

**ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИГЕЛЬМІНТИКІВ:
СПЕЦІАЛЬНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ КОНЕЙ**

**VICH GL15 «EFFICACY OF ANTHELMINTICS:
SPECIFIC RECOMMENDATIONS FOR EQUINES»**

ВСТУП

Міжнародний документ VICH GL15 «Efficacy Anthelmintics: Specific Recommendations for Equines» (Ефективність антигельмінтиків: спеціальні рекомендації для коней) 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 Equine Anthelmintics», Veterinary Parasitology (Всесвітня асоціація сприяння розвитку ветеринарної паразитології – рекомендації щодо оцінки ефективності протигельмінтних препаратів для коней, ветеринарна паразитологія.

А. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1. Оцінка даних щодо ефективності

Лише контрольні дослідження проводять як для визначення, так і для підтвердження дози. Критичні дослідження можна застосовувати для вивчення дорослих форм великих нематод, наприклад, *Parascaris equorum* та *Oxyuris equi*. Препарати пролонгованої дії, що володіють здатністю повільно виводитися з організму повинні підлягати аналогічним процедурам оцінки, як і інші терапевтичні антигельмінтні препарати. Паразитарні інвазії необхідно реєструвати у протоколі із зазначенням показника регіонального розповсюдження або паразитологічних та/або статистичних даних.

У випадку з *Strongyloides westeri*, основою оцінки даних щодо ефективності застосування антигельмінтних препаратів може бути підрахунок яєць (принаймні 2 польові дослідження ефективності). Підтвердженням цього є факт, що *Strongyloides westeri* спостерігають у молодих тварин. Недоцільно досліджувати інвазованість коней після 12 місяців.

2. Застосування спонтанних або штучних інвазій

Через труднощі у проведенні досліджень з використанням штучних інвазій у коней, більшість досліджень проводять на природньо/спонтанно інвазованих

тваринах.

Дослідження з визначення дози потрібно проводити, застосовуючи індуковані або спонтанні інвазії з використанням лабораторних або польових штамів.

Дослідження з підтвердження дози антигельмінтного препарату для дорослих стадій ряду паразитів потрібно проводити на природно інвазованих тваринах. За відсутності останніх, експериментальне зараження тварин теж є допустимими. Для протоколу беруться до уваги личинки гельмінтів (наприклад, четвертої стадії) лише штучно інвазованих тварин нещодавно виділених польових ізолятів. Для протоколу реєстрації гіпобіотичних форм личинок (L3, малих стронгілід) приймаються до уваги природно інвазовані тварини. У цих випадках, тварин потрібно утримувати впродовж щонайменше як два тижні перед застосуванням антигельмінтного препарату, з метою попередження повторного інвазування.

Для того, щоб визначити кількість гіпобіотичних личинок, використовується слиз слизової оболонки товстого кишечника, і визначається кількість внутрішньослизових стадій розвитку (кінець L3/L4 для малих стронгілід) з використанням техніки витравлювання та/або висвітлювання, або через обмеження кожного методу окремо.

Стабільність ефективності дослідження повинна бути проведена з використанням індукованих інвазій на певних ізольованих площах і з використанням молодих коней, наприклад, не старше 12-місячного віку.

Опис паразитів, які використовувалися для штучного інвазування (як результат інвазованості тварини) повинен бути включений в заключний звіт.

3. Рекомендовані дози паразитичних форм для штучного інвазування

Оскільки використання індукованих інвазій в молодих коней не є загальним (дивіться вище), застосовують тільки обмежені дані про кількість інвазійних личинок. Рекомендується для застосування такий спектр інвазійних личинок/яєць:

<i>Parascaris equorum</i>	100–500
<i>Trichostrongylus axei</i>	10000–50000
<i>Strongylus vulgaris</i>	500–750
<i>Cyathostominae</i> (малі стронгіліди)	100000–1000000

4. Рекомендації щодо розрахунку ефективності

4.1 Критерії вимог до випробування

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

а) дослідження щодо підтвердження доз антигельмінтних засобів необхідно проводити на двох групах тварин, мінімум по шість тварин у кожній. Перша група тварин – контрольна, не піддаються лікуванню. Друга група тварин – дослідна, тварини піддаються медикаментозному лікуванню. Використовується критичний тест, лише 6 тварин необхідні для кожного дослідження, оскільки кожна тварина діє як самоконтроль;

б) різниця у підрахунку паразитів між терапевтичними та контрольними групами повинна бути статистично вірогідною ($p < 0,05$);

в) ефективність повинна складати не менше 90 % або вище, ці показники розраховуються за допомогою трансформування геометричних величин;

г) інвазія діагностується у тварин, за умов підтвердження видового або регіонального поширення, паразитологічними та/або статистичними даними.

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 мінімальної кількості гельмінтів, то рішення з приводу цього приймається за даними заключного звіту. Останній формується на основі регіональних, літературних відомостей та статистичної звітності або ж за даними експертів з цього питання. Загалом, діапазон інвазійних збудників у коней, який вважатиметься відповідним для дослідів, буде певною мірою варіювати, що пов'язано безпосередньо з самими збудниками. Як правило, мінімальним середнім числом для нематод вважаються 100 дорослих особин. Нижчі показники слід очікувати за інвазії збудниками: *Parascaris equorum*, *Dictyocaulus arnfeldi* і *Fasciola spp.*

4.4 Особливості вимог

Дорослі або личинкові стадії (L3/L4): термін статево незрілий не є прийнятним при визначенні до виду гельмінтів. Для дорослих і личинок лікування повинно відповідати життєвим циклам і видам гельмінтів. У разі малих стронгілід має бути різниця між ранніми етапами (гіпобіотичним) L3, (що розвивається) внутрішньом'язовим етапом L4, люмінальним етапом L4 і дорослими.

Ідентифікація паразитів визначатиме тип заявки, запропонованої у настанові. Настійно рекомендується підтвердження видів. Для невеликих

стронгілід буде прийнятним підтвердження при умові, що є більше як один рід і дослідження будуть проводитись зі змішаними популяціями личинок.

5. Процедури лікування

Слід звернути увагу, що спосіб введення (перорально, парентерально тощо), рецептура та діапазон дії продукту впливатимуть на структуру 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, 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 до всіх вимог, які прописані у настанові до препарату. Для препаратів, які використовуються шляхом місцевого застосування, обов'язково вказують чинники, які можуть впливати на показники ефективності (наприклад опади, ультрафіолетове випромінювання, довжина шерстного покриву тощо). Їх необхідно включити та враховувати при оцінці ефективності досліджуваного продукту.

6. Відбір тварин, розподіл і обробка

Дослідні тварини мають бути клінічно здоровими. Обов'язково треба враховувати вік, стать тварин, а також представити види гельмінтів на який дії тестовий антигельмінтик. Загалом, тварини повинні бути віком від 3 до 12 місяців, не інвазовані, бо якщо використовуються індуковані/штучні інвазії, то немає жодної гарантії, що вже існуючі інфекції можуть бути видалені. Для природних інвазій тварини віком від 12 до 24 місяців є кращими (за винятком *Strongyloides westeri*), що зменшує індивідуальні варіації гельмінтів, які можуть виникати при випасанні коней продовж хоча б 5 місяців разом на тому ж самому зараженому пасовищі. Тварин розподіляють для лікування довільно. В дослідній групі може спостерігатись зменшення блокування в повторах за вагою, статтю, віком та/або впливу паразитів. Фекальні яйця/личинки також підраховують в експериментальних групах тварин. При утриманні тварин необхідно суворо дотримуватися всіх ветеринарно-гігієнічних норм (утримання, годівля,

вакцинації та обробки відповідно до регіональних вимог та практик). Всю цю інформацію також фіксують у завершальному звіті. При підборі тварин в групі необхідно витримати мінімальний термін їх акліматизації в нових умовах, що становить 7 днів. 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

Жодних особливих рекомендацій немає.

2. Дослідження з підтвердження дози

Дослідження з підтвердження дози потрібно проводити для затвердження кожного випробування: для дорослих стадій, личинок, та коли можуть бути застосовані гіпобіотичні личинки. Для додаткових описів процедури необхідно посилатись на «Ефективність антигельмінтних засобів: загальні вимоги» [2].

3. Польові дослідження з визначення ефективності

Жодних особливих рекомендацій немає.

4. Стабільність ефективності досліджень

Щоб продемонструвати ефективність препарату, групи тварин формуються лише на основі підрахунку наявних видів гельмінтів, а не на основі кількості яєць на грам фекалій.

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 адекватно інвазованими. Рекомендації з приводу досліджень зі стабільної ефективності можуть бути затвержені лише на основі відбору за видами гельмінтів у тварин. При інвазуванні малими стронгілідами необхідно досліджувати їх вид та рід.

Рекомендовано провести два основні дослідження, щоб підтвердити сталість ефективності. Одне з допомогою разового застосування антигельмінтика, а друге – з багаторазовим застосуванням впродовж доби дробними дозами. Для забезпечення результатів ефективності, при проведенні дослідження, рекомендується використовувати кілька щоденних прийомів антигельмінтика (поділених доз), так як це найбільше наближено до природного стану.

У протоколі, що включає різні поточні завдання, групи тварин лікують, після чого піддають дії природних або штучних інвазій протягом 7, 14, 21 або

більше діб після обробки. Потім приблизно за три (або раніше) тижнів після зараження тварин досліджують на наявність паразитів.

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

5. Дослідження періоду повторної появи яєць (ППЯ)

ППЯ відноситься тільки до стронгілідів. Причиною повторної появи яєць є забруднені пасовища та інвентар, які не враховуються при визначенні стронгілід окремих тварин . Існує новий спосіб визначення стронгілід в стаді коней на основі діагностики забруднених пасовищ. Вимоги щодо зменшення кількості яєць протягом певного періоду після лікування є тільки прийнятним, якщо зниження кількості оброблених тварин становить щонайменше 90 %, в порівнянні з підрахунками яєць після попередньої обробки. У цих дослідженнях тварини повинні залишатися на заражених пасовищах. Для визначення ППЯ є мінімально необхідними два дослідження. Принаймні одне з двох досліджень, слід проводити в географічному місці, де проводилась діагностика. Ці дослідження слід проводити таким чином, щоб якісно відобразити результативність застосування препарату при різних дозволених умовах.