

ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИГЕЛЬМІНТИКІВ: СПЕЦІАЛЬНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ КІЗ

VICH GL14 «EFFICACY OF ANTHELMINTICS: SPECIFIC RECOMMENDATIONS FOR CAPRINES»

ВСТУП

Міжнародний документ VICH GL14 «Efficacy of Anthelmintics: Specific Recommendations for Caprines» (Ефективність антигельмінтиків: спеціальні рекомендації для кіз) розробила робоча група, створена Міжнародним ветеринарним співтовариством з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації ветеринарних препаратів, на основі директив про антигельмінтні препарати.

За необхідності та для більш точного розуміння тексту методичних рекомендацій можна використовувати тексти документів: VICH GL7 «Efficacy of Anthelmintics General Requirements» (Ефективність антигельмінтиків: загальні вимоги (EAGR) та «World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics for Ruminants (Bovine, Ovine, Caprine)», Veterinary Parasitology, (Всесвітня асоціація сприяння розвитку ветеринарної паразитології – рекомендації щодо оцінки ефективності антигельмінтиків для жуйних (велика рогата худоба, вівці, кози), ветеринарна паразитологія.

Важливо зазначити, що технічні процедури, яких необхідно дотримуватися при проведенні досліджень, не є метою даних рекомендацій і що вартість програми розвитку є високою і може завадити розробці препаратів для цих видів тварин, та оскільки види гельмінтів кіз такі ж самі, як і в овець, рекомендують надати міркування щодо процедури досліджень з метою отримання її схвалення.

А. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1. Оцінка даних щодо ефективності

Лише контрольні дослідження на основі підрахунку імагінальних та личинкових стадій паразитів є прийнятними для досліджень з визначення та підтвердження доз антигельмінтних препаратів, оскільки критичні дослідження не підходять для жуйних тварин. Підрахунок яєць/ідентифікація личинок є головним методом для оцінки ефективності під час польових досліджень. Препарати пролонгованої дії та продукти, що володіють здатністю повільно виводитися з організму, необхідно тестувати, як й інші терапевтичні

антигельмінтики.

Види паразитарної інвазії необхідно відзначати у Протоколі відповідно до видового чи регіонального поширення або паразитологічних та/чи статистичних даних.

2. Застосування спонтанних або штучних інвазій

Дослідження з визначення ефективної дози антигельмінтних препаратів необхідно проводити на експериментально інвазованих тваринах лабораторними або польовими штамами паразитів. Якщо не існує моделі інвазій для певних видів паразитів (*Protostrongylidae*, цестод, *Dicrocoelium* spp.), то використання в експериментах спонтанних інвазій замість штучних вважається виправданим.

Дослідження щодо підтвердження терапевтичних доз препаратів варто проводити на спонтанно інвазованих тваринах, проте за відсутності останніх можна проводити їх штучне зараження, що також дозволяє виконувати ці дослідження. Така процедура дає змогу отримати велику кількість паразитів. Слід зауважити, що для роботи з личинками паразитів четвертої стадії, дозволяється використання штучно інвазованих тварин. Якщо ж метою роботи є експерименти з гіпобіотичними формами личинок, то використовуються лише спонтанно інвазовані тварини. Необхідно прагнути до максимального накопичення в організмі тварин таких личинок, адже вони є цільовими в даних експериментах. Також в досліді необхідно враховувати територіальне та регіональне розташування, адже вони істотно впливають на епізоотичну ситуацію з інвазійних хвороб тварин. Детальні відомості щодо таких особливостей необхідно отримувати у відповідних фахівців на індивідуальній основі, якщо ці відомості у конкретному випадку дійсно важливі. У всіх випадках тварин, що використовують у досліді, необхідно утримувати (карантинувати) як найменше протягом двох тижнів до початку задавання препаратів з метою попередження їх реінвазії.

Дослідження щодо визначення стабільної ефективності необхідно виконувати на експериментально заражених тваринах польовими (місцевими) штамами паразитів.

Слід зауважити, що в заключний звіт обов'язково необхідно внести відомості про паразитів (видові, регіональні тощо), які використовуються для штучного інвазування.

3. Рекомендовані дози паразитичних форм для штучного інвазування

Запропонована для штучного інвазування кількість паразитів та їх личинок є приблизною та залежить від ізоляту, що використовується. Кількість паразитів, яка була використана в конкретному випадку, обов'язково необхідно відобразити в заключному звіті. У таблиці вказано межі рекомендованих кількостей паразитичних форм на відомі моделі інвазій.

4. Рекомендації щодо розрахунку ефективності

4.1 Критерії вимог до випробування

Для досліджень, згідно з вимогами, необхідно включити такі дані:

а) дослідження щодо підтвердження доз необхідно проводити на двох групах тварин, інвазованих відповідним збудником, з використанням мінімум 6 тварин в кожній. Перша група тварин – контрольна, лікуванню не піддають та друга – дослідна та, де тварин піддають лікуванню;

Таблиця – Число паразитичних форм, що дозволяє отримати відповідні інвазії у кіз з метою оцінки ефективності антигельмінтних препаратів*

Місце локалізації, вид паразита	Межі кількості яєць/личинок
Сичуг	
<i>Haemonchus contortus</i>	400–4000
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	6000–10000
<i>Trichostrongylus axei</i>	3000–6000
Кишечник	
<i>Cooperia curticei</i>	3000–6000
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	3000–6000
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	3000–6000
<i>Nematodirus</i> spp.	3000–6000
<i>Oesophagostomum</i> spp.	500–1000
<i>Chabertia ovina</i>	800–1000
<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	500–1000
<i>Strongyloides papillosus</i>	80000
<i>Gaigeria pachyscelis</i>	400
<i>Trichuris</i> spp.	1000
Легені	
<i>Dictyocaulus filaria</i>	1000–2000
Печінка	
<i>Fasciola hepatica</i> (метацеркарій)	
хронічний перебіг	100–200
гострий перебіг	1000–1500

Примітка: *до пункту 3. – Рекомендовані дози паразитичних форм для штучного інвазування

б) різниця між показниками інвазованості у дослідній та контрольній групах після лікування має бути статистично вірогідно вищою ($p < 0,05$);

в) показники ефективності повинні бути на рівні 90 % та вище, ці показники розраховуються за допомогою трансформування геометричних величин;

г) інвазованість тварин, задіяних у дослідах, вважається відповідною з урахуванням видових, регіональних, паразитологічних та/або статистичних даних.

Відповідний стандарт ефективності (90 % та вище) встановлюють на основі звільнення організму від паразитичних червів підданих лікуванню тварин.

Проте, якщо метою лікувальних заходів є попередження забруднення місць випасу тварин інвазійними елементами, внаслідок поширення шлунково-кишкових паразитів, в таких випадках передбачено використання вищих мінімальних стандартів ефективності. Для цього необхідно заздалегідь обговорювати всі умови та вимоги з зацікавленими особами та регіональними регуляторними органами до початку виконання робіт.

4.2 Кількість тварин (дослідження з визначення і підтвердження дози та стабільності випробування)

Мінімальна кількість тварин, що вимагається на одну експериментальну групу, є важливим моментом досліджень. Для статистичної обробки даних та статистичного аналізу рекомендують, відповідно, для досягнення гармонізації включити мінімум 6 тварин у кожен експериментальну групу.

У випадку декількох досліджень, жодне з яких не включає 6, відповідно, інвазованих тварин у контрольній групі (наприклад, важливі рідкісні паразити), отримані результати можуть бути об'єднані, з метою накопичення 12 тварин в одному досліді та підрахунку статистичних даних.

Якщо відмінність є істотна ($p < 0,05$), ефективність можна визначити, в такому випадку це дозволяє враховувати інвазію, а дослід вважати таким, що відповідає вимогам.

При цьому необхідно мати на увазі, щоб дослід вважався коректним, необхідно, щоб методи відбору зразків та оцінки кількості інвазійних елементів були схожими між собою та аналогічними з лабораторіями, задіяними у даних дослідженнях. Такі вимоги є обов'язковими, оскільки це дозволяє максимально точно екстраполювати результати отриманих даних у межах досліджуваної популяції.

4.3 Відповідність інвазії

Стосовно визначення адекватності інвазії – рішення щодо мінімально достатньої кількості гельмінтів приймають, коли подають підсумковий звіт відповідно до видового, регіонального (краєвого) поширення гельмінтів, огляду літератури або результату проведених експериментів. Загалом діапазон кількості гельмінтів у кіз, який вважатиметься відповідним для дослідів, буде певною мірою варіювати, що пов'язано безпосередньо з самими збудниками. Як правило, мінімальне середнє число для нематод вважаються 100 дорослих особин. Нижчі показники слід очікувати за інвазії збудниками: *Bunostomum* spp., *Oesophagostomum* spp., *Trichuris* spp., *Gaigeria pachyscelis* та *Dictyocaulus filaria*. Що ж стосується збудників *Fasciola* spp., то мінімальною кількістю яка є відповідною, вважається 20 дорослих особин.

4.4 Особливості вимог

Згідно з вимогами, лікування інвазованих тварин від дорослих особин паразитів, не слід проводити раніше, ніж за 21–25 діб після їх зараження. Оптимальним терміном для більшості видів паразитів вважається від 28 до 32 діб. Звичайно є й винятки для таких збудників як: *Oesophagostomum* spp.

(від 34 до 49 доби), *Chabertia ovina* (49 діб), *Bunostomum* spp. (від 52 до 56 діб), *Strongyloides papillosus* (від 14 до 16 діб) та *Fasciola* spp. (від 8 до 12 тижнів).

Якщо ж мова йде про личинки 4 стадії (L 4), то лікування слід проводити в такі терміни після інвазування тварин: від 3 до 4 діб – для збудника *Strongyloides papillosus*, від 5 до 6 діб – для збудників *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. та *Cooperia* spp., 7 діб – для збудників *Teladorsagia* (*Ostertagia*) *circumcincta*, від 8 до 10 діб – для збудників *Nematodirus* spp. та *Dictyocaulus filaria*, від 15 до 17 діб – для збудників *Oesophagostomum* spp. Такий термін як «незрілий» не є прийнятним. Що ж стосується незрілих – ранніх форм збудників *Fasciola* spp., лікування тварин проводять у терміни від 1 до 4 тижнів після інвазування, і для більш пізніх – статевозрілих форм – в інтервалі від 6 до 8 тижнів.

5. Процедури лікування

Слід зазначити, що спосіб введення (препарати для перорального, парентерального та місцевого застосування, термін дії засобів тощо), рецептура та пролонгованість дії препаратів, що застосовуються в дослідах, впливатимуть на саму форму протоколу. Доцільно враховувати кліматичні особливості регіону, ефективності лікувальних засобів, які використовуються в досліджуваній місцевості.

Препарати та продукти пролонгованої дії, а також з довгим терміном каренції, мають бути досліджені протягом всього часу своєї ефективності, який вказано виробником. Дослідження проводять до тих пір, доки додаткова інформація не покаже, що в цьому більше немає необхідності, наприклад: зміни або їх відсутність в гематологічних показниках, що вказують на стабільний (фізіологічний) стан організму тварин, яких обробляли досліджуваними препаратами протягом вказаного або запропонованого терапевтичного періоду.

Якщо препарат, згідно з рекомендаціями (настановами), необхідно використовувати з кормом або водою, обов'язково необхідно дотримуватися прописаних рекомендацій. Врахування показнику задоволення смакових потреб тварин також впливає на поїдання останніми лікувальних преміксів. Обов'язково необхідно контролювати концентрацію препарату (діючої речовини) в лікувальних преміксах та розчинах шляхом відбору контрольних проб. Необхідно письмово фіксувати кількість лікувального продукту, яку отримала кожна тварина, щоб гарантувати відповідність наданого лікування відповідно всім вимогам, які прописані в маркуванні до препарату.

Для препаратів, які використовуються шляхом місцевого застосування, обов'язково прописують чинники, які можуть впливати на показники ефективності (наприклад опади, ультрафіолетове випромінювання, довжина шерстяного покриву тощо). Їх необхідно включити та враховувати при оцінці ефективності досліджуваного продукту.

6. Відбір тварин, розподіл і обробка

Для контрольних досліджень дослідні тварини повинні відповідати певним параметрам, які заздалегідь прописані в заявці на досліди з приводу визначення

ефективності протипаразитарного препарату. Так, обов'язково враховують вік та стать тварин. Є й загальні вимоги до тварин – вони мають бути старше 3-місячного віку та відноситись до жуйних. Обраних для експерименту тварин розподіляють по групах та призначають лікування. Підбір тварин за вагою, статтю та віком, а також за проявом впливу паразитів на організм істотно впливає на зниження розбіжностей отримуваних даних у дослідах. Слід зауважити, що підрахунок яєць/личинок збудника є важливим моментом при формуванні експериментальних тварин в групи.

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.

При утриманні тварин необхідно суворо дотримуватися всіх ветеринарно-зоогігієнічних норм (утримання, годівля, вакцинації та обробки відповідно до регіональних вимог та практик). Всю цю інформацію також фіксують у завершальному звіті. При зборі тварин в групи необхідно витримати мінімальний термін їх акліматизації в нових умовах, що становить 7 діб. Слід мати на увазі, що утримання, напування та годівля мають бути відповідними до географічного розташування дослідних тварин. За тваринами необхідно щодобово спостерігати з метою визначення побічних реакцій.

Б. ОСОБЛИВІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ

1. Дослідження з визначення дози

За необхідності проводять пробні дослідження з приводу визначення або порівняння доз та фармакокінетики використовуваних препаратів. Такі дослідження проводять з метою підтвердження або скасування відомостей про ефективність обраних доз.

2. Дослідження з підтвердження дози

Обов'язковим є дослідження, що направлені на підтвердження відповідних доз препаратів, при цьому враховують інвазованість тварин, стадію захворювання та обрану дозу. Якщо ж ефективність препарату підтверджують на певних експериментальних збудниках інвазійних хвороб, то в таких випадках за потреби заявку можна розширити на всі види гельмінтів кіз.

3. Польові дослідження з визначення ефективності

Жодних особливих рекомендацій.

4. Стабільність ефективності досліджень

Використовують дві основні моделі досліджень з метою визначення стабільної ефективності: перша – бере до уваги лише умови дегельмінтизації, друга – поточні проблеми, що виникають після лікування. При цьому не існує стандартного протоколу для цих обох випадків. У зв'язку з цим, при проведенні досліджень, у протоколі серед іншої інформації необхідно відображати наступні деталі роботи: визначення життєздатності личинок протягом дослідження, обґрунтування термінів забою з метою отримання личинок. В таких дослідах рекомендовано використовувати вільну від паразитів худобу. Одночасно, вважається за доцільне використання моделі досліджень, в якій до розв'язання ставиться декілька поточних завдань, адже вони найближчі до того, що насправді відбувається в природі.

Вимогами, які ставляться для досліджень зі стабільності ефективності є наявність мінімум 2 випробувань (з певною кількістю гельмінтів), з однією необробленою та однією чи 2 обробленими групами тварин. Принаймні 6 тварин у контрольній групі мають бути інвазованими. Рекомендації з приводу досліджень зі стабільності ефективності можуть бути затверджені лише на основі відбору за видами гельмінтів у тварин.

У протоколі, що включає різні поточні завдання, групи тварин лікують, після чого піддають дії природних або штучних інвазій протягом 7, 14, 21 або більше днів після обробки. Потім приблизно за три (або менше) тижні після зараження тварин досліджують на наявність паразитів. Інтервал між дослідженнями та їх графік може змінюватися в залежності від використовуваних препаратів та пролонгованості їх діючих речовин.

Стабільність ефективності досліджень повинна бути підтверджена показником, як мінімум 90 % ефективності на основі показників математичних розрахунків.