекций/инвазий.

Материалы и методы

На 3 день исследования из 38 животных было отобрано 32 здоровые собаки породы бигль (24 самца и 8 самок) в возрасте 12-66 месяцев массой 10,2-19,8 кг. На 14 день исследования их помыли водой с мягким шампунем и вычесали гребнем. Затем 6 животных с наименьшим количеством взрослых блох были исключены из исследования. Идентификацию собак проводили с помощью уникальной татуировки на ушной раковине. Собаки из группы контроля лечения не получали.

Тестовые вещества — 10% фипронил, 9% (S)-метопрен, а также их комбинация в тех же концентрациях (Фронтлайн® «Комбо», лекарственная форма спот-он).

Исследование проводили с помощью метода рандомизированных блоков. Собак распределяли по

группам по убыванию массы тела с учетом пола. При помощи генератора случайных чисел их случайным образом распределили в одну из четырех групп лечения:

— контроль, без лечения (группа 1);

— назначение 10% фипронила в минимальной рекомендованной дозе 0,067 мл/кг (т.е. 6,7 мг/кг) (группа 2);

— назначение 9% (S)-метопрена в минимальной рекомендованной дозе 0,067 мл/кг (т.е. 6,0 мг/кг) (группа 3);

— назначение комбинации 10% фипронила и 9% (S)-метопрена (Фронтлайн® «Комбо») в минимальной рекомендованной дозе 0,067 мл/кг (соответственно 6,7 и 6,0 мг/кг) (группа 4).

Для расчета дозы препаратов собак взвешивали за 3 дня до иссле-

дования. В день 0 животным из групп 2-4 вводили соответствующее тестовое вещество. При помощи туберкулинового шприца непосредственно на кожу наносили расчетный объем препарата. Для профилактики утраты материала собаку удерживали до равномерного распределения по коже всего объема исследуемого материала. Исследование проводилось таким образом, что весь персонал, принимавший участие в заражении собак паразитами, подсчете блох и оценке результатов, не знал кода животных.

Условия содержания собак были одинаковыми. В ходе опыта животные получали должный уход. Содержание осуществлялось в отдельных пластиковых боксах, дно которого представляло собой проволочную сетку для сбора и подсчета яиц блох. Собак из группы контроля содержали отдельно.

Паразитологические методики

На —12, —11, —1, 1, 21, 22, 28, 29, 35, 36, 42, 43, 49, 50, 56, 57, 63, 64, 70, 71, 77, 78, 84 и 85 дни опыта каждому животному на срединную линию спины наносили примерно по 200 голодных взрослых кошачьих блох *Stenoccephalides felis*. Для того чтобы не наносить блох непосредственно на место применения препарата, животных заражали в пояснично-крестцовой области. На —11, —7, 1, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 и 85 дни, примерно через 24 часа после заражения или после лечения, живых блох с каждой собаки удаляли путем вычесывания гребнем.

Дополнительные данные о влиянии препаратов на взрослых особей и стадию яйца были получены при

Передовая наука — ветеринарии

Малое инновационное предприятие ООО «Иммуновет», созданное в июне 2006 г. учеными МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва) и практикующими ветеринарными врачами после победы в государственном конкурсе проектов «Старт-2006», приступило к реализации опытных партий ИФА-наборов для диагностики пищевой аллергии у кошек и собак. Аналогичные зарубежные наборы проигрывают отечественной разработке как по количеству анализируемых продуктов, так и по цене. Предварительные клинические испытания, проведенные совместно со специалистами Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины, показали, что индивидуальная диета, составленная при помощи данных анализа, позволяет устранить или предотвратить многочисленные проблемы со здоровьем животного и получить от него здоровое потомство.

В настоящее время крупные московские сети независимых ветеринарных лабораторий уже начали предоставлять услуги по индивидуальному подбору питания домашних животных на основе анализа с использованием тест-систем ООО «Иммуновет». Разработаны иммунологические тесты для определения индивидуальной пищевой непереносимости не только на монопродукты, но и на различные промышленные корма. Таким образом, у практикующих ветеринарных врачей вместо длительных процедур, связанных с подбором индивидуального питания для ослабленных животных или животных, страдающих аллергией, появляется уникальный инструмент диагностики пищевой непереносимости. Разработкой уже заинтересовались зарубежные ветеринарные клиники.

изучении блох, откладывавших яйца (подсчет примерно через 96 часов после заражения на 5, 26, 33, 40, 47, 54, 61, 68, 75, 82 и 89 дни).

На —8, 4, 25, 32, 39, 46, 53, 60, 67, 74, 81, и 88 дни (дни сбора яиц блох) прием корма и воды ограничивали с целью предотвращения загрязнения поддонов. Около 100 яиц, собранных с каждого животного, помещали в 4 чашки Петри (по 25 яиц в 1 чашку). При сборе приблизительно 200 яиц все количество делили пополам. Первую часть яиц использовали для оценки эффективности лечения, связанного с ингибированием выхода личинок из яиц. Ко второй половине яиц, во вторую чашку Петри, добавляли среду для роста блох с целью оценки эффективности угнетения формирования взрослых особей. Все чашки инкубировали при температуре около 24–30°C и относительной влажности 70–85%. Первые чашки Петри хранили в отдельном термостате.

До подсчета числа появившихся взрослых особей через 25 дней после сбора яиц чашки Петри из второй группы активно встряхивали и содержимое перемешивали, затем помещали в углекислый газ, после чего замораживали. Куколок, из которых не появились взрослые особи, рассекали, исследовали содержимое с целью определения характера развития взрослой особи и подсчитывали. Для анализа данных число полностью развившихся взрослых особей внутри куколки прибавляли к общему количеству взрослых блох. Через 72 часа после сбора яиц осматривали чашки Петри из группы 1, подсчитывали и регистрировали количество выведенных личинок.

Статистический анализ

Количество блох переводили в вид ln (число +1) для анализа и расчета среднего геометрического в каждой временной точке. Количество вылупившихся личинок делили на число инкубированных

Таблица 1. Обобщение процента^a развившихся личинок *C. felis* у исследуемых групп с указанием процентной эффективности для собак, получавших местное лечение фипронилом, (S)-метопреном или их комбинацией на день 0

день заражения ^b	количество личинок/эффективность препарата, %			
	контроль, без лечения	10% фипронил	9% (S)-метопрен	10% фипронил + 9% (S)-метопрен
до лечения	74,9	71,9	71,0	68,4
1	77,6	- ^c	0/100	-
22	76,4	-	0,1/99,8	-
29	75,0	-	0,9/98,5	-
36	63,7	- ^d	2,7/95,8	-
43	78,8	51,6 ^e /34,5 ^e	5,3/93,9	1,8 ^{g,h} /97,8 ^f
50	75,1	49,4/34,3	6,0/92,0	6,8 ^{g,h,i} /90,9 ^j
57	76,8	56,2/26,8	29,7/61,3	1,4 ^{g,h,k} /98,2
64	78,0	59,2/24,2	30,0/61,5	8,5 ^{g,h,k} /89,1
71	75,3	62,7/16,7	30,6/59,3	8,1 ^{g,h,k} /89,3
78	85,3	49,4/42,1	30,6/64,1	12,4 ^{g,h,i} /85,5
85	76,1	61,8/18,8	50,4/33,7	26,9 ^{g,h,k} /64,6

Примечание: *a* — трансформированное среднее значение радиан по формуле: $\arcsin \sqrt{\frac{\text{число взрослых особей/количество яиц}}{2}}$; *b* — яйца собирали на протяжении около 24 часов, спустя примерно 72 часа после заражения. Около 100 яиц инкубировали на протяжении около 35 дней; *c* — 1 животное с 1 инкубированным блошиным яйцом; личинки не развились; *d* — 1 животное с 35 инкубированными яйцами блох; развились 4 взрослых особи; *e* — 6 животных с инкубированными яйцами блох; *f* — 3 животных с инкубированными яйцами блох; *g* — $P < 0,01$ по сравнению с контролем без лечения; *h* — $P < 0,05$ по сравнению с 10% фипронилом; *i* — $P < 0,05$, взаимодействие фипронила и (S)-метопрена; *j* — 7 животных с инкубированными яйцами блох; *k* — $P < 0,05$ по сравнению с 9% (S)-метопреном; *l* — $P = 0,059$ по сравнению с 9% (S)-метопреном.

яиц в 1 группе, а число образовавшихся взрослых особей (живые и полностью развившиеся особи в стадии куколок) делили на число инкубированных яиц 2 группы. Эти пропорции для каждого животного в каждой временной точке переводили

в радианы при помощи уравнения арксинуса квадратного корня, после чего подвергали дисперсионному анализу. Оценивалось взаимодействие эффекта фипронила и (S)-метопрена. Был использован уровень значимости равный 0,05.

Результаты

Обнаружение высокого процента отложенных яиц, появившихся взрослых особей и общего количества блох на протяжении всего исследования дало возможность точно оценить среднюю эффективность (таблицы 1, 2). В группе комбинированного лечения 10% фипронилом и 9% (S)-метопреном, по сравнению с контрольной группой, было статистически значимое меньшее количество выведенных личинок и взрослых особей, появившихся после каждого заражения в дни 43-85 (таблицы 1, 2).

Комбинированный препарат обеспечил статистически значимую ($P < 0,05$) меньшую долю личинок и взрослых блох с 43 по 85 дни по сравнению с монотерапией фипронилом (таблицы 1, 2). Аналогичным образом он обеспечил статистически значимую ($P < 0,05$) меньшую долю личинок и взрослых блох при заражении с 57 по 85 дни по сравнению с монотерапией (S)-метопреном (за исключением 78 дня для личинок, $P = 0,059$).

Принимая во внимание количество вылупившихся личинок (таблица 1), был сделан вывод о качественном контроле (эффективность свыше 95%) инвазии при применении комбинированного препарата, а также при монотерапии (S)-метопреном на протяжении 6 и 5 недель соответственно. Такой успех в контроле развития взрослых особей был достигнут при действии Фронтлайна® «Комбо» и при монотерапии (S)-метопреном на протяжении по меньшей мере 8 и 6 недель соответственно (таблица 2).

Собаки, получавшие Фронтлайн® «Комбо», имели статистически значимое меньшее количество взрослых блох по сравнению с группой контроля в каждой временной точке после лечения до 82 дня (кроме 57 дня, $P = 0,055$, таблица 3).

Таблица 2. Обобщение процента^a развившихся взрослых особей *C. felis* и процентной эффективности в группе контроля, а также группах лечения фипронилом, (S)-метопреном или комбинацией этих препаратов на день 0

день заражения ^b	количество личинок/эффективность препарата, %			
	контроль, без лечения	10% фипронил	9% (S)-метопрен	10% фипронил + 9% (S)-метопрен
до лечения	55,3	58,0	57,5	56,1
1	56,5	- ^c	0/100	-
22	57,4	-	0,1/99,8	-
29	55,5	-	0,8/98,5	-
36	56,9	- ^d	0,5/99,2	-
43	59,2	20,5 ^e /65,4 ^e	2,5/95,8	0,7 ^{f,g,h} /98,8 ^f
50	53,5	23,2/56,7	4,7/91,3	2,2 ^{g,h,i} /95,9 ⁱ
57	57,4	37,3/35,0	13,8/75,9	0,3 ^{g,h,i} /99,4
64	55,5	39,2/29,5	18,9/66,1	3,8 ^{g,h,i} /93,1
71	53,5	45,7/14,6	13,9/74,0	2,2 ^{g,h,i} /95,9
78	59,0	27,0/54,1	16,0/72,9	3,6 ^{g,h,i} /93,9
85	52,6	38,9/26,0	19,1/63,7	4,5 ^{g,h,i} /91,4

Примечание: *a* — трансформированное среднее значение радиан по формуле: арксинус квадратного корня (число взрослых особей/количество яиц);

b — яйца собирали на протяжении около 24 часов, спустя примерно 72 часа после заражения. Примерно 100 яиц инкубировали на протяжении около 35 дней;

c — 1 животное с 1 инкубированным блошиным яйцом; личинки не развивались;

d — 1 животное с 35 инкубированными яйцами блох; развились 4 взрослых особи;

e — 6 животных с инкубированными яйцами блох; *f* — 3 животных с

инкубированными яйцами блох; *g* — $P < 0,01$ по сравнению с контролем без лечения;

h — $P < 0,05$ по сравнению с 10% фипронилом; *i* — 7 животных с инкубированными яйцами блох; *j* — $P < 0,05$ по сравнению с 9% (S)-метопреном.

Таблица 3. Среднее геометрическое^a количества блох через 24 часа после заражения и процентной эффективности в исследуемых группах в день 0

день заражения/ день по счету	количество личинок/эффективность препарата (%)			
	контроль, без лечения	10% фипронил	9% (S)-метопрен	10% фипронил + 9% (S)-метопрен
до лечения/-11	163,0	159,9	171,9	166,1
-1/1 ^b	139,0	9,0/93,5	85,5/38,5	2,6 ^{c,d} /98,1
21/22	122,6	0,1/99,9	115,7/5,6	0,2 ^{c,d} /99,8
28/29	144,0	0,6/99,6	119,3/17,2	0,1 ^{c,d} /99,9
35/36	161,7	0,7/99,6	122,4/24,3	0,3 ^{c,d} /99,8
42/43	140,3	7,7/94,5	131,8/6,0	22,5 ^{c,d} /83,9
49/50	127,8	27,0/78,9	107,9/15,6	46,1 ^{c,d} /63,9
56/57	127,5	67,2/47,3	112,5/11,7	64,4 ^e /94,5
63/64	121,3	70,6/41,8	106,0/12,6	60,1 ^{c,d} /50,5
70/71	124,7	96,5/22,6	119,3/4,3	88,7 ^e /28,9
77/78	107,6	71,1/33,9	95,0/11,7	62,1 ^{c,d} /42,3
84/85	151,9	132,2/13,0	121,7/19,9	93,2 ^e /38,7

Примечание: *a* — среднее, основанное на трансформации по формуле: $\ln(\text{число} + 1)$;

b — подсчет через 24 часа после лечения или через 48 часов после заражения; *c*

— $P < 0,05$ по сравнению с контролем без лечения; *d* — $P < 0,05$ по сравнению

с 9% (S)-метопреном; *e* — $P = 0,055$ по сравнению с контролем без лечения

По сравнению с собаками, получавшими только (S)-метопрен, животные из группы комбинированной терапии (10% фипронил + 9% (S)-метопрен — препарат Фронтлайн® «Комбо») имели статистически значимое меньшее количество блох до 50 дня.

Исследовалось взаимодействие фипронила и (S)-метопрена. Оно было статистически значимым ($P < 0,05$) для вылупившихся личинок (заражение в дни 50 и 57) и взрослых блох (подсчет через 96 часов на 5, 26, 33 и 82 дни; таблица 4). Оно не было статистически значимым для развития взрослых особей или подсчета числа блох через 24 часа после заражения ($P > 0,05$). Взаимодействие при подсчете через 96 часов до 33 дня определялось тем, что в обеих группах, получавших фипронил (монотерапия или комбинация), блохи отсутствовали (100% эффективность), а в группе лечения (S)-метопреном был отмечен низкий эффект (30-40%).

10% фипронил в составе капель для местного применения обладал хорошей способностью контролировать количество взрослых особей блох (>95%) на собаках в течение 5 недель.

Аналогичным образом Фронтлайн® «Комбо» обеспечил высокий уровень защиты против взрослых особей блох (>95% на протяжении 5 недель). Начиная с 6 недели после лечения было отмечено сравнительное низкое ингибирование

образования взрослых блох в группе лечения 10% фипронилем, что свидетельствовало об отсутствии выраженной активности препарата в отношении яиц и личинок. И, напротив, Фронтлайн® «Комбо» продемонстрировал высокую (>90%) активность в отношении яиц на протяжении 8 недель и высокий (91,4%) показатель ингибирования образования взрослых блох на протяжении 12 недель. Эффект в отношении личинок (отсутствие развития взрослых особей) был отмечен на 64, 71, 78 и 85 дни.

Ни один из вариантов лечения не оказывал влияние на здоровье животных.

Обсуждение

Фипронил — крайне активный инсектицид/акарицид, принадлежащий к семейству фенилпиразола. Он взаимодействует с хлорными каналами, особенно связанными с ГАМК, что блокирует пре- и постсинаптическую передачу ионов хлора через трансмембранный хлорный канал рецептора (Cole c соавт., 1993).

Таблица 4. Резюме среднего геометрического количества блох (*C. felis*) и эффективности (%) через 96 часов после заражения в группе контроля, а также в группах лечения фипронилем, (S)-метопреном или комбинацией указанных препаратов на 0 день

день заражения ^a	день по счету	эффективность, %			
		контроль, без лечения	10% фипронил	9% (S)-метопрен	10% фипронил + 9% (S)-метопрен
до лечения	-7	146,8	124,9	137,2	128,7
1	5 ^b	128,8	0 ^b /100	89,4/30,6	0/100
22	26	89,6	0 ^b /100	51,6/42,3	0/100
29	33	138,9	0 ^b /100	87,8/36,8	0/100
36	40	135,4	0,8/99,4	73,4/45,8	0/100
43	47	127,5	7,9/93,8	78,5/38,5	7,6/94,0
50	54	121,0	27,1/77,6	82,3/32,0	23,7/80,4
57	61	131,2	32,2/75,4	107,8/17,8	19,8/84,9
64	68	126,7	98,4/22,3	99,1/21,7	90,2/28,8
71	75	119,7	93,1/22,2	97,4/18,6	68,6/42,7
78	82	127,0	83,2 ^b /34,5	67,4/47,0	74,4/41,5
85	89	104,8	119,60	87,9/16,1	65,9/37,1

Примечание: a — трансформированное среднее, основано на трансформации по формуле: $\ln(\text{число} + 1)$; b — взаимодействие фипронила и (S)-метопрена ($P < 0,05$).

(S)-метопрен — синтетический ювенильный гормон роста насекомых, нарушающий развитие и провоцирующий гибель развивающихся стадий кошачьих блох. (Moser с соавт., 1992). При нанесении на шерсть он обладает стойкой и высокой активностью против незрелых стадий паразита, вмешиваясь в процесс развития яиц и ингибируя последующий выход взрослых особей (Olsen, 1985; Donahue и Young, 1992). Соединение не вызывает гибель взрослых форм и часто используется в сочетании с инсектицидом быстрого и/или длительного действия, уничтожающим взрослых блох на шерстном покрове хозяина.

Поскольку механизм действия каждого химического вещества не зависит друг от друга, явного фармакологического взаимодействия не ожидалось, равно как и усиления фипронилом активности (S)-метопрена в отношении блошиных яиц. Вместе с тем определен явный синергизм двух веществ указанной комбинации: фипронил усиливал ак-

тивность (S)-метопрена в отношении яиц, а также торможение последним формирования взрослых особей. Способность антагонистов ГАМК по типу фипронила специфично воздействовать на соответствующие рецепторы может обуславливать особую чувствительность развивающейся нервной системы насекомых к воздействию нейротоксинов. Синергичный эффект составляющих комбинации осуществлялся за счет свойства фипронила влиять на эмбриональные ткани развивающегося насекомого и свойства (S)-метопрена блокировать бластокинез (Riddiford и Williams, 1967; Palma с соавт., 1993). Ингибирование развития нейронов и соматических клеток на протяжении овогенеза, а также нарушение структурной целостности хлорных ионов (Meola с соавт., 1996; Marchiondo с соавт., 1999) обуславливает мощную овоцидную активность действующих веществ Фронтлайна® «Комбо».

Таким образом, сочетание фипронила и (S)-метопрена обеспечивает высокий уровень общего

контроля за блохами, что приводит к уничтожению взрослых форм на собаках и ингибированию развития блох на различных стадиях, при этом возможность повторного заражения животных или окружающей среды в течение 12 недель минимизируется или вовсе отсутствует. Иными словами, Фронтлайн® «Комбо» обеспечивает высокую активность против взрослых особей на протяжении 5 недель (>95%) и ингибирование выхода взрослых особей (> 90%). Дополнительное назначение (S)-метопрена к фипронилу обеспечивает:

- нарушение жизненного цикла кошачьей блохи в полевых условиях, несмотря на отсутствие соблюдения регулярного/ежемесячного применения препарата;

- обуславливает более высокую активность против взрослых особей по сравнению с фипронилом;

- обеспечивает долговременное действие молекулы фипронила -

*Материал предоставлен компанией
«MERIAL»*