



## PESQUISA

## Acesso Aberto

# Segurança do fluralaner, um novo medicamento antiparasitário sistêmico, em cães da raça Collie MDR1(-/-) após a administração oral.

Feli M Walther<sup>1\*</sup>, Allan J Paul<sup>2</sup>, Mark J Allan<sup>1</sup>, Rainer KA Roepke<sup>1</sup> e Martin C Nuernberger<sup>1</sup>

### Resumo

**Retrospecto:** Fluralaner é um novo ectoparasiticida sistêmico para cães que proporciona controle de longa duração das pulgas e carrapatos após uma única dose oral. Este estudo investigou a segurança da administração oral de fluralaner a 3 vezes a mais alta dose clínica esperada em Collies com defeito no gene da proteína de resistência a múltiplas drogas 1 (MDR1(-/-)).

**Métodos:** Dezesseis Collies homozigotos para a mutação de deleção do MDR1 foram incluídos no estudo. Oito Collies receberam comprimidos mastigáveis de fluralaner uma vez a uma dose de 168 mg/kg; oito Collies receberam dose simulada e serviram como controles. Todos os Collies foram clinicamente observados até 28 dias após o tratamento.

**Resultados:** Nenhum evento adverso foi observado subsequentemente ao tratamento com fluralaner de Collies MDR1(-/-) a três vezes a mais alta dose clínica esperada.

**Conclusões:** Os comprimidos mastigáveis de fluralaner são bem tolerados em Collies MDR1(-/-) após a administração oral.

**Unitermos:** Fluralaner, Bravecto™, Cão, Segurança, MDR1

### Retrospecto

Fluralaner é um novo produto inseticida e acaricida administrado sistemicamente que fornece eficácia de longa duração após a administração oral a cães. O fluralaner pertence a uma nova classe de compostos, as isoxazolininas. Esses compostos têm atividade contra os canais de cloreto dependentes do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e glutamato, com seletividade mais significativa para os neurônios de insetos do que para os neurônios de mamíferos [1]. Um estudo de campo mostrou que uma única dose de fluralaner administrada oralmente a cães fornece pelo menos doze semanas de controle de pulgas e carrapatos [2]. A longa duração da atividade oferece um tratamento mais conveniente do que os tratamentos mensais de controle de pulgas e carrapatos, com uma vantagem potencial da aderência ao tratamento, reduzindo o risco de doenças transmitidas por vetores.

Este tratamento sistêmico será provavelmente administrado a cães portadores da mutação de deleção do gene de resistência a múltiplas drogas (MDR1). Os cães homozigotos para esta mutação não expressam a glicoproteína P funcional [3], uma bomba de efluxo para medicações, altamente expressa na barreira hematoencefálica que restringe o acúmulo de drogas no sistema nervoso central através de um mecanismo de transporte baseado em efluxo [4]. As mutações MDR1 foram detectadas em várias raças de cães, tal como o Collie de pelo áspero e macio, Pastor de Shetland, Pastor Australiano, McNab, Longhaired Whippet, Silken

Windhound, Old English Sheepdog, English Shepherd, Border Collie e Waller [5,6]. As mutações homozigotas (MDR1(-/-)) estão associadas a um risco elevado de neurotoxicidade para múltiplas drogas, levando a achados clínicos como depressão, midríase, salivação, tremor, ataxia e coma [3,7-10]. Embora os cães MDR1(-/-) não expressem uma glicoproteína P funcional, é relatada uma variabilidade interindividual na sensibilidade [7,11]. Adicionalmente à baixa afinidade *in vitro* do fluralaner aos receptores neuronais de mamíferos [1], o fluralaner não causou nenhum sinal de neurotoxicidade em um estudo anterior da segurança das altas doses em cães saudáveis [12] nem em um estudo de campo [2]; este estudo foi desenhado para confirmar a segurança da administração do fluralaner oral em cães com mutação MDR1(-/-) comprovada. Para levar em conta a variabilidade na susceptibilidade, o fluralaner foi administrado em superdoses, isto é, 3 vezes a mais alta dose clínica esperada de 56 mg/kg PC [2].

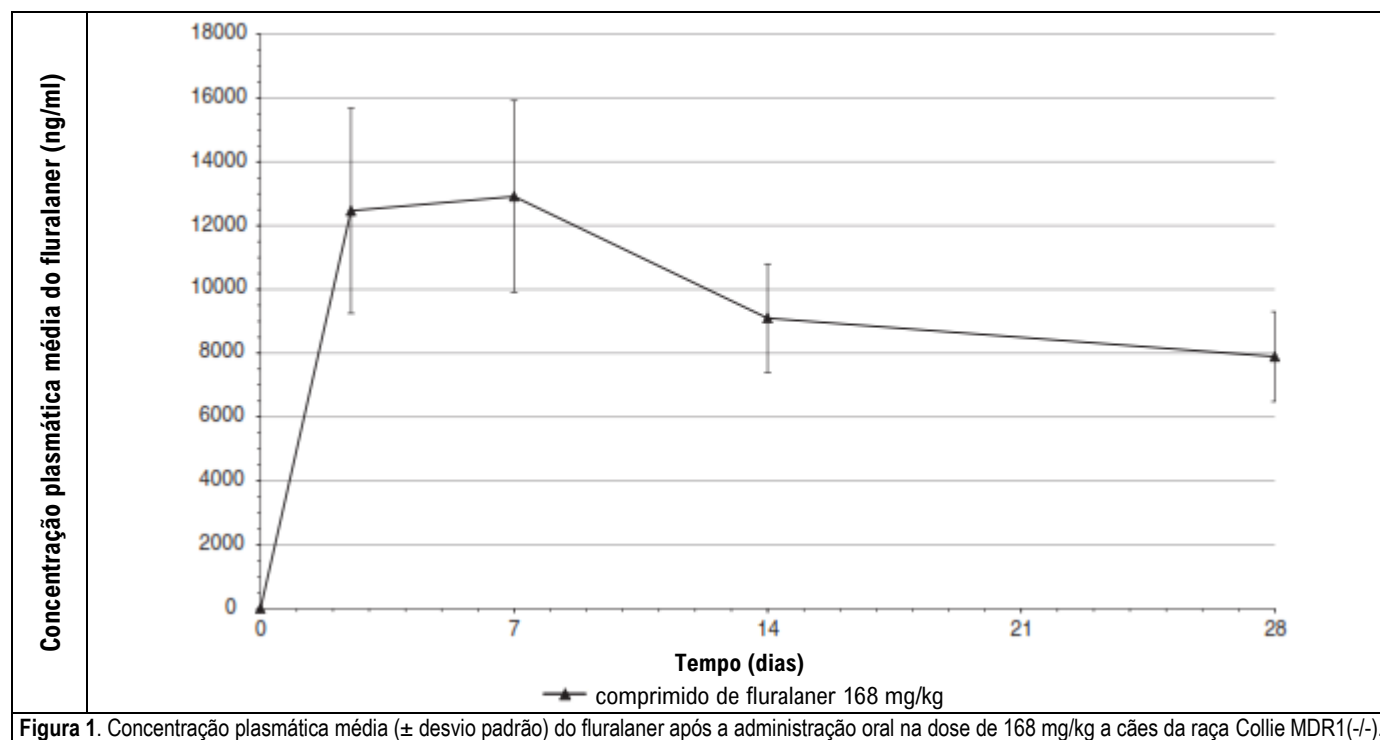
### Métodos

Este estudo de um único centro, randomizado, de grupos paralelos e com investigador cego ao tratamento incluiu dezesseis cães da raça Collie machos e fêmeas saudáveis, de 1,7 - 4,0 anos de idade (média 1,9 anos) e pesando 16-27 kg (média 22 kg). Os cães eram de quatro ninhadas diferentes, com três ninhadas diferentes por grupo de estudo. Todos os Collies eram homozigotos para a mutação de deleção MDR1, confirmada por teste genético ([www.vetmed.wsu.edu/VCPL](http://www.vetmed.wsu.edu/VCPL)).

\* Correspondência: [feli.walther@msd.de](mailto:feli.walther@msd.de)

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

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



**Figura 1.** Concentração plasmática média ( $\pm$  desvio padrão) do fluralaner após a administração oral na dose de 168 mg/kg a cães da raça Collie MDR1(-/-).

Este estudo foi conduzido em Michigan, EUA em conformidade com o Ato do Bem-Estar dos Animais fiscalizado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e a aprovação ética foi obtida antes do início do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê Institucional de Cuidados e Uso de Animais (IACUC nº CHK-13-0419).

Cães da raça Collie saudáveis, com base na avaliação física e patológica clínica inicial, foram alojados individualmente e alimentados com uma dieta comercial padrão nas taxas recomendadas. Os Collies foram alocados randomicamente aos grupos do estudo usando o seguinte procedimento de randomização em blocos: os cães foram separados por sexo e classificados por ordem crescente de peso corporal; se dois cães tivessem pesos corporais idênticos, eles eram subclassificados por número de microchip ascendente. Os dois primeiros cães dentro de cada sexo formavam um bloco que era randomicamente alocado a cada um dos dois grupos do estudo, e o processo era repetido até que 4 cães machos e 4 fêmeas fossem alocados a cada grupo do estudo. Um total de 8 Collies recebeu fluralaner e 8 cães dosados simuladamente serviram como controles.

A faixa de dose esperada para administração do fluralaner durante o uso clínico de rotina é entre 25 e 56 mg/kg [ 2 ]. Este estudo avaliou a administração oral única de fluralaner em um comprimido mastigável a 3 vezes a mais alta dose clínica esperada (168 mg de fluralaner/kg de peso corporal). A dose individual para cada cão tratado foi baseada no peso corporal determinado um dia antes do tratamento. A formulação em comprimido usada foi a formulação comercial final concebida para ser comercializada como Bravecto, produzida de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF). A distribuição homogênea do fluralaner nos comprimidos foi previamente confirmada

como parte do desenvolvimento do produto. Comprimidos de fluralaner inteiros (1400 mg de fluralaner/comprimido) e partes dos comprimidos foram administrados a cada cão para entregar a dose calculada. A administração dos comprimidos cortados resultou em um desvio máximo da dose alvo de 0,5 mg de fluralaner/kg de peso corporal. Após a administração do comprimido, era dada uma pequena quantidade de água para estimular a deglutição. Os cães controle permaneceram não tratados e eram tratados simuladamente somente com água. No dia do tratamento (dia 0), os cães de ambos os grupos foram alimentados com uma porção de ração enlatada nos 30 minutos anteriores ao tratamento e uma outra porção da ração enlatada diretamente após o tratamento (aproximadamente 350 gramas no total). Os cães eram alimentados em torno da hora do tratamento para assegurar alta exposição sistêmica ao fluralaner, uma vez que a biodisponibilidade do fluralaner é mais alta em cães alimentados [13]. A porção diária normal de alimento era oferecida uma hora após o tratamento.

Todos os cães eram observados por um técnico quanto à saúde geral antes do tratamento e durante a primeira hora subsequente à administração do fluralaner. Avaliações clínicas eram realizadas por um veterinário, que era mascarado à condição de tratamento de cada cão, em 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 e 72 horas após a administração. As avaliações enfocavam, entre outros: comportamento, salivação, vômito, ataxia, tremor muscular, midríase e reflexo pupilar. Entre 3 e 7 dias após o tratamento, os cães foram observados quatro vezes por dia e então duas vezes por dia durante os 21 dias restantes do período do estudo por um técnico mascarado para a condição de tratamento de cada cão. Exames físicos adicionais foram realizados por um veterinário (mascarado para a condição de tratamento) antes da administração do fluralaner nos dias 7, 14 e 28. O veterinário diretor do estudo avaliava todos os

parâmetros registrados e todos os achados clínicos quanto à sua relação com o tratamento com fluralaner. Todos os achados relacionados ao tratamento eram classificados como eventos adversos. Amostras de sangue foram coletadas em intervalos ao longo do período do estudo para monitorar a exposição sistêmica ao fluralaner. Os momentos de amostragem do sangue foram selecionados com base em dados farmacocinéticos anteriores [14] e as amostras de sangue foram analisadas usando um método de LC-MS/MS validado (limite inferior de quantificação = 10 ng/ml).

### Resultados e discussão

Todos os cães tratados com fluralaner consumiram rapidamente a porção completa de alimento oferecida antes e diretamente depois da administração do fluralaner.

O fluralaner foi quantificável no plasma dos cães tratados desde o primeiro momento de amostragem após o tratamento e durante todo o estudo, confirmando a exposição sistêmica relacionada à dose (Figura 1).

Não foram observados vômito, salivação excessiva ou quaisquer outros achados durante a primeira hora da observação clínica subsequente ao tratamento ou durante as frequentes avaliações clínicas realizadas durante os 3 dias subsequentes à administração do fluralaner. Os achados clínicos observados ao longo do período do estudo incluíram um calo esfolado do jarrete medial de um cão antes do tratamento, um cão que mordeu a língua durante a alimentação antes do tratamento, evidência de estro em três cães do grupo do fluralaner e uma observação de taquicardia em um cão do grupo controle. Esses achados clínicos foram menores e não relacionados ao tratamento com fluralaner.

Essa avaliação da segurança clínica do fluralaner, um novo medicamento antiparasitário sistêmico, em cães MDR1(-/-) tratados oralmente a 3 vezes a mais alta dose clínica recomendada não detectou nenhum evento adverso. As observações clínicas detalhadas foram programadas para fornecer a máxima cobertura durante o período das concentrações sistêmicas mais altas esperadas do fluralaner para assegurar que os possíveis sinais clínicos neurológicos tivessem se tornado aparentes. No entanto, não foram observados sinais de neurotoxicidade ou quaisquer outros eventos adversos durante essas observações frequentes.

Esses resultados são compatíveis com um estudo da segurança anterior [12] em cães da raça Beagle saudáveis, que não encontrou nenhuma evidência de sintomas neurotóxicos ou quaisquer outros achados relacionados ao tratamento associados à administração oral repetida de até 280 mg de fluralaner/kg.

### Conclusões

Os comprimidos mastigáveis de fluralaner são bem tolerados em cães da raça Collie MDR1(-/-) após a administração oral.

### Conflito de interesses

FMW, MJA, RKAR e MCN são funcionários da Merck/MSD

Animal Health. AJP é empregado da Universidade de Illinois.

### Contribuições dos autores

FMW, AJP, MJA, RKAR e MCN foram os autores do desenho do estudo, monitoraram o estudo e interpretaram os resultados. Todos os autores revisaram e aprovaram a versão final do manuscrito.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Cheri Hill Kennel & Supply, Stanwood, MI, EUA pela assistência com o estudo.

### Detalhes dos autores

<sup>1</sup>MSD AnimalHealth Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany. <sup>2</sup>University of Illinois College of Veterinary Medicine, 2001 S. Lincoln Ave, Urbana, IL 61802, USA.

Recebido em: 18 de dezembro de 2013, Aceito em: 26 de fevereiro de 2014  
Publicado em: 6 de março de 2014

### Referências

- Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahira 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.
- 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.
- Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor GH: Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 2001, 8:727-733.
- Schinkel AH: The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol* 1997, 8:161-170.
- Neff MW, Robertson KR, Wong AK, Safra N, Broman KW, Slatkin M, Mealey KL, Pedersen NC: Breed distribution and history of canine *mdr1-1 A*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:11725-11730.
- Geyer J, Doering B, Godoy JR, Leidolf R, Moritz A, Petzinger E: Frequency of the nt230(del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. *J Vet Pharmacol Therap* 2005, 28:545-551.
- Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, Todd KS Jr, DiPietro JA: Clinical observations in collies given ivermectin orally. *Am J Vet Res* 1987, 48:684-685.
- Geyer J, Doering B, Godoy JR, Moritz A, Petzinger E: Development of a PCR-based diagnostic test detecting a nt230(del4) MDR1 mutation in dogs: verification in a moxidectin-sensitive Australian Shepherd. *J Vet Pharmacol Therap* 2005, 28:95-99.
- Geyer J, Klintzsch S, Meerkamp K, Woehle A, Distl O, Moritz A, Petzinger E: Detection of the nt230(del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs: case reports of doramectin toxicosis, breed predisposition, and microsatellite analysis. *J Vet Pharmacol Therap* 2007, 30:482-485.
- Barbet JL, Snook T, Gay JM, Mealey KL: ABCB1-1A (MDR1-1A) genotype is associated with adverse reactions in dogs treated with milbemycin oxime for generalized demodicosis. *Vet Dermatol* 2009, 20:111-114.
- Martinez M, Modric S, Sharkey M, Troutman L, Walker L, Mealey K: The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. *J vet Pharmacol Therap* 2008, 31:285-300.
- 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.
- 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.
- Kilp S, Ramirez D, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasit Vectors* 2014, 7:85

doi:10.1186/1756-3305-7-86

**Cite este artigo como:** Walther et al.: Safety of fluralaner, a novel systemic antiparasitic drug, in MDR1(-/-) Collies after oral administration. *Parasites & Vectors* 2014 7:86.