

PESQUISA

Acesso Aberto

# Início da atividade do fluralaner (BRAVECTO™) contra *Ctenocephalides felis* em cães

Janina Taenzler<sup>1\*</sup>, Christina Wengenmayer<sup>1</sup>, Heike Williams<sup>1</sup>, Josephus Fourie<sup>2</sup>, Eva Zschiesche<sup>1</sup>, Rainer KA Roepke<sup>1</sup> e Anja R Heckeroth<sup>1</sup>

## Resumo

**Retrospecto:** Fluralaner (Bravecto™) é um novo inseticida e acaricida sistêmico que fornece atividade longa e persistente após uma única administração na dose mínima de 25 mg/kg de peso corporal.

**Métodos:** Três estudos randomizados com controle negativo foram conduzidos em cães para avaliar o início do extermínio (1 estudo) e a velocidade do extermínio das pulgas (2 estudos) pelo fluralaner. Todos os cães foram infestados com pulgas *C. felis* adultas antes do tratamento. Os cães dos grupos tratados receberam fluralaner oral uma vez a uma dose mínima de 25 mg/kg do peso corporal, enquanto que os cães dos grupos controle não foram tratados. Os grupos controle e de tratamento separados foram emparelhados em cada momento de avaliação das pulgas. As contagens de pulgas foram realizadas com penteação dos cães 0,5, 1, 2, ou 4 horas após o tratamento com fluralaner para medir o início do extermínio. Para avaliar a velocidade do extermínio das pulgas ao longo de 12 semanas, as contagens de pulgas foram realizadas através de penteação dos cães 4, 8, 12 ou 24 horas após o tratamento com fluralaner e então 4, 8, 12 ou 24 horas após cada reinfestação de pulgas, realizada 4, 8 e 12 semanas após o tratamento.

**Resultados:** No estudo do início do extermínio, a atividade do fluralaner contra pulgas iniciou já em 1 hora após o tratamento (8% de eficácia numérica). Em 2 e 4 horas após o tratamento, a redução das pulgas foi significativa, com 36,7% e 88% de eficácia, respectivamente.

Nos estudos da velocidade do extermínio, a eficácia contra pulgas após o tratamento com fluralaner foi 80,5% em 4 horas e continuou > 99,4% em 8, 12 e 24 horas. Após as reinfestações de pulgas nas semanas 4, 8 e 12, a eficácia em 4 horas foi de 96,8, 91,4 e 33,5%, respectivamente. A eficácia em 8, 12 e 24 horas após as reinfestações de pulgas foi de 98,0-100% para as 12 semanas do estudo. Exceto para 4 horas após a reinfestação de pulgas em 12 semanas, a redução das pulgas foi significativa para todos os momentos após a reinfestação.

**Conclusões:** A administração oral única de fluralaner elimina rapidamente as infestações de pulgas existentes e propicia excelente proteção contra pulgas durante 12 semanas após o tratamento.

**Unitermos:** Bravecto™, Comprimidos mastigáveis, Fluralaner, Início da atividade, Início do extermínio, Velocidade do extermínio, Cão, Pulga, *Ctenocephalides felis*, Eficácia.

## Retrospecto

A pulga do gato, *Ctenocephalides felis*, é a principal espécie de pulga que infesta cães e gatos [1] e o ectoparasito mais importante para cães em várias partes do mundo [2]. Uma infestação de pulgas persistente sem tratamento pode provocar prurido intenso, trauma autoinfligido e até mesmo, no caso de infestação maciça, anemia [2]. Em alguns cães, a exposição às pulgas leva à condição mais séria de dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP), um resultado da hipersensibilidade aos componentes da saliva da pulga [1]. Tendo ocorrido a sensibilização, basta um pequeno número de picadas de pulga para a reincidência das lesões. Os sinais clínicos são geralmente transitórios, mas podem ocorrer

alterações crônicas na pele, como alopecia, crostas, hiperpigmentação e liquenificação, se a infestação de pulgas não for eliminada [3]. Os cães são afetados somente pelas pulgas adultas. Outros estágios do ciclo de vida da pulga contaminam o ambiente, onde ocorre o desenvolvimento da pulga desde o ovo via larvas e pupas até as pulgas adultas recém-emergidas. A eliminação das pulgas adultas antes de elas começarem a postura de ovos é essencial para o sucesso no controle das pulgas [4]. São necessárias aproximadamente 24 horas entre o primeiro repasto sanguíneo da pulga e o início da postura de ovos [1]. Portanto, é necessário exterminar efetivamente todas as pulgas adultas dentro desse intervalo de tempo.

\*Correspondência: janina.taenzler@msd.de

<sup>1</sup> MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany

A lista completa de informações sobre os autores está disponível no final do artigo.

O princípio ativo do Bravecto™, o fluralaner, é um membro da classe das isoxazolinas, uma nova classe de medicamentos antiparasitários que inibem os canais de cloreto ligados ao glutamato e ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) com seletividade significativamente maior para os nerônios dos insetos do que para os neurônios dos mamíferos [5,6]. O fluralaner formulado em comprimido mastigável aromatizado está disponível no mercado para a eliminação imediata e persistente de carrapatos e pulgas em cães por 12 semanas, produzindo sua ação primária através da atividade de alimentação [7]. Em um estudo de campo, uma única dose de fluralaner propiciou 12 semanas de atividade contra pulgas em cães [8] e mostrou que ele é seguro e bem tolerado [8,9].

O objetivo dos presentes estudos foi determinar a) com que rapidez o fluralaner começa a exterminar as pulgas (em 0,5-4 horas após o tratamento) e b) a velocidade do extermínio das pulgas em 4-24 horas após a infestação ao longo das 12 semanas de duração da eficácia do fluralaner.

## Métodos

### Configuração do estudo

Três estudos cegos, randomizados, com controle negativo, foram realizados, um do início do extermínio na África do Sul e dois da velocidade do extermínio na Alemanha. O estudo do início do extermínio foi conduzido de acordo com as Boas Práticas Clínicas (Diretriz GL9 do VICH, Boas Práticas Clínicas (EMA, 2000)), em conformidade com a Norma Nacional Sul-africana "SANS 10386:2008: O cuidado e uso dos animais para fins científicos" e a aprovação ética foi obtida do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da ClinVet (CAEC) antes do início do estudo. Os 2 estudos da velocidade do extermínio foram conduzidos de acordo com os Princípios da Boa Prática Laboratorial (BPL) do OECD e os Princípios de BPL do "Chemikaliengesetz" (Ato sobre Produtos Químicos) alemão, em conformidade com os regulamentos alemães sobre o bem-estar dos animais e a aprovação ética foi obtida antes do início do estudo.

Para cada momento de avaliação das pulgas em cada um dos três estudos, 6 cães tratados e 6 cães controle foram incluídos, portanto, um total de 96 cães (52 machos e 44 fêmeas). Todos os cães incluídos tinham mais de 6 meses de idade, pesavam entre 8,9 e 18,8 kg e eram mestiços ou de raça pura (Beagles). Cada cão estava em boas condições de saúde, não tinha sido tratado com nenhum produto para controle de parasitas nos 3 meses anteriores a um período de aclimação de 7 dias e era identificado de modo único por um número de microchip. No estudo do início do extermínio e nos estudos da velocidade do extermínio, foram usadas raças de pulgas criadas em laboratório, tanto originárias da Alemanha como coletadas em campo menos de 10 anos antes dos estudos.

Dentro do período de aclimação, a suscetibilidade de cada cão às pulgas foi confirmada por uma infestação de pulgas com 100 ( $\pm$  4) pulgas (início do extermínio) ou 80 pulgas (velocidade do extermínio), seguida da remoção e contagem das pulgas 24 ( $\pm$  2) horas depois. Todos os cães incluídos no estudo abrigavam mais de 50% do número de pulgas originalmente infestadas. A classificação dos cães foi realizada por sexo (estudo do início do extermínio) ou sem separação de sexo (estudos da velocidade do extermínio) por ordem decrescente da contagem de pulgas e os cães foram alocados aleatoriamente aos grupos do estudo usando uma lista de randomização gerada por computador.

No estudo do início do extermínio, os cães foram alojados individualmente. Nos estudos da velocidade do extermínio, os cães foram alojados por grupo dentro de seu grupo de estudo correspondente durante os períodos sem infestação de pulgas. Nos dias em que portavam pulgas, todos os cães eram alojados individualmente.

### Tratamento

Um ou 2 dias antes do tratamento, todos os cães foram infestados com 100 ( $\pm$  4) (estudo do início do extermínio) ou 80 (estudos da velocidade do extermínio) pulgas *C. felis* não alimentadas. No dia do tratamento (dia 0), cada cão recebeu metade de sua ração diária aproximadamente 20 minutos antes do tratamento e o restante diretamente após o tratamento. Os cães dos grupos de tratamento foram tratados oralmente com comprimidos mastigáveis de fluralaner (Bravecto™), com base no peso corporal individual do cão, para atingir uma dose mínima de 25 mg de fluralaner/ kg de peso corporal. O comprimido mastigável foi administrado por meio de colocação no fundo da cavidade oral sobre a língua para iniciar a deglutição. Cada cão tratado foi observado continuamente por 1 hora após a administração para monitorar a ocorrência de vômito ou se o comprimido era cuspidado, o que não ocorreu em nenhum dos 3 estudos. Os cães do grupo controle permaneceram não tratados. As observações gerais da saúde foram realizadas diariamente durante todo o período de duração dos 3 estudos.

### Infestações de pulgas e avaliações

No estudo do início do extermínio, todos os cães foram infestados com 100 ( $\pm$  4) pulgas 1 dia antes do tratamento. As contagens de pulgas foram realizadas com um par do grupo de tratamento e do grupo controle em 0,5 ( $\pm$  5 min), 1 ( $\pm$  15 min), 2 ( $\pm$  15 min) ou 4 ( $\pm$  15 min) horas após o tratamento com fluralaner. Nos dois estudos da velocidade do extermínio, os cães foram infestados com 80 pulgas nos dias -2, 28 (4 semanas), 56 (8 semanas) e 84 (12 semanas). As contagens de pulgas foram realizadas com um par do grupo de tratamento e do grupo controle em 4 e 8 ( $\pm$  0,75) horas em um estudo ou em 12 e 24 ( $\pm$  1,5) horas no outro estudo após o tratamento com fluralaner (semana 0), ou a cada reinfestação de pulgas (semanas 4, 8, e 12). Cada cão foi penteado para remover e contar as pulgas adultas vivas. O pessoal que conduzia as contagens pela penteação era cego com relação ao grupo do estudo.

### Avaliação da eficácia

O cão individual era a unidade experimental em todos os cálculos estatísticos. Os dados de cada momento de contagem de pulgas foram analisados separadamente. As diferenças significativas foram avaliadas entre as contagens logarítmicas das pulgas adultas vivas em cada grupo tratado, em cada momento de avaliação, em comparação com as contagens logarítmicas do respectivo grupo controle não tratado. Os grupos do estudo foram comparados usando um modelo linear misto incluindo o grupo do estudo como efeito fixo e o bloco como efeito aleatório. O nível de significância bilateral era declarado quando  $P < 0,05$  (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA, versão 9.2).

A eficácia foi calculada usando as médias geométricas com a fórmula de Abbott:

Eficácia (%) =  $100 \times (M_c - M_T) / M_c$ , onde  $M_c$  era a média do número total de pulgas adultas vivas nos cães não tratados

e  $M_i$  a média do número total de pulgas adultas vivas nos cães tratados. No caso de contagens zero, a média geométrica (de pulgas) foi calculada como segue:

$$X_g = \left( \prod_{i=1}^n (x_i + 1) \right)^{\frac{1}{n}} - 1$$

**Tabela 1.** Estudo do início do extermínio: contagens médias de pulgas, faixa de contagem de pulgas e porcentagem de eficácia em 0,5, 1, 2 e 4 horas após uma única administração oral de fluralaner aos cães.

Tempo após o tratamento	0,5 hora		1 hora		2 horas		4 horas	
	Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle
Média <sup>a</sup> das contagens de pulgas (n)	78,71	73,96	78,14	84,89	48,70	76,97	7,38	61,57
Faixa da contagem (n)	74-86	65-89	47-96	64-97	33-69	61-99	0-80	30-80
Eficácia (%)	0,0%		8,0%		36,7% <sup>b</sup>		88,0% <sup>b</sup>	

**Tabela 2.** Estudo da velocidade do extermínio: contagens médias de pulgas, faixa de contagem de pulgas e porcentagem de eficácia ao longo de 12 semanas após uma única administração oral de fluralaner aos cães.

Momentos de avaliação <sup>a</sup>	Grupo do estudo	4 horas		8 horas		12 horas		24 horas	
		Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle	Fluralaner	Controle
Semana 0	Média <sup>b</sup> das contagens de pulgas (n)	4,14	21,21	0,30	49,93	0,0	73,59	0,0	13,85
	Faixa da contagem (n)	0-21	1-71	0-4	6-80	0	58-79	0	0-75
	Eficácia (%)	80,5% <sup>c</sup>		99,4% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>	
Semana 4	Média <sup>b</sup> das contagens de pulgas (n)	2,38	74,78	0,0	77,79	0,0	73,53	0,0	69,35
	Faixa da contagem (n)	0-13	69-80	0	73-80	0	66-80	0	61-75
	Eficácia (%)	96,8% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>	
Semana 8	Média <sup>b</sup> das contagens de pulgas (n)	5,71	66,61	0,0	75,01	0,12	69,56	0,0	71,48
	Faixa da contagem (n)	0-43	60-77	0	62-80	0-1	59-80	0	65-79
	Eficácia (%)	91,4% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>		99,8% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>	
Semana 12	Média <sup>b</sup> das contagens de pulgas (n)	45,91	69,02	1,49	74,24	1,02	76,44	0,0	73,25
	Faixa da contagem (n)	15-75	64-75	0-14	67-77	0-16	72-80	0	68-78
	Eficácia (%)	33,5%		98,0% <sup>c</sup>		98,7% <sup>c</sup>		100% <sup>c</sup>	

<sup>a</sup> Avaliação das pulgas xy horas após o tratamento ou reinfestação após o tratamento.

<sup>b</sup> Média geométrica.

<sup>c</sup> As contagens logarítmicas das pulgas vivas do grupo tratado foram significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ) das contagens logarítmicas do respectivo grupo controle não tratado.

## Resultados

Nenhum evento adverso considerado como relacionado ao tratamento com fluralaner oral foi observado em qualquer cão.

No estudo do início do extermínio (Tabela 1) a atividade do fluralaner contra pulgas tinha iniciado já em 1 hora após o tratamento (8% de eficácia numérica). Redução significativa das pulgas foi observada em 2 e 4 horas (36,7% e 88% de eficácia). Quatro horas após o tratamento, foi encontrado um cão sem nenhuma pulga e três cães com < 6 pulgas.

Nos estudos da velocidade do extermínio (Tabela 2), a eficácia contra pulgas após o tratamento com fluralaner foi 80,5% em 4 horas e continuou > 99,4% em 8, 12 e 24 horas.

Após as reinfestações de pulgas nas semanas 4, 8 e 12, a eficácia em 4 horas foi de 96,8, 91,4 e 33,5%, respectivamente. A eficácia em 8, 12 e 24 horas após as reinfestações de pulgas foi de 98,0-100% para as 12 semanas do estudo. Somente algumas ou nenhuma pulga foi observada nos cães nesses momentos. Exceto para 4 horas após a reinfestação de pulgas em 12 semanas, a redução das pulgas foi significativa para todos os momentos após o tratamento e a reinfestação.

## Discussão

Fluralaner (Bravecto™) é o primeiro ectoparasiticida administrado oralmente a demonstrar eficácia contra pulgas ao longo de 12 semanas [7]. No estudo do início do extermínio, os resultados mostram que o fluralaner

administrado oralmente começa a exterminar as pulgas presentes no cão já em 1 hora após o tratamento. Em 4 horas após o tratamento, 88% e em 8 horas após o tratamento, 99,4% das pulgas tinham sido exterminadas. Essa eficácia pronunciada em 8 horas após o tratamento foi mantida por todo o período de 12 semanas após o tratamento. Esse resultado é condizente com a eficácia próxima a 100% observada em múltiplos momentos em um estudo de campo europeu [8]. Naquele estudo de campo, em um grupo tratado com fipronil, a eficácia foi menor em todos os momentos e requereu tratamento mensal repetido para atingir uma eficácia comparável à do fluralaner após uma administração. A pronunciada eficácia do fluralaner contra pulgas em 8 horas por um período de pelo menos 12 semanas após o tratamento contribui para o controle da população de pulgas no ambiente pela eliminação gradual dos estágios das pulgas. As pulgas fêmeas começam a postura de ovos dentro de 24-48 horas após o início do repasto sanguíneo, que é necessário para a produção de ovos e maturação das pulgas [10]. Exterminando todas as pulgas adultas recém-emergidas antes de elas iniciarem a postura de ovos durante o período de tempo estendido de 12 semanas, o ciclo de vida da pulga será interrompido, isto é, as larvas, pupas e novas adultas serão erradicadas do ambiente do cão. A eficácia de longa duração contra pulgas é fortalecida fornecendo um efeito adicional sobre a reprodução das pulgas, pois o fluralaner reduz diretamente o desenvolvimento das pupas e, desse modo, o aparecimento de novas pulgas adultas [11]. Portanto, o

tratamento com fluralaner não só tem um efeito sobre a população de pulgas existentes no cão, mas também contribui para a interrupção do ciclo de vida da pulga e, desse modo, para a extinção da carga de pulgas em um ambiente infestado. Devido ao rápido início de atividade do fluralaner, menos pulgas são capazes de picar, o que dá suporte ao tratamento da DAPP [8], até mesmo ao ponto de não ser mais necessária nenhuma medicação concomitante adicional [observações não publicadas]. Um fator comum para o controle insuficiente dos ectoparasitos nos cães é a baixa adesão do dono aos protocolos de re-tratamento mensais requeridos pelas opções terapêuticas ectoparasitárias existentes [12,13]. A baixa adesão do dono pode também estimular a resistência na população de pulgas, selecionando os indivíduos tolerantes ao inseticida [13]. Um longo intervalo de re-tratamento e maior adesão do dono ao tratamento poderiam reduzir o potencial para desenvolvimento de resistência. Portanto, um princípio ativo com um longo intervalo de re-tratamento, tal como o fluralaner, leva a um melhor controle das pulgas.

### Conclusões

Uma única administração oral de fluralaner formulado em comprimido mastigável (Bravecto™), a cães, leva ao início da atividade de extermínio das pulgas a partir de 1 hora e eficácia de 98-100% contra pulgas em 8 horas após o tratamento ou após a reinfestação durante todo o período de 12 semanas após o tratamento. O fluralaner efetivamente extermina as pulgas em algumas horas após a infestação do hospedeiro, contribuindo desse modo para a interrupção do ciclo de vida da pulga, levando à depleção ambiental da população de pulgas. Isto também dá suporte ao tratamento da DAPP. O longo intervalo de re-tratamento do fluralaner (Bravecto™) oferece mais conveniência do que os tratamentos mensais de controle de pulgas com uma vantagem potencial de adesão ao tratamento.

### Conflito de interesses

JL é funcionária da ClinVet e todos os outros autores deste artigo são funcionários da MSD Animal Health. Estes estudos foram conduzidos como parte de um programa de pesquisa para avaliar a segurança e a eficácia do fluralaner no tratamento de pulgas e carrapatos em cães e gatos.

### Contribuições dos autores

O desenho, o protocolo e o relatório do estudo do início do extermínio foram preparados por JT, AH, RR e BG. JL e sua equipe da ClinVet SA foram responsáveis pela fase animal e a coleta de dados e EZ realizou os cálculos estatísticos. O desenho, o protocolo e o relatório dos 2 estudos da velocidade do extermínio foram preparados por CW, HW, AH e RR. O estudo foi conduzido na MSD Animal Health e EZ realizou os cálculos estatísticos. Todos os autores leram e aprovaram a versão final.

### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a toda a equipe da MSD Animal Health e da ClinVet SA por sua assistência e contribuição para a realização destes estudos.

### Detalhes dos autores

<sup>1</sup>MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany. <sup>2</sup>ClinVet International, Uitsigweg, Bainsvlei, 9338 Bloemfontein, Free State, South Africa.

Recebido em: 24 de julho de 2014, Aceito em: 24 de novembro de 2014  
Publicado online em: 4 de dezembro de 2014

### Referências

1. Dryden MW, Rust MK: The cat flea: Biology, ecology and control. *Vet Parasitol* 1994, 52:1-19.
2. Carlotti DN, Jacobs DE: Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Vet Derm* 2000, 11:83-98.
3. Bruet V, Bourdeau PJ, Roussel A, Imparato L, Desfontis JC: Characterization of pruritus in canine atopic dermatitis, flea bite hypersensitivity and flea infestation and its role in diagnosis. *Vet Dermatol* 2012, 23:487-493.
4. Rust MK, Dryden MW: The biology, ecology, and management of the cat flea. *Annu Rev Entomol* 1997, 42:451-473.
5. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahari K, Mita T: The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, 391:744-749.
6. Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T: The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol* 2014, 45:111-124.
7. Bravecto EPAR summary for the public. *European Medicines Agency*. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_Summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/002526/WC500163861.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/veterinary/002526/WC500163861.pdf).
8. Rohdich N, 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.
9. Walther F, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors* 2014, 7:84.
10. Blagburn BL, Dryden MW: Biology, treatment and control of flea and tick infestations. *Vet Clin N Am* 2009, 39(6):1173-1200.
11. Williams H, Young DR, Qureshi T, Zoller H, Heckerroth AR: Fluralaner, a novel isoxazoline, prevents flea (*Ctenocephalides felis*) reproduction in vitro and in a simulated home environment. *Parasit Vectors* 2014, 7:275.
12. Beck S, Schein E, Baldermann C, von Samson-Himmelstjerna G, Kohn B: Tick infestation and tick prophylaxis in dogs in the area of Berlin/ Brandenburg-results of a questionnaire study. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2013, 126:69-76.
13. Coles TB, Dryden MW: Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. *Parasit Vectors* 2014, 7:8.

doi:10.1186/s13071-014-0567-6

**Cite este artigo como:** Taenzler et al.: Onset of activity of fluralaner (BRAVECTO™) against *Ctenocephalides felis* on dogs. *Parasites & Vectors* 2014 7:567.