

ОСОБЛИВОСТІ ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИГЕЛЬМІНТНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ СОБАК І КОТІВ, ЗГІДНО З МІЖНАРОДНИМИ ВИМОГАМИ

Ж. М. Періг, канд. вет. наук, с. н. с.

О. Л. Тішин, д-р вет. наук,

М. М. Данко, канд. вет. наук,

Р. В. Хом'як, с. н. с

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті розглянуті методи оцінки протипаразитарних засобів згідно міжнародних вимог, процедуру клінічних випробувань, процес планування та інтерпретації дослідження для оцінки ефективності протипаразитарних засобів для собак і котів. Також представлена інформація щодо вибору тварин, умов утримання, годівлі, тощо. Слід зазначити, що контрольний тест – найбільш надійний метод визначення антигельмінтної ефективності і рекомендується для визначення терапевтичної дози нових антигельмінтиків, а також підтвердження ефективності препаратів-джеренериків. Критичний тест використовується при дослідженні антигельмінтиків у випадку захворювань, при яких гельмінти виділяються в стані, що дозволяє їх ідентифікувати. Контрольний і критичний тести можуть бути використані для оцінки ефективності щодо дорослих форм паразитів, але тільки під контролем тесту, з використанням природних або експериментальних інвазій, з метою визначення ефективності при личинкових стадіях.

Ключові слова: АНТИГЕЛЬМІНТНІ ПРЕПАРАТИ, ІНТЕНСЕФЕКТИВНІСТЬ, ЕКСТЕНСЕФЕКТИВНІСТЬ, КОНТРОЛЬНИЙ ТЕСТ, КРИТИЧНИЙ ТЕСТ.

Прагнення України до інтеграції в світову економіку, передбачає забезпечення національної системи стандартизації відповідними документами, гармонізованими з міжнародними.

Упровадження стандартів, гармонізованих з міжнародними, забезпечить єдиний шлях виходу України на міжнародні ринки, здешевить витрати на дослідження ефективності ветеринарних препаратів, забезпечить єдиний прийнятий у країнах ЄС підхід до реєстрації препаратів та визнання проведених досліджень на міжнародному рівні. За рахунок усунення непотрібного дублювання при проведенні досліджень буде дотримано вимоги біоетики, скорочення кількості тварин, необхідних для встановлення безпеки та ефективності ветеринарних протипаразитарних препаратів. Дані документи забезпечать істотний внесок у стандартизацію та спрощення методів, що використовуються для оцінки нових антигельмінтиків та препаратів-джеренериків.

З цією метою нами було перекладено і адаптовано документи VICH GL19- - 20 Efficacy Anthelmintics: Specific Recommendations for Felines and Canines (Ефективність антигельмінтних препаратів: Спеціальні рекомендації для котів та собак) [1.2], та «Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics for dogs and cats (Керівні принципи для оцінки ефективності протипаразитарних засобів для собак і котів) [3] Всесвітньої асоціації за прогрес ветеринарної паразитології (WAAVP). Дані документи розкривають процедуру клінічних випробувань, процес планування та інтерпретації дослідження для оцінки

ефективності засобів проти паразитів собак і котів. Також представлена інформація по вибору тварин, умови утримання, годівлі, тощо.

До оцінки ефективності протипаразитарних засобів для собак і кішок широко використовуються два тести: контрольний і критичний.

Контрольний тест – найбільш надійний метод визначення антигельмінтної ефективності і рекомендується для визначення терапевтичної дози нових антигельмінтиків, а також в досліді з підтвердження ефективності препаратів-дженериків. Ефективність антигельмінтиків визначають шляхом порівняння кількості паразитів в групі оброблених (тварин, які лікували) і необроблених (не підданих лікуванню) тварин. Для цього в експерименті їх розділяють на дослідні і контрольну групи. Через певний період часу тварин розтинають, виявлених паразитів ідентифікують і підраховують. В випадку діагностики гельмінтів травного каналу, розтин необхідно робити через 1-2 тижні, а при визначенні паразитів з локалізацією в серці – 1-2 місяці. Може бути і більш тривалий період – коли діагностують незрілі форми гельмінтів - личинок (до 2-5 місяців). Недоліком контрольного тесту є те, що він не може бути використаний для визначенні ефективності тих препаратів, які руйнують тіло паразита). Однак, контрольні випробування є кращими.

Лікування плацебо може бути необхідним у даних дослідженнях. Використовується як контрольний препарат у клінічних випробуваннях нових лікарських препаратів, у процедурі кількісної оцінки ефективності ліків. Одній групі піддослідних тварин задають препарат, що тестується, а іншій — плацебо. Ефект від застосування препарату має достовірно перевищувати ефект плацебо, щоб препарат вважався діючим.

Після досліджень визначають інтенсефективність (ІЕ) — кількість гельмінтів, які загинули після застосування лікарського засобу, щодо їх загальної кількості до дегельмінтизації, у відсотках.

В ряді випадків, використовують показник екстенсефективності (ЕЕ, %) – кількість тварин, повністю звільнених від гельмінтів.

У більшості випадків, можуть бути використані природно інвазовані тварини, але в окремих випадках повинні використовуватись тільки штучно інвазовані собаки чи кішки. Це може бути необхідним з 00 призначеного для собак, для моделювання штучної інвазії, рекомендується відповідний діапазон яєць/личинок гельмінтів.

Критичний тест використовується при дослідженні антигельмінтиків у випадку тих захворювань, при яких гельмінти виділяються в стані, що дозволяє їх ідентифікувати.

Ефективність препаратів в цьому тесті визначають шляхом порівняння кількості паразитів, виділених з фекаліями після лікування тварин, з кількістю залишених гельмінтів, що виявлені при розтині.

При дослідженні препаратів проти нематод травного каналу враховують активність проти дорослих, личинкових стадій і гіпобіотичних личинок. Як правило, досліді проводять на експериментально інвазованих тваринах.

З метою створення штучної інвазії, рекомендовано в дослідні групи підбирати тварин, які не піддавалися впливу паразитів. Що ж стосується тварин, які перебували в середовищі, де циркулюють збудники інвазійних захворювань, то їх необхідно лікувати зареєстрованим або рекомендованим антигельмінтним препаратом, що за своїм складом не належить до групи досліджуваного препарату. Такі заходи проводяться з метою звільнення організму експериментальних тварин від наявних в ньому паразитів. Перед зараженням їх досліджують і в випадку діагностуванні інвазії дегельмінтизують антигельмінтиком широкого спектру дії (крім івермектину) в дозі, збільшеною в 2 рази. Будь-яка тварина, заражена іншими паразитами, повинна бути виключена з експерименту. Тварин утримують поодиноці, в умовах, що виключають спонтанне зараження.

Дослідження *Echinococcus* spp. та *Dirofilaria* spp. потрібно проводити, використовуючи штучно інвазовані тварини відповідно до міркувань щодо питань громадського здоров'я та

складності вимог до паразитів. Відповідно до зоонозного потенціалу проведених досліджень *Echinococcus* spp. з використанням цього виду гельмінта потрібно проводити відповідно до особливих вимог безпеки.

Тварини, що використовуються в критичних випробуваннях, повинні утримуватись в індивідуальних умовах, що забезпечують добовий збір фекалій з кожної тварини. Фекалії повинні бути зібрані і досліджені на наявність паразитів за день до обробки тварин антигельмінтиком, щоб визначити збудників інвазійних захворювань. Після введення лікарського засобу зазвичай, збирають щодня від 1 до 3 днів (до 7 днів). При цьому ефективність враховують по результатам гельмінтологічних розтинів (аутопсії), через 4-7 діб після дегельмінтизації.

Недоліком цього тесту є те, що цестоци і деякі нематоди можуть бути повністю або частково знищені препаратом, тому в фекаліях можуть бути відсутні, таким чином, їх може бути складно знайти та ідентифікувати.

Результати кількох критичних випробувань можуть бути об'єднані, щоб дати достатню кількість даних для діагностики різних видів паразитів в окремій тварини.

Після завершення клінічних випробувань, тварин утримують протягом декількох годин до декількох діб, після чого проводиться забій та патрозтин, з метою проведення підрахунку паразитів в різних органах і системах організму.

Обидва контрольні і критичні тести можуть бути використані для оцінки ефективності щодо дорослих паразитів, але тільки під контролем тесту, з використанням природних або експериментальних інвазій, що підходить для визначення ефективності при личинкових стадіях.

Утримання тварин, їх лікування та догляд за ними повинні відповідати зоогієнічним нормам утримання собак та котів.

Перед клінічними дослідженнями тварини повинні пройти акліматизацію, мінімальний термін якої складає не менше 7 діб, але переважно 14 діб.

Дослід необхідно проводити досвідченими працівниками, які знайомі з поведінкою собак та котів, що необхідно для забезпечення уникнення небажаного стресу.

Всі тварини в контрольному випробуванні, природно або експериментально заражені, повинні бути розміщені в аналогічних умовах. Це можна досягти шляхом застосування твердих перегородок між сусідніми кімнатами або клітками, щоб виключити можливе зараження. Корм повинен бути однаковим для всіх тварин і бути поживним. Склад корму та час годування повинні фіксуватись і бути внесені в протокол клінічних випробувань. Ні корми, ні годівля не міняються протягом періоду акліматизації або в ході проведення досліджень. Вода повинна бути доступна вволю.

Якщо препарат вводять в корм і медикаментозний корм не був повністю використаним протягом певного періоду часу (зазвичай 3-4 ч), то кількість корму, що залишилися, фіксується, оскільки дані від цієї тварини, навряд чи будуть прийнятними, як дані досліджень. Зразки медикаментозного корму повинні бути зібрані в момент лікування і проаналізовані з метою підтвердження концентрації лікарського засобу. Облік кількості спожитого корму щодня як оброблених, так і контрольних тварин до і під час клінічних досліджень є важливим, оскільки деякі паразитарні інвазії, як відомо, пригнічують апетит і деякі антигельмінтики погіршують смак їжі.

Групи тварин для досліджень повинні бути сформовані з урахуванням віку і / або ваги, породи, статі та ступеня зараження паразитами (кількість яєць/личинок гельмінтів в 1 г фекалії), або причини, по якій не сформовані таким чином групи, повинні бути чітко обґрунтовані.

Для контрольних досліджень дослідні тварини повинні відповідати певним параметрам, які заздалегідь прописані в заявці спонсором на досліді з приводу визначення ефективності протипаразитарного препарату. Для цього підбирають групу тварин, ідентичних

за віком, статтю і класом. Тварини повинні бути розподілені випадковим чином на дослідні (оброблені) і контрольну групи, та можуть мати декілька дослідних груп, яким задають різні дози препарату. Є й загальні вимоги: тварини повинні бути віком не менше 6 місяців, однак, тварин старшого та молодшого віку також можна залучати в досліді.

Проте є винятки, які необхідно брати до уваги:

- *Strongyloides stercoralis*: менше, ніж 6 місяців;
- *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *A. tubaeforme*, *Uncinaria stenocephala*: 6-12 тижнів;
- *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*: 2-6 тижнів;
- *Dipylidium caninum*: 3 місяці або старше;
- *Mesocestoides spp.*: 8 тижнів або старших;
- *Uncinaria Stenocephala*, *Trichuris vulpis*: можна використовувати і старші собаки.

Випробування з титрування дози ідентичні дослідженнями з визначення дози, їх мета полягає в визначенні меж доз, для того, щоб бути рекомендованими для конкретної тварини-мішені. Для дженериків, в яких оптимальна доза активного інгредієнта вже загальноприйнята, визначення дози не потрібне. Якщо заявляється дія широкої антигельмінтної активності, дослідження з визначення дози повинні містити доз-лімітуючу в межах заявленого діапазону, і має бути незалежною від того, чи є доз-лімітуючі види високими чи низькими (рідкісні) переважних видів. Підтвердження ефективності щодо видів, для яких робиться заявка, буде завершено в дослідженнях з підтвердження дози.

Для титрування дози, дослідження зазвичай слід провести попередньо, щоб визначити потенційний спектр активності і приблизну дозу. Тварини, інвазовані такими видами паразитів, як *Echinococcus spp.* і *Dirofilaria immitis*, повинні розглядатися як окремі випадки.

Слід вказати шляхи введення і склад препарату, з можливою концентрацією діючої речовини, що запропоновано для досліджень. Діапазон доз повинен бути обраний на підставі попереднього дослідження, щоб охопити приблизну ефективну дозу. Групи, що піддавались лікуванню та необроблені і (контрольні групи) повинні складатися з тварин, інвазованим необхідною кількістю паразитів кожного виду, з метою отримання доказів прийнятної антигельмінтної дії та ефективності в межах встановленого діапазону доз. Чим більша кількість тварин і однорідніший вид паразитів, тим краще може бути продемонстрована антигельмінтна активність.

У випробуванні повинно бути як мінімум 3 груп тварин (не менше 6 тварин в кожній): I - контроль, II - тварини, піддані лікуванню та III - необроблена група тварин. II група тварин ділиться на 3 групи за рівнем дози: I-рекомендована доза, на основі попередніх досліджень, в той час як тварини II і III груп повинні бути оброблені дозою нижче і вище, відповідно, ніж дози очікуваної. Оскільки є проблеми, пов'язаних зі статистичної обробки даних з *E. granulosus*, в даному випадку необхідні п'ять груп тварин, які піддані лікуванню [4].

Після закінчення дослідження з титрування дози і клінічних випробувань, рекомендується оформити протокол підтвердження ефективної дози і обґрунтування антигельмінтної активності по відношенню до різних видів паразитів за клінічних випробувань.

Протоколи повинні надавати інформацію про кількість тварин, породу і вік тварин, які задіяних в дослідженнях і шляхи їх зараження (експериментальна або природня інвазія). Вони повинні також вказувати на види паразитів і цикли інвазії, проти яких препарат буде ефективний і, якщо це можливо, методи, які будуть використані для підрахунку, як для дорослих так і незрілих паразитів. Якщо використовуються штучно індуковані інвазії, інвазійний матеріал, як правило, вивозиться з географічного регіону, в якому проводиться випробування.

На момент написання протоколу, резистентність організмів до паразитів не визнаються в якості проблеми у собак і кішок. У разі, якщо ця ситуація змінюється, проте, певні чутливі або резистентні штами інвазійних личинок слід враховувати в клінічних дослідженнях.

В И С Н О В К И

1. Контрольний тест – найбільш надійний метод визначення антигельмінтної ефективності і рекомендується для визначення терапевтичної дози нових антигельмінтиків, а також в досліді з підтвердження ефективності препаратів-дженериків. Критичний тест використовується при дослідженні антигельмінтиків у випадку тих захворювань, при яких гельмінти виділяються в стані, що дозволяє їх ідентифікувати.

2. Обидва контрольні і критичні тести можуть бути використані для оцінки ефективності щодо дорослих паразитів, але тільки під контролем тесту, з використанням природних або експериментальних інвазій, з метою визначення ефективності при личинкових стадіях. Для дженериків, в яких оптимальна доза активного інгредієнта вже загальноприйнята, дослідження з титрування дози не проводять.

Перспективи досліджень. На основі європейських документів плануються розробити методичні рекомендації щодо визначення ефективності антигельмінтних препаратів для собак та котів.

FEATURES OF DETERMINING THE EFFICACY OF ANTHELMINTIC DRUGS FOR DOGS AND CATS UNDER INTERNATIONAL REQUIREMENTS

Zh. M. Perih, O. L. Tishyn, M. M. Danko, R. V. Khomiak

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

This article presents a review of methods that are used for evaluation of antiparasitic agents in accordance with international requirements, the procedure of clinical trials, the process of planning and interpretation of research to assess the effectiveness of anti-parasitic drugs for dogs and cats. Information is also provided on the choice of animals, conditions of retention, feeding etc. It should be noted that the control test is the most reliable method for determining antihelmintic efficacy and is recommended for the determination of the therapeutic dose of new antihelmintic agents, as well as the confirmation of the effectiveness of generic drugs.

A critical test is used in the study of antihelmintic agents in the case of diseases in which helminths are isolated in a condition that allows them to be identified. Control and critical tests can be used to evaluate the effectiveness of adult parasite forms, but only under the control of a test, using natural or experimental invasions, to determine efficacy at larval stages.

Keywords: ANTIHELMINTIC DRUGS, INTENSEFFICIENCY, EXTENSEFFECTIVITY, CONTROL TEST, CRITICAL TEST.

ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИГЕЛЬМИНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ СОБАК И КОШЕК СОГЛАСНО МЕЖДУНАРОДНЫХ ТРЕБОВАНИЙ

Ж. М. Периг, А. Л. Тишин, Н. Н. Данко, Р. В. Хомяк

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок,
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье рассмотрены методы оценки противопаразитарных средств согласно международным требованиям, процедура клинических испытаний, процесс планирования и интерпретации исследования для оценки эффективности противопаразитарных средств для собак и кошек. Также представлена информация по выбору животных, условий содержания, кормления и т. д. Следует отметить, что контрольный тест – самый надежный метод определения антигельминтной эффективности и рекомендуется для определения терапевтической дозы новых антигельминтиков, а также подтверждения эффективности препаратов-дженериков.

Критический тест используется при исследовании антигельминтиков в случае заболеваний, при которых гельминты выделяются в состоянии, которое позволяет их идентифицировать. Контрольный и критический тесты могут быть использованы для оценки эффективности в отношении взрослых форм паразитов, но только под контролем теста, с использованием природных или экспериментальных инвазий, с целью определения эффективности на личиночных стадиях.

Ключевые слова: АНТИГЕЛЬМИНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ИНТЕНСЕФЕКТИВНОСТЬ, ЭКСТЕНСЭФФЕКТИВНОСТЬ, КОНТРОЛЬНЫЙ ТЕСТ, КРИТИЧЕСКИЙ ТЕСТ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. VICH GL19 Efficacy Anthelmintics: Specific Recommendations for Canines.
2. VICH GL 20 Efficacy Anthelmintics: Specific Recommendations for Felines.
3. VICH GL7 Efficacy of Anthelmintics. General requirements.
4. WAAVP Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics for Dogs and Cats, Veterinary Parasitology 52: 179-202, 1994.

Рецензент – М. М. Данко, к. б. н., доцент кафедры паразитології та іхтіопатології ЛНУВМ та БТ імені С. З. Гжицького.