

PESQUISA

Acesso Aberto

Estudo de campo randomizado, cego, controlado, nos EUA, para avaliar o uso de fluralaner comprimidos no controle de infestações de pulgas caninas.

Cheyney Meadows*, Frank Guerino e Fangshi Sun.

Resumo

Retrospecto: A nova molécula isoxazolina, o fluralaner, proporciona 12 semanas de atividade contra infestações de pulgas e 8 a 12 semanas contra infestações de carrapatos, de acordo com as informações do rótulo.

Métodos: Este estudo multicêntrico, cego, em cães de estimação de clientes avaliou o controle das pulgas fornecido por um único tratamento oral com fluralaner (25-56 mg/kg; Bravecto™, Merck Animal Health) comparado a um grupo controle ao qual foram administrados três tratamentos orais com espinosade (30 - 60 mg/kg; Comfortis®, Elanco) em intervalos de 4 semanas, juntamente com uma coleira de amitraz (9%, Preventic®, Virbac). Os domicílios foram randomizados (razão de 3:1) para o fluralaner (224 cães, 118 domicílios) ou controle (70 cães, 39 domicílios). Dentro dos domicílios, um cão primário com pelo menos 10 pulgas vivas na inclusão foi randomicamente selecionado para contagens de pulgas de todo o corpo a cada 4 semanas até a Semana 12; todos os cães foram acompanhados quanto à segurança até a Semana 12. Os cães do fluralaner receberam duas doses adicionais nas Semanas 12 e 24 para observações adicionais da segurança e palatabilidade até a Semana 26.

Resultados: As médias geométricas das reduções nas contagens de pulgas do período basal para o grupo do fluralaner nas Semanas 4, 8 e 12 foram 99,7%, 99,8% e 99,8%, respectivamente; e 96,1%, 99,5% e 99,6% para os controles do espinosade. As porcentagens de cães primários livres de pulgas nas Semanas 4, 8 e 12 foram 91,1%, 95,4% e 95,3% para o grupo do fluralaner; e 44,7%, 88,2% e 84,4% para os controles; as diferenças foram significativas nas Semanas 4 ($P < 0,0001$) e 12 ($P = 0,0370$). Melhoras na dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP) avaliada pelo veterinário (FAD) foram observadas em ambos os grupos. Os comprimidos de fluralaner foram aceitos por livre escolha em mais de 90% das doses. O evento adverso mais comum foi vômito, que ocorreu em 7,1% do grupo do fluralaner e 14,3% dos controles. Nenhum evento adverso sério relacionado ao tratamento foi relatado.

Conclusões: Um único tratamento de cães com o comprimido mastigável aromatizado palatável de fluralaner fornece uma opção segura e eficaz para 12 semanas de controle de pulgas, no mínimo equivalente à dos 3 tratamentos sequenciais com comprimidos de espinosade. Vinculado ao alto nível de controle das pulgas, estava o alívio substancial dos sinais associados à DAPP.

Unitermos: Fluralaner, Pulgas, Espinosade, Eficácia, Segurança, Estudo de campo.

Retrospecto

As últimas três décadas assistiram avanços significativos no tratamento e controle dos ectoparasitos caninos. Pesticidas aplicados topicamente, tal como a imidacloprida e o fipronil, foram introduzidos na década de 1990 e propiciaram o controle conveniente das pulgas durante todo um mês e, para o fipronil, atividade adicional contra uma variedade de espécies de carrapato [1]. O uso desses produtos aplicados topicamente se tornou uma prática de saúde preventiva rotineira na medicina veterinária. Esses produtos, e outros que foram posteriormente introduzidos, seja como entidades únicas ou em combinações de moléculas, reduziram ou eliminaram as infestações de pulgas existentes e, durante o mês subsequente ao tratamento, exterminaram as pulgas reinfestantes antes de a postura de ovos iniciar. Como resultado, a

necessidade de aplicação adjunta de produtos químicos ambientais foi amplamente eliminada [2]. Contudo, esses avanços no controle de ectoparasitas tópicos apresentou limitações, que incluíram a necessidade de cuidadosa e às vezes desafiadora aplicação pelos donos dos animais de estimação, reduções potenciais na eficácia resultantes da remoção no banho ou ao nadar e preocupações do dono relacionadas à exposição no domicílio [3]. Em 2007, foi lançado um pulicida administrado oralmente (espinosade, Comfortis, Elanco) que forneceu um meio alternativo de exterminar as pulgas por um mês após o tratamento [4]. Embora o espinosade oral resolvesse várias preocupações vinculadas aos produtos tópicos, ele não tinha eficácia contra carrapatos e mantinha a necessidade de continuidade da administração mensal pelo dono.

* Correspondência: cheyney.meadows@merck.com
Merck Animal Health, Summit, NJ, USA

O fluralaner é um novo inseticida/acaricida da família das isoxazolininas que oferece o mais recente avanço no controle dos ectoparasitos de cães, com 12 semanas de controle de pulgas e 8 a 12 semanas de controle de carrapatos após uma dose oral única. Em um estudo de campo multicêntrico na Europa, este tratamento mostrou ser superior a três doses sequenciais de fipronil para o controle de pulgas e também eficaz para o controle de carrapatos [5].

Bravecto (13,64% p/p da formulação em comprimido mastigável aromatizado de fluralaner, Merck Animal Health) é uma formulação oral de fluralaner que é o primeiro produto aprovado pela Administração de Medicamentos e Alimentos norte-americana (NADA 141-426) a fornecer 12 semanas de atividade contra pulgas e 8 a 12 semanas de atividade contra os 4 gêneros comuns de carrapatos dos Estados Unidos (*Amblyomma*, *Ixodes*, *Dermacentor* e *Rhipicephalus*) a uma dose mínima de 25 mg/kg. Após a administração oral a cães com ou sem alimento, o fluralaner é rapidamente absorvido e proporciona 100% de eficácia contra pulgas e carrapatos (*Ixodes ricinus*) em 1 dia após o tratamento [6,7]. Os níveis sanguíneos são então mantidos e fornecem eficácia >95% contra pulgas e carrapatos por até 12 semanas [6,7]. A segurança foi demonstrada em filhotes tratados com doses repetidas de até 280 mg/kg (cinco vezes a taxa recomendada) em intervalos de 8 semanas, a partir de 8 semanas de idade, e em colíes sensíveis à ivermectina tratados com doses de 3 vezes a taxa de dose aprovada [8,9].

O presente estudo de campo foi conduzido nos Estados Unidos para confirmar a eficácia ao longo de 12 semanas (84 dias) de uma dose única em comprimido mastigável aromatizado administrada pelo dono para tratar e controlar infestações de pulgas. Esses resultados foram comparados aos do grupo controle tratado com espinosade e uma coleira de amitraz. A evidência de dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP) não era um critério de inclusão, mas os objetivos secundários incluíam uma avaliação da melhora em relação do período basal nos sinais de DAPP em um subconjunto de cães que apresentavam sinais de DAPP. Além disso, a segurança e a palatabilidade dos comprimidos de fluralaner foram avaliadas por 26 semanas (182 dias) com cães que receberam dois tratamentos adicionais em intervalos de 12 semanas. Também foram feitas avaliações observacionais do controle dos carrapatos fornecido por cada regime do estudo.

Métodos

Este estudo multicêntrico, cego para o investigador, com controle positivo, foi conduzido para avaliar a eficácia no controle das pulgas dos comprimidos de fluralaner administrados pelos donos a seus cães infestados de pulgas. Foram feitas comparações com um grupo controle recebendo três tratamentos sequenciais de espinosade administrado oralmente em intervalos de 4 semanas mais uma coleira de amitraz. O protocolo do estudo cumpria as Boas Práticas Clínicas (VICH GL9), os Princípios Orientadores Internacionais para Pesquisa Biomédica envolvendo Animais, e foi revisado e

aprovado por um comitê de ética. O consentimento esclarecido por escrito foi obtido do dono de cada cão antes do início de quaisquer atividades de seleção. O estudo foi conduzido de agosto de 2011 a junho de 2012 em 18 clínicas veterinárias localizadas em nove estados diferentes - Alabama, Flórida, Kansas, Luisiana, Maine, Missouri, Carolina do Norte, Pensilvânia e Texas. Em cada local, o investigador era o veterinário da clínica, o qual era responsável pela supervisão do protocolo, acompanhamento da comunicação com o dono, exame dos animais, incluindo avaliações da dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP) e supervisão das contagens de pulgas. Para manter o cegamento apropriado, o produto para tratamento das pulgas designado a cada cão era dispensado por pessoal da clínica treinado, não cego, que foi instruído a não participar da coleta de dados das contagens de pulgas, exames físicos ou da avaliação da DAPP. Essas pessoas eram também responsáveis por quaisquer medidas adicionais necessárias para assegurar o cegamento, tal como remover a coleira de amitraz dos cães controle incluídos antes de eles serem examinados pelo pessoal cego. As coleiras eram recolocadas pelos donos ou pelo pessoal não cego assim que as atividades cegas eram concluídas.

Inclusão e participação

Os domicílios elegíveis podiam ter até 5 cães, todos os quais tinham que ter pelo menos 12 semanas de idade, pesar pelo menos 0,5 kg, e estar em boas condições de saúde geral. No entanto, era permitido que cães com condições médicas crônicas (por exemplo, endocrinopatias, condições cardiovasculares, convulsões) fossem incluídos se a condição estivesse estabilizada antes da inclusão no estudo. Não havia restrições de raça ou gênero, mas os domicílios com cadelas prenhes ou amamentando não eram elegíveis à inclusão. Os domicílios nos quais os cães tinham exposição a animais de estimação não confinados (exceto cães) que pudessem abrigar pulgas (por exemplo, gatos), não eram elegíveis. Similarmente, os domicílios eram excluídos se contivessem algum outro cão que não atendesse aos critérios de inclusão.

Contagens das pulgas de todo o corpo com duração de pelo menos 15 minutos por cão eram realizadas em todos os cães por um indivíduo treinado mascarado à designação do tratamento. O critério para inclusão do domicílio era que pelo menos um cão em cada domicílio estivesse infestado por um mínimo de 10 pulgas vivas na avaliação da seleção.

Os seguintes sinais de DAPP eram separadamente classificados por um veterinário mascarado (Nenhum sinal, Leve, Moderado ou Severo): eritema [10,11], alopecia [11], pápulas [10,11], descamação [10], crostas [10] e escoriações [11]. Quando presente (isto é, Leve, Moderado ou Severo), cada sinal era ainda avaliado por um veterinário mascarado com relação à localização anatômica e se o sinal era ou não indicativo de DAPP. Não havia nenhuma definição de DAPP no protocolo e o veterinário usava sua experiência e conhecimento para determinar se os sinais eram indicativos de DAPP. A evidência de DAPP não era usada como um critério para

a inclusão ou à randomização.

As restrições à inclusão baseadas em uso prévio de medicações e tratamentos de controle de pulgas eram baseadas na indicação do produto. Os produtos indicados para uso mensal tinham um período mínimo de eliminação (*washout*) de 30 dias, os produtos indicados para uso a cada duas semanas tinham *washout* de 14 dias e os produtos indicados para uso semanal tinham um *washout* de sete dias. O tratamento que pudesse afetar a avaliação dos sinais de DAPP (por exemplo, esteroides, anti-histamínicos, cremes, pomadas, banhos, etc.) era permitido, mas quaisquer dados de DAPP coletados após um cão ter sido tratado com tal produto eram excluídos do resumo e da análise dos dados de DAPP.

Nenhum tratamento concomitante para infestações de pulgas e/ou carrapatos era permitido durante o período do estudo. Tosa, banho, natação e outras atividades na água eram permitidos durante o estudo, embora os donos dos cães participantes fossem solicitados a remover temporariamente as coleiras de amitraz antes do banho. A tosa e banho não eram permitidos nas 72 horas antes da contagem de pulgas programada no protocolo para evitar qualquer impacto na recuperação das pulgas.

Para avaliar a palatabilidade dos comprimidos de fluralaner, os donos foram instruídos a primeiro oferecer a dose sozinha, por exemplo, na mão ou em uma tigela. O dono registrava se a dose era tomada livremente em 1 minuto ou em 1 - 5 minutos. Caso contrário, o dono podia tomar medidas alternativas para o consumo voluntário pelo cão, tal como esconder o(s) comprimido(s) na comida ou nos petiscos. Se esses métodos falhassem, então o dono podia forçar a ingestão do tratamento ou contatar o investigador. A palatabilidade dos comprimidos de espinosade não foi avaliada.

Os donos foram instruídos a monitorar os cães por uma hora após a administração e ficarem alertas a qualquer evidência de vômito, tosse, engasgo, ânsia de vômito, baba, salivação ou outros sinais adversos. O dono era instruído a contatar a clínica dispensadora para receber uma dose de reposição para qualquer cão que vomitasse ou regurgitasse o comprimido em 1 hora após a administração.

Randomização e tratamentos

Em cada local do estudo, os domicílios qualificados eram designados a um grupo de tratamento de acordo com um desenho em bloco completo randomizado, com o momento da entrada no estudo como fator de blocagem. Dentro dos blocos, os cães eram designados randomicamente a uma razão de 3:1 para o grupo do fluralaner ou o grupo controle consistindo em espinosade + amitraz. Pelo fato de a evidência de infestação de pulgas ser um critério de inclusão e como existem numerosos produtos de controle de pulgas aprovados, nós decidimos contra o uso de um grupo controle negativo. O espinosade disponível no mercado foi escolhido como produto controle positivo porque na época do início do estudo este era o único produto oral

aprovado pela FDA que fornecia a eliminação das pulgas e um mês de atividade antipulgas.

Este produto não tem atividade indicada contra carrapatos, nem havia um produto registrado na FDA eficaz contra uma série de gêneros de carrapatos. Como o controle de carrapatos seria necessário em algumas áreas de inclusão, foi fornecida uma coleira de amitraz por sua eficácia contra carrapatos e a ausência de efeito nas pulgas.

Cada local tinha sua própria tabela de randomização única para a designação dos domicílios ao grupo de tratamento; todos os cães de um domicílio recebiam o mesmo tratamento. As tabelas de randomização também incluíam um esquema para a seleção aleatória de um cão primário para os domicílios que tinham mais de 1 cão com > 10 pulgas vivas na inclusão. O cão primário era tratado identicamente aos outros cães, com exceção de que o cão primário era o único cão do domicílio no qual a contagem de pulgas era realizada para as avaliações da eficácia nas Visitas 2, 3 e 4.

O fluralaner era administrado na dose indicada (25-56 mg/kg). Os donos eram instruídos a administrar o tratamento na hora da refeição, imediatamente antes de oferecer a comida ao cão. Doses adicionais de comprimidos de fluralaner eram dispensadas nas Semanas 12 e 24 de acordo com o peso corporal de cada cão naquelas visitas. Os cães do grupo controle recebiam uma coleira de amitraz 9% contra carrapatos, mais comprimidos de espinosade na faixa de dose indicada no rótulo de 30 a 60 mg/kg do peso corporal. Os comprimidos de espinosade eram também dispensados nas Semanas 4 e 8 de acordo com o peso corporal de cada cão medido nas Semanas 4 e 8. A primeira administração do(s) tratamento(s) alocado(s) a qualquer cão do domicílio, que ocorria no dia ou pouco depois da primeira visita, era classificada como Dia 0 do estudo.

Justificativa do tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado na redução significativa da contagem de pulgas do período basal em cada momento. Usando os dados de estudos controlados anteriores que demonstraram a eficácia do fluralaner contra pulgas, os cálculos do poder indicaram que não mais que 10 domicílios seriam suficientes para fornecer 80% de poder de demonstrar redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nas contagens de pulgas dos níveis basais. Para assegurar ampla inclusão regional de domicílios e cães, o estudo visou a inclusão de 100 domicílios a serem alocados para o grupo de tratamento do fluralaner e 33 domicílios para o grupo controle (espinosade + amitraz). A razão de inclusão de 3:1 fornecia domicílios suficientes no grupo controle para referência e comparação, ao mesmo tempo maximizando a oportunidade de observações da segurança após o tratamento no grupo do fluralaner.

Avaliações da eficácia

Todos os cães do estudo retornavam ao local do estudo para visitas de avaliação a cada 4 semanas dos Dias 0 a 84, com uma janela de ± 2 dias na visita da Semana 4 e

± 3 dias nas visitas subsequentes. Todos os locais eram treinados nos procedimentos de avaliação do estudo. O cegamento de qualquer pessoal envolvido nas avaliações do estudo era mantido fazendo com que um indivíduo não cego (um dono de cão ou um membro não cego do quadro de funcionários da clínica) removesse a coleira contra carrapatos dos cães controle antes da realização das contagens das pulgas, da avaliação da DAPP ou do exame físico. Não era permitido que os indivíduos não cegos realizassem tarefas do estudo (contagem de pulgas, avaliação da DAPP, exame físico) que requeressem o cegamento. As contagens de pulgas do corpo todo eram realizadas usando pente fino durante pelo menos 15 minutos. Se fossem recuperadas pulgas durante o último minuto do procedimento, a penteação continuava por mais 5 minutos até não ser recuperada mais nenhuma pulga. Todas as pulgas vivas eram contadas. O pessoal dos centros era também treinado para procurar manualmente carrapatos usando um exame do corpo todo com duração de 5 minutos. Durante o estudo, quaisquer carrapatos alojados coletados durante as visitas à clínica ou pelos donos entre as visitas eram colocados em frascos com álcool vedados para posterior identificação por um investigador do estudo com experiência em carrapatos. Os dados dos carrapatos coletados eram observacionais e nenhum dos produtos do estudo foi avaliado quanto à eficácia contra carrapatos. As pulgas e carrapatos eram contados nos cães primários em todas as visitas (Semanas 0, 4, 8 e 12). Quanto aos cães não primários, o protocolo limitava essas avaliações à visita de inclusão. O critério de eficácia primário era baseado nas contagens de pulgas vivas nos cães primários como unidade experimental nas Semanas 4, 8 e 12 (Dias 28, 56 e 84) comparadas às contagens do período basal. Para a avaliação de outras variáveis (segurança/eventos adversos, avaliação da DAPP, contagem e identificação dos carrapatos, palatabilidade dos comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner), cada cão era a unidade experimental.

A média geométrica da contagem de pulgas vivas dos cães primários foi calculada separadamente para os cães do fluralaner e os controles para cada momento (Dias 28, 56 e 84). A porcentagem de redução em cada momento foi calculada de acordo com a equação:

$$\text{Porcentagem de Eficácia} = \left(1 - \frac{D_x}{D_0} \right) \times 100$$

Onde D_0 = média geométrica no período basal e D_x = média geométrica no Dia x ($x = 28, 56$ ou 84).

Os dados das médias geométricas das contagens de pulgas foram transformados antes da análise usando a transformação $Y = \log_e(x + 1)$. Os dados transformados em logaritmo foram analisados por um modelo linear misto com medidas repetidas incluindo o tratamento, a visita e o tratamento*visita como efeitos fixos, e o local como efeito aleatório, com os cães primários do domicílio como o indivíduo repetido.

As médias dos mínimos quadrados do modelo foram

usadas para comparações dos tratamentos e retrotransformadas para obter as estimativas da média geométrica das contagens de pulgas. Um ajuste de Kenward-Rogers foi usado para determinar os graus de liberdade do denominador para testar a hipótese.

As comparações foram conduzidas dentro de cada grupo de tratamento entre a contagem antes do tratamento e nos Dias 28, 56 e 84, assim como entre os grupos de tratamento nos Dias 28, 56 e 84. Um teste bilateral foi usado para cada comparação no nível de significância $\alpha = 0,05$. A análise estatística foi realizada usando o pacote de software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA, versão 9.3).

O tratamento era considerado eficaz em cada momento se a redução média nas contagens de pulgas fosse 90% ou mais comparada ao Dia 0, e as contagens médias nos Dias 28, 56 e 84 fossem estatisticamente significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) e inferiores às do Dia 0. As porcentagens de cães primários livres de pulgas (aqueles com 0 pulgas) nos Dias 28, 56 e 84 (Semanas 4, 8 e 12) foram comparadas entre os grupos de tratamento do fluralaner e do espinosade + amitraz usando um teste bilateral com nível de significância $\alpha = 0,05$. Uma abordagem assintótica não paramétrica foi usada para obter as estimativas das diferenças das porcentagens entre os grupos de tratamento. O software StatXact v9 foi usado para fazer o resumo e a análise. Todos os cães incluídos e tratados foram incluídos na análise da segurança clínica. Os dados dos carrapatos coletados eram observacionais e nenhum dos produtos do estudo foi avaliado quanto à eficácia contra carrapatos.

Os sinais de DAPP eram avaliados em todos os cães do estudo em cada visita clínica. A avaliação era realizada por um veterinário mascarado, que avaliava a severidade (Nenhum sinal, Leve, Moderado e Severo) e a localização anatômica dos seguintes sinais de DAPP: eritema, alopecia, pápulas, descamação, crostas e escoriação. Se um sinal estivesse presente, o veterinário também indicava se ele era indicativo de DAPP. Finalmente, era registrado se o cão tinha recebido quaisquer medicações (p. ex., esteroides, anti-histamínicos, etc.) que pudesse afetar a avaliação da DAPP. A presença de sinais de DAPP nos cães que não tinham recebido nenhuma medicação interferente foi resumida para ambos os grupos de tratamento. Para cada sinal de DAPP, a porcentagem de cães com o sinal (Leve, Moderado ou Severo) na inclusão que desapareceu (tornou-se Nenhum sinal) na Semana 12 sem quaisquer medicações interferentes foi resumida.

Avaliações de segurança

Todos os cães do estudo foram monitorados até pelo menos a Semana 12 (Dia 84) para avaliações da segurança, incluindo as visitas clínicas a cada 4 semanas. Os cães tratados com fluralaner foram monitorados até a Semana 26, incluindo as visitas clínicas a cada 4 semanas da Semana 12 até a Semana 24 e uma visita final do estudo na Semana 26, 2 semanas após a dose final de fluralaner. Os donos foram instruídos a monitorar atentamente cada cão após a administração

do tratamento e prestar atenção a possíveis eventos adversos que pudessem ocorrer em qualquer momento durante o curso do estudo. Foi solicitado que os donos documentassem, em um diário do estudo, todos os eventos de saúde desfavoráveis ou inesperados ou quaisquer outras observações, incluindo a descoberta de carrapatos alojados.

Sangue e urina foram coletados de todos os cães controle no período basal (Dia 0) e na Semana 12 (Dia 84). Sangue e urina foram coletados de todos os cães tratados com fluralaner no período basal (Dia 0), na Semana 12 e na Semana 26. As amostras foram submetidas a avaliações clínico-patológicas (hemograma completo, bioquímica, incluindo painéis hepáticos e renais e análise de urina) para a determinação de quaisquer possíveis efeitos adversos do tratamento.

Resultados

Duzentos e noventa e quatro (294) cães de 157 domicílios foram incluídos entre agosto de 2011 e dezembro de 2011 em 18 centros de estudo, com 118 cães primários designados a receber fluralaner (mais 106 cães domésticos adicionais) e 39 cães primários designados a receber espinosade + amitraz (mais 31 cães domésticos adicionais). Os cães permaneceram no estudo até junho de 2012. Aproximadamente 50% (56/118 fluralaner e 19/39 controles) dos domicílios incluídos em cada grupo continha um único cão. A idade, sexo e peso dos dois grupos de tratamento eram equilibrados (Tabela 1). Aproximadamente um terço dos cães em cada grupo foi descrito como mestiço, com a maioria das identificações de raça comuns sendo Chihuahua (6,7% [15/224] dos cães do grupo do fluralaner; 5,7% [4/70] dos cães do espinosade + amitraz), Jack Russell (4,0% [9/224] e 4,3% [3/70]), Labrador retriever (4,0% [9/224] e 2,9% [2/70]) e Boxer (3,1% [7/224] e 4,3% [3/70]).

Na população dos cães domésticos, 8,0% (18/224) no grupo do fluralaner (incluindo onze cães primários) e 11,4% (8/70) no grupo do espinosade + amitraz (incluindo três cães primários) não foram incluídos nas avaliações dos resultados realizada no Dia 84. Um cão não primário no grupo do fluralaner foi removido a pedido do dono por ter vomitado após o primeiro tratamento; os outros dois cães do domicílio continuaram no estudo. Todas as outras remoções foram consideradas como não relacionadas ao tratamento e foram por diversos motivos, que incluíam erro na dispensação, quebra do cegamento, violações do protocolo, incluindo falha em retornar para as visitas programadas, e duas mortes - um cão foi atropelado por um carro e morreu e outro foi submetido à eutanásia após agravamento de uma condição de insuficiência cardíaca pré-existente.

Tabela 1. Dados demográficos dos cães incluídos e distribuição dos números de cães em cada domicílio.

	Fluralaner n = 224	Espinosade + Amitraz n = 70

Idade (anos)	Média (DP)	5,1 (3,7)	5,3 (3,7)
	Faixa	0,2 – 15,0	0,3 – 13,6
Peso (kg)	Média (DP)	16,9 (13,22)	17,5 (11,90)
	Faixa	1,9 – 68,9	2,0 – 37,9
Sexo	Fêmea, intacta	33 (14,7%)	14 (20,0%)
	Fêmea, esterilizada	82 (36,6%)	24 (34,3%)
	Macho, intacto	53 (23,7%)	9 (12,9%)
	Macho, castrado	56 (25,0%)	23 (32,9%)
Distribuição dos tamanhos dos domicílios (número de cães)			
	1	56/118 (47,5%)	19/39 (48,7%)
	2	32/118 (27,1%)	12/39 (30,8%)
	3	21/118 (17,8%)	6/39 (15,4%)
	4	4/118 (3,4%)	1/39 (2,6%)
	5	5/118 (4,2%)	1/39 (2,6%)

As contagens de pulgas antes do tratamento foram similares entre os grupos designados ao tratamento (Tabela 2). Em ambos os grupos de tratamento, as contagens de pulgas dos cães primários foram significativamente reduzidas ($P < 0,0001$ e a eficácia $> 90\%$ foi excedida) comparadas ao período basal em cada momento (Tabela 2). A porcentagem de cães primários livres de pulgas no grupo do fluralaner foi significativamente diferente da do grupo do espinosade + amitraz nos Dias 28 e 84 (valores de $P < 0,0001$ e $=0,0370$, respectivamente); mas não significativamente diferente no dia 56 (valor de $P = 0,1364$).

Nenhum evento adverso importante relacionado ao tratamento foi relatado no grupo do fluralaner ou do espinosade + amitraz. O evento adverso mais comumente relatado em cada grupo foi representado por êmese, relatada em maior porcentagem de cães no grupo do espinosade + amitraz do que no grupo do fluralaner (Tabela 3). Não houve alterações clinicamente relevantes nas variáveis do hemograma completo, bioquímica sanguínea ou análise de urina em nenhum dos grupos de tratamento.

No período basal (visita de inclusão), nos centros da Flórida, Missouri, Alabama, Pensilvânia e Luisiana, foi encontrado um total de 47 carrapatos alojados em 13 cães designados para o grupo do fluralaner e 11 carrapatos alojados em três cães designados ao grupo do espinosade + amitraz. Na Visita 2, um cão do grupo do fluralaner teve um carrapato morto não ingurgitado removido e na Visita 3 outro cão do fluralaner teve dois carrapatos (um vivo não ingurgitado e um morto não ingurgitado) removidos. Na Visita 4, um cão controle teve um carrapato vivo não ingurgitado removido.

Além dos 62 carrapatos alojados coletados pelos investigadores, foram coletados 14 carrapatos pelos donos e devolvidos aos investigadores. Os 76 carrapatos foram submetidos à identificação. Entre esses centros, os gêneros de carrapatos identificados foram *Ixodes* (82,9% [63/76] de todos os carrapatos submetidos), *Amblyomma* (13,2% [10/76]), *Dermacentor* (2,6% [2/76]) e *Rhipicephalus* (1,3% [1/76]).

As avaliações pelos donos da palatabilidade dos comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner foram obtidas para 559 das 621 doses administradas

durante o curso do estudo. A palatabilidade foi condizente durante todas as três doses (Tabela 4). Aproximadamente 80% (451/559) das doses do fluralaner foram aceitas por livre escolha em 5 minutos após serem oferecidas e 12,5% (70/559) adicionais foram consumidas com alimento ou outro petisco. Portanto, um total de 92,5% das doses do fluralaner foram consumidas voluntariamente pelos cães neste estudo.

A resolução dos sinais de DAPP entre a inclusão e a Semana 12 (Dia 84) nos cães que não estavam recebendo medicações que pudessem afetar a avaliação da DAPP é resumida na Tabela 5. Em relação ao período basal, houve um alto nível de resolução de todos os sinais de DAPP em ambos os grupos na Semana 12 (Dia 84).

Tabela 2. Média geométrica das contagens de pulgas nos cães primários, porcentagem de redução e cães livres de pulgas para os cães tratados em cada visita.

	V1 (Inclusão)	V2 (Dia 28)	V3 (Dia 56)	V4 (Dia 84)
Número de cães primários				
Fluralaner	117	113	108	106
Espinosade + Amitraz	39	38	34	32
Média geométrica da contagem de pulgas (IC 95%)				
Fluralaner	32,2 (27,1 - 38,2)	0,1 (0,0 - 0,2)	0,1 (0,0 - 0,1)	0,1 (0,0 - 0,1)
Espinosade + Amitraz	32,6 (23,6 - 44,9)	1,3 (0,7 - 2,0)	0,2 (0,0 - 0,4)	0,1 (0,0 - 0,2)
Valor de P para comparação*	0,9469	<0,0001	0,1766	0,2189
% de eficácia (redução em relação ao período basal)				
Fluralaner	NA	99,7%	99,8%	99,8%
Espinosade + Amitraz	NA	96,1%	99,5%	99,6%
% de cães primários livres de pulgas				
Fluralaner	NA	91,1%	95,4%	95,3%
Espinosade + Amitraz	NA	44,7%	88,2%	84,4%
Valor de P para comparação**	NA	<0,0001	0,1364	0,0370
"NA" indica que o valor ou o cálculo é "não aplicável". Nenhuma comparação da eficácia foi realizada na V1 e nenhum cão primário estava livre das pulgas na V1.				
*- Valor de P para comparação das estimativas dos parâmetros das médias dos mínimos quadrados do modelo.				
**- Valor de P para comparação das porcentagens usando a abordagem assintótica não paramétrica				

Discussão

Uma única administração de fluralaner não só propiciou reduções nas contagens de pulgas pelo menos equivalente aos tratamentos de três meses com espinosade, mas também resultou em significativamente mais cães livres de pulgas na Semana 4 (fluralaner 91,1% [103/113] vs espinosade 44,7% [17/38]) e na avaliação final na Semana 12 (fluralaner 95,3% [101/106] vs espinosade 84,4% [27/32]) após o estudo iniciar. Este achado de alta eficácia do fluralaner é comparável aos relatados em um estudo europeu no qual o controle das pulgas, incluindo a porcentagem de cães do fluralaner livres de pulgas na Semana 4 após o tratamento, foi superior ao fornecido pelo fipronil/(s)-metopreno tópico [5]. Essa rápida obtenção da condição de livres de pulgas nos cães tratados, uma condição mantida por pelo menos 12 semanas, aponta para o fluralaner como um avanço significativo no tratamento e controle das infestações de pulgas caninas.

Tabela 3. Frequência de eventos adversos relatados nos cães randomizados para receber os comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner ou espinosade juntamente com amitraz.

Evento Adverso	Fluralaner, cães observados durante 26 semanas (n=224)	Espinosade + Amitraz, cães observados durante 12 semanas (n=70)
Êmese	16 (7,1%)	10 (14,3%)
Diminuição do apetite	15 (6,7%)	0 (0,0%)
Diarreia	11 (4,9%)	2 (2,9%)
Letargia	12 (5,4%)	5 (7,1%)
Polidipsia	4 (1,8%)	3 (4,3%)
Flatulência	3 (1,3%)	0 (0,0%)

Essas reduções nas contagens de pulgas e a alta taxa de eliminação completa das pulgas dos cães do estudo são traduzidas em benefícios clínicos diretos no alívio dos sinais de DAPP. Em cada um dos sinais de DAPP registrados, os cães tratados com fluralaner com sinais na inclusão e que não receberam medicações interferentes mostraram melhoras de 80% (descamação [16/20]) a 95% (crostas [21/22]). Durante o desenvolvimento do protocolo, foi decidido que este estudo para registro limitaria as avaliações da DAPP àquelas que pudessem ser objetivamente identificadas pelos investigadores. As avaliações subjetivas do prurido relatado pelo dono não foram, portanto, realizadas. Não obstante, como o prurido e outros sinais da DAPP são

causados por picadas de pulga, e como ambos os tratamentos eram eficazes na eliminação das pulgas, pode-se esperar que os benefícios associados incluiriam reduções no prurido.

Este foi um estudo no mundo real desenhado para investigar o potencial dos comprimidos de fluralaner administrados pelo dono como uma nova abordagem para controlar as infestações de pulgas caninas. O estudo foi aberto para os donos e o pessoal da clínica que dispensava os produtos, mas toda a equipe responsável pelas avaliações permaneceu cega durante todo o tempo. As únicas instruções de tratamento

fornecidas aos donos foram administrar os comprimidos antes de uma refeição e de acordo com as instruções da embalagem, com a única diferença entre os protocolos de tratamento relacionada ao registro da palatabilidade dos comprimidos mastigáveis de fluralaner. Dois estudos similares com o espinosade, somente um dos quais avaliando a palatabilidade (de modo similar ao nosso protocolo), produziram resultados de eficácia notavelmente similares [3,12]. Os resultados desses estudos são condizentes com os resultados que relatamos, indicando que as avaliações da palatabilidade não afetaram de nenhuma maneira os resultados.

Tabela 4. Palatabilidade de três tratamentos sequenciais com os comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner administrados em intervalos de 12 semanas.

Etapa quando a dose é aceita pelo cão	Porcentagem de doses tomadas			Total
	1ª Dose	2ª Dose	3ª Dose	
	~D0	~D84	~D168	
	(n=207)	(n=188)	(n=164)	(n=559)
Livre escolha em 1 minuto	158 (76,3%)	142 (75,5%)	116 (70,7%)	416 (74,4%)
Livre escolha em 1- 5 minutos	11 (5,3%)	15 (8,0%)	9 (5,5%)	35 (6,3%)
Oculto no alimento ou outro petisco	27 (13,0%)	17 (9,0%)	26 (15,9%)	70 (12,5%)
Dose dada à força ao cão	10 (4,8%)	10 (5,3%)	13 (7,9%)	33 (5,9%)
Investigador contactado para a administração	1 (0,5%)	4 (2,1%)	0 (0,0%)	5 (0,9%)

Na visita de inclusão, foram encontrados carrapatos em 24 cães do estudo, indicando que haveria algum desafio com a exposição a carrapatos durante o estudo. Subsequentemente ao tratamento, poucos carrapatos foram encontrados, o que é condizente com a eficácia relatada da coleira de amitraz e respaldando a atividade anticarrapatos sustentada do fluralaner, demonstrada em outros estudos de campo e laboratoriais [5,7,13].

A ausência de eventos adversos sérios (Tabela 3) indica a segurança de ambos os produtos, com vômito sendo o evento adverso mais comumente relatado (relatado em 7,1% [16/224] dos cães tratados três vezes com comprimidos de fluralaner ao longo do período de observação de 26 semanas (3 doses) e em 14,3% [10/70] dos cães do grupo controle ao longo do período de observação de 12 semanas (3 doses de espinosade). Em outros estudos de campo de produtos antiparasitários caninos, as taxas de vômito variaram substancialmente - taxas de até 18% e 15% foram relatadas após o tratamento oral de cães com ivermectina em comprimidos e comprimidos mastigáveis, respectivamente, e uma taxa de vômito de 12% foi relatada após uma única dose tópica de selamectina ou dose oral de espinosade [12,14,15]. Outros eventos adversos foram normalmente transitórios e leves, respaldando o perfil de segurança do espinosade e do amitraz e indicando que o fluralaner pode ser usado com segurança em cães. As observações detalhadas dos donos, os eventos adversos irrelevantes associados a três tratamentos sequenciais com fluralaner ao longo de 26 semanas e as análises laboratoriais sem ocorrências especiais também confirmaram relatos anteriores demonstrando a segurança do fluralaner em cães [5,7-9].

Conclusão

Em conclusão, os resultados deste estudo clínico demonstram que um único tratamento de cães com o comprimido mastigável aromatizado de fluralaner, administrado pelos donos, fornece um nível de controle de pulgas que é pelo menos equivalente àquele fornecido por 3 tratamentos sequenciais com comprimidos de espinosade juntamente com uma coleira de amitraz. Vinculado ao alto nível de controle das pulgas, foi também observado o alívio substancial dos sinais clínicos associados à DAPP. Os comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner foram considerados altamente palatáveis para os cães. Este estudo também demonstrou um perfil de segurança favorável para o fluralaner. Portanto, o estudo demonstra que os comprimidos mastigáveis aromatizados de fluralaner oferecem um avanço significativo no tratamento e controle das infestações de pulgas caninas, fornecendo eficácia sustentada de 12 semanas com um único tratamento.

Abreviação

DAPP: Dermatite alérgica a picada de pulgas.

Conflito de interesses

Os Drs. Meadows, Guerino e Sun são funcionários da Merck Animal Health.

Contribuições dos autores

CM participou do desenho do estudo e foi responsável por sua coordenação e condução e preparação do manuscrito. FG concebeu o estudo e participou de seu desenho. FS participou do desenho do estudo e realizou as análises estatísticas. Todos

os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos veterinários e equipe dos centros de estudo por seus esforços para recrutar e trabalhar com os pacientes deste estudo. Os autores também agradecem a Allyson L Smith e a Carole Therrien e sua equipe da The Veterinary Consultancy LLC por seu trabalho junto aos centros de estudo.

Recebido em: 15 de maio de 2014, Aceito em: 4 de agosto de 2014

Publicado em: 16 de agosto de 2014

Referências

1. Dryden MW, Payne PA, Smith V, Hostetler J: Evaluation of an imidacloprid (8.8% w/w)-permethrin (44.0% w/w) topical spot-on and a fipronil (9.8% w/w)-(S)-methoprene (8.8% w/w) topical spot-on to repel, prevent attachment, and kill adult *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* ticks on dogs. *Vet Ther* 2006, **7**:173-186.
2. Rust MK: Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. *Trends Parasitol* 2005, **21**:232-236.
3. Dryden MW, Ryan WG, Bell M, Rumschlag AJ, Young LM, Snyder DE: Assessment of owner-administered monthly treatments with oral spinosad or topical spot-on fipronil(S)-methoprene in controlling fleas and associated pruritus in dogs. *Vet Parasitol* 2013, **191**:340-346.
4. Snyder DE, Meyer J, Zimmermann AG, Qiao M, Gissendanner SJ, Cruthers LR, Slone RL, Young DR: Preliminary studies on the effectiveness of the novel pulicide, spinosad, for the treatment and control of fleas on dogs. *Vet Parasitol* 2007, **150**:345-351.
5. Rohdich R, Roepke RKA, Zschiesche E: A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto (fluralaner) against Frontline (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. *Parasit Vectors* 2014, **7**:83.
6. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors* 2014, **7**:84.
7. NADA 141-126 Bravecto Fluralaner Chewable Tablets Dogs. <http://www.fda.gov/downloads/animalveterinary/products/approvedanimaldrugproducts/foiadruqsommaries/ucm399075.pdf>
8. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration. *Parasit Vectors* 2014, **7**:87.
9. Walther FM, Paul AJ, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: Safety of fluralaner, a novel systemic antiparasitic drug, in MDR1(-/-) Collies after oral administration. *Parasit Vectors* 2014, **7**:86.
10. Medleau L, Clekis T, McArthur TR, Alva R, Barrick RA, Jeannin P, Irwin J: Evaluation of fipronil spot-on in the treatment of flea allergic dermatitis in dogs. *J Small Anim Pract* 2003, **44**:71-75.
11. Bonneau S, Skowronski V, Sanquer A, Maynard L, Eun HM: Therapeutic efficacy of topical hydrocortisone aceponate in experimental flea-allergy dermatitis in dogs. *Aust Vet J* 2009, **87**:287-291.
12. Robertson-Plouch C, Baker KA, Hozak RR, Zimmermann AG, Parks SC, Herr C, Hart LM, Jay J, Hutchens DE, Snyder DE: Clinical field study of the safety and efficacy of spinosad chewable tablets for controlling fleas on dogs. *Vet Ther* 2008, **9**:26-36.
13. Estrada-Pena A, Ascher F: Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical administration of fipronil for prevention of experimental and natural infestations by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). *J Am Vet Med Assoc* 1999, **214**:1799-1803.

14. Plue RE, Jernigan AD, Acre KE, Coleman MW, Currin ST, Ellis AJ, Lange RL, Lange RL, Weiner DR: Field efficacy, safety and acceptability of ivermectin plus pyrantel in growing and adult dogs. In Proceedings of the Heartworm Symposium '92. Edited by Soll MD. Batavia, IL: American Heartworm Society; 1992:205-208.
15. Seward RL, Brokken ES, Plue RE: Ivermectin vs heartworm - a status update. In Proceedings of the Heartworm Symposium '86. Edited by Otto GF. Washington, DC: American Heartworm Society; 1986:1-8.

doi:10.1186/1756-3305-7-375

Cite este artigo como: Meadows et al.: A randomized, blinded, controlled USA field study to assess the use of fluralaner tablets in controlling canine flea infestations. *Parasites & Vectors* 2014 **7**:375.

Submeta seu próximo manuscrito para BioMed Central e aproveite todas as vantagens de:

- Conveniente submissão online
- Revisão completa por pares
- Nenhuma restrição de espaço ou despesas de figuras em cores
- Publicação imediata quando da aceitação
- Inclusão no PubMed, CAS, Scopus e Google Scholar
- Pesquisa livremente disponível para redistribuição

Submeta seu manuscrito em:
www.biomedcentral.com/submit

