

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

Haese; DSc Douglas; Sobreiro, MSc Rodrigo Pereira; Del Puppo, MSc Débora; Arçari, MSc Anderson Tozi

RESUMO

O presente estudo teve como intuito determinar ação anti-inflamatória, em cães, do produto Neodexa Spray®, à base de neomicina (sulfato), dexametasona acetato quando administrado por via tópica, a cada 12 horas durante três dias consecutivos. Foram utilizados 20 cães, diagnosticados ao início do estudo como clinicamente saudáveis por um médico veterinário, através de inspeção geral do estado de saúde. Os animais foram distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, com dois grupos (Controle e Medicado). Os animais foram avaliados com relação ao volume de edema intradérmico, temperatura local, e avaliação das proteínas inflamatórias, Proteína C-Reativa canina e fibrinogênio para determinar a eficácia da utilização do produto em estudo. Durante o período de avaliação foi possível observar que o volume de edema intradérmico dos animais do grupo Medicado foi inferior aos valores apresentado pelos animais do grupo Controle. Os resultados obtidos pelas avaliações realizadas e por meio de análises estatísticas asseguram que o produto Neodexa Spray® é eficiente na redução da inflamação cutânea em cães.

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

Data de realização do estudo

Data do início do estudo: 08/07/2013

Data do encerramento do estudo: 12/07/2013

4.8. Dados do produto

- Nome do produto: Neodexa Spray®
- Apresentação: Frascos 125 mL
- Fórmula

Cada 100 mL contém:

Neomicina base.....320 mg

Acetato de Dexametasona.....100 mg

Veículo q.s.p.100 ml

INTRODUÇÃO

A pele como uma das principais queixas na rotina das clínicas e hospitais veterinários, é o maior órgão dos animais, funcionando como uma barreira anatômica e fisiológica que protege o organismo das injúrias do meio ambiente, sejam elas física, químicas ou biológicas; além de refletir algumas alterações internas do organismo (Lucas, 2008).

Quando lesada, a pele desencadeia um processo inflamatório onde modificações fluídicas e celulares ocorrem no tecido vascularizado resultando em sinais clinicamente detectáveis de rubor, calor, dor, aumento de volume e perda da função, a fim de reparar o tecido lesado (Ackermann, 2009).

O processo inflamatório pode ser dividido em inflamação aguda, com uma menor duração que pode variar de horas a poucos dias, ou crônica com uma maior duração podendo durar de semanas a meses podendo ocorrer por falha na inflamação aguda em eliminar o estímulo causador, por ocorrência de episódios repetidos de inflamação aguda ou em resposta a característica do agente causador (Ackermann, 2009).

Com uma função importante em diluir, isolar e eliminar a causa da lesão, a inflamação também pode ser prejudicial quando esta se torna excessiva e/ou prolongada, agravando a

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

severidade do processo. Assim, com a compreensão do processo, fármacos anti-inflamatórios como corticosteróides, ácido acetilsalicílico e anti-inflamatório não esteroidais foram desenvolvidos para modulação da cascata inflamatória e redução da severidade da resposta inflamatória (Ackermann, 2009).

A terapia dermatológica tópica com anti-inflamatórios esteroidais, há anos vem sendo utilizada, mostrando-se eficaz e segura. Indicada para qualquer tipo de dermatite alérgica é uma opção para direcionar uma alta concentração local do princípio ativo, sem que geralmente ocorra efeito colateral. Esta terapia quando utilizada por longos períodos, em lesões extensas ou crônicas podem levar a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Outros efeitos indesejáveis que podem ocorrer com esta terapia, esta a alopecia, atrofia cutânea (epidérmica e dérmica), telangiectasias, púrpuras, equimoses, erupções acneicas, comedogênese, hipertricose, predisposição a infecções e dermatite de contato (Larsson & Larsson, 2011).

Classificados quanto a sua potência, do grupo I ao grupo IV, sendo que: o grupo I apresenta potência extrema e o grupo IV menor potência, as indicações dos corticóides tópicos de maior potência geralmente são em áreas restritas e por um curto intervalo de tempo a fim de evitar possíveis efeitos colaterais (Larsson & Larsson, 2011).

Apesar de maior segurança no uso tópico de glicocorticóide em um curto período, um estudo realizado com Gottschalk(2011), demonstrou que o uso de dexametasona em cães nas doses terapêuticas durante 21 dias foi capaz de suprimir o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e levar a alterações nos parâmetros, que apesar de reversível com a suspensão do fármaco deve ser levada em consideração na escolha e na duração da terapêutica aplicada.

OBJETIVO

Avaliar a ação anti-inflamatória aguda e melhora dos sinais clínicos, do produto Neodexa Spray®, administrado pela via tópica, em cães submetidos a processos inflamatórios experimentais.

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

MATERIAL E MÉTODOS

Local de realização

O estudo foi realizado no Canil experimental do Centro de Tecnologia Animal - CTA, localizado no distrito de Paraju, município de Domingos Martins – ES.

Animais

Foram utilizados 20 cães adultos de diferentes raças, machos e fêmeas, com peso entre 6,0 e 30,0 kg, e em perfeitas condições de sanidade.

Os animais foram mantidos em baias numeradas, identificados através de microchip, e acompanhados de uma ficha clínica individual. As fichas individuais continham as seguintes informações:

- Número do registro;
- Sexo;
- Idade;
- Peso;
- Resultados de cada avaliação clínica realizada durante o estudo;
- Campo destinado a anotações diversas.

Critérios de inclusão

Foi considerado como critério de inclusão no experimento animais apresentando bom estado de saúde.

Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os animais que apresentassem as seguintes características:

- Debilitados;
- Fêmeas prenhes ou em fase de amamentação;

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

- Animais que estejam fazendo outro tratamento medicamentoso concomitante;
- Os animais que não apresentem infecções sistêmicas que causem imunossupressão, outras dermatopatias não bacterianas, doenças crônicas, histórico recente (tempo inferior a 20 dias) de corticoterapia ou antibioticoterapia e já terem sido tratados com o mesmo princípio ativo do fármaco ou apresentarem doença auto-imunes, virais ou neoplasia;
- Cão que apresente exames laboratoriais no dia -7 fora dos limites de referência.

7.5. Instalação experimental

Os animais foram alojados individualmente em baias no canil experimental do Centro de Tecnologia Animal. As baias são divididas em dois ambientes (interno e solário), o ambiente interno mede 1,35 x 1,30 m, e o solário 1,35 x 2,50 m, possuem piso de cimento e estrado de plástico, comedouro e bebedouro disponíveis.

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições de ambiente e manejo durante todo o período do estudo, com luz natural e temperatura de conforto para a espécie.

Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em dois grupos (Controle e Medicado), dez repetições e um animal por repetição, totalizando 20 cães. Cada cão foi considerado a unidade experimental.

A distribuição dos animais nas repetições foi feita de tal forma que o peso médio entre os grupos foram semelhantes, considerando uma variação de + ou - 5% (**Tabela 1**).

Tabela 1. Identificação e peso dos animais de acordo com o grupo

Grupo	Identificação dos animais, nº	Sexo	Peso, kg
Medicado	7180	Fêmea	6,550
	9310	Fêmea	9,100
	7521	Fêmea	11,750
	3163	Fêmea	26,950
	5228	Macho	10,500
	6860	Macho	16,200
	7909	Macho	26,000
	5886	Macho	16,850
	3206	Macho	14,350

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

	87	Fêmea	18,150
	6365	Fêmea	7,200
	3431	Fêmea	11,400
	6367	Fêmea	14,500
	6435	Fêmea	12,850
Controle	1498	Macho	13,700
	3347	Macho	15,650
	7790	Macho	14,400
	3283	Fêmea	18,500
	3067	Macho	18,350
	4549	Macho	24,450

Administração do medicamento

O produto foi administrado topicamente na pele, no local da inflamação (inoculação com carragenina), imediatamente após a inoculação dos animais.

A área tratada foi demarcada e tricotomizada, sendo aplicado um jato para cada 6,5 cm² de área, sobre a área acometida, com uma margem de segurança de pelo menos 3 cm da borda da lesão intradérmica.

O tratamento com o produto a base de dexametasona, no grupo Medicado, foi realizado duas vezes ao dia (a cada 12 horas), durante 3 (três) dias consecutivos.

Alimentação e manejo

Os cães foram alimentados com uma ração comercial extrusada, durante todo o período do estudo (**Quadro 1**). A ração foi oferecida de acordo com a necessidade nutricional de cada animal, e a água foi oferecida à vontade.

Quadro 1. Garantia comercial da ração fornecida aos animais

RAÇÃO MANO PREMIUN	
NÍVEIS DE GARANTIA	
Cálcio (Max.)	2,500 %
Extrato Etéreo (Min.)	8,000 %
Fósforo (Min.)	1,000 %
Matéria fibrosa (Max.)	5,000 %
Matéria mineral (Max.)	10,000 %

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

Proteína Bruta (Min.)	22,000 %
Umidade (Max.)	12,000 %

Dados da fabricante da ração:

NUTRIAVE ALIMENTOS LTDA

CAIXA POSTAL 050049 VIANA - ES

CEP: 29135-970

Telefax: (27) 3255-9999

www.nutriave.com.br

Parâmetros avaliados

As avaliações foram realizadas através de exames dermatológicos com verificação dos seguintes sinais clínicos: edema, calor (temperatura local) e proteínas de inflamação aguda (Proteína c-Reativa canina e Fibrinogênio).

Para realização da lesão intradérmica, foi injetado na derme, na região da escápula dos 20 cães, 0,2 mL de uma solução salina estéril contendo carragenina purificada 3% (Carragenina λ Sigma – Aldrich; Lote: 001408463; Validade: 16/08/2014), com o propósito de induzir a resposta inflamatória local e possibilitar a resposta inflamatória dos animais.

7.9.1. Resposta à lesão intradérmica

- **Lesão intradérmica:** Após a aplicação da solução de carragenina, as pápulas formadas foram medidas com o auxílio de um cutímetro. Foram realizadas três medidas em cada um dos momentos: **0 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 24 horas (dia +1), dia + 2, dia +3 e dia +4** após a aplicação da carragenina.
- **Temperatura local (calor):** Durante a realização da avaliação clínica da resposta inflamatória, foi aferida a temperatura cutânea com auxílio de um termômetro digital infra-vermelho (**Figura 7**) nos tempos: **0 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 24 horas (dia +1), dia + 2, dia +3 e dia +4** após a aplicação da carragenina.

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

Avaliação de proteínas inflamatórias

Para avaliação da resposta sanguínea, foram coletadas amostras de sangue dos animais para dosagem das proteínas inflamatórias, proteína C-reativa e fibrinogênio.

- **Proteína C-Reativa Canina:** A proteína C-reativa é uma proteína cuja concentração sérica aumenta nos processos inflamatórios, sendo portanto utilizada como marcador de fase aguda da inflamação. Foi avaliada nos tempos: *0 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas (dia +1), dia + 2, +3 e +4.*
- **Fibrinogênio:** a análise do fibrinogênio é um dado importante a ser requisitado, esta proteína sintetizada pelo fígado tende a se elevar frente a um processo inflamatório de curso agudo (EK, 1974). Estudos têm demonstrado que essa proteína também é relevante em cães com patologias que cursem com processo inflamatório agudo, sendo observada elevação plasmática de fibrinogênio. Aliado a esses dados estudos comprovam a elevação do fibrinogênio plasmático em cães previamente à outras alterações detectáveis no leucograma, como leucocitose, parâmetro este normalmente associado à patologias inflamatórias (VECINA et al, 2006). Foi avaliada nos tempos: *0 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas (dia +1), dia + 2, +3 e +4.*

Cronograma do estudo

Com base no delineamento experimental e procedimentos realizados no estudo estabeleceu-se um cronograma de atividades, conforme **Quadro 2**.

Quadro 2. Cronograma de atividades do estudo

DIA	DATA	ATIVIDADE DESENVOLVIDA
0 (zero)	08/07/13	Pesagem dos animais; Randomização e constituição dos grupos (Controle e Medicado) conforme Tabela 1; Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio); Aplicação da solução 3% de carragenina, intradérmico; Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local) logo após a aplicação da carragenina.
4 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local)

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

6 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local); Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio)
8 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local)
10 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local)
12 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local) Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio)
14 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local)
16 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local) Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio)
18 horas	08/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local)
24 horas	09/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local); Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio).
Dia +2 (48 horas)	10/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local); Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio).
Dia +3 (72 horas)	11/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local); Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio)
Dia +4 (96 horas)	12/07/13	Avaliação clínica (Edema intradérmico; Temperatura local); Coleta de amostra de sangue (análise de proteína C-reativa e fibrinogênio).

Análise estatística

Para a análise intergrupo (Controle x Medicado) sobre os resultados das variáveis edema intradérmico, temperatura local, proteína C-reativa e fibrinogênio nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste de média t-Student (teste *t*), para dados não pareados.

Para as análises estatísticas, a diferença foi considerada significativa quando o valor de *p* foi menor do que 5% ($p < 0,05$).

O procedimento estatístico foi realizado utilizando o programa estatístico SAEG, versão 9.1, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (2007).

Os dados brutos das análises estatísticas estão apresentados no **ANEXO IV**.

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

RESULTADOSE DISCUSSÃO

De acordo com a **Tabela 2**, é possível constatar que não houve diferença ($p>0,05$) para o valor de Proteína C-Reativa dos animais do grupo Controle em comparação ao grupo Medicado, uma vez que os valores de Proteína C-Reativa se mantiveram muito semelhantes durante todo o decorrer do estudo.

Já durante a análise pelo teste de Dunnett (**Tabela 2**), não houve diferença ($p<0,05$) nos tempos 6 horas, 12 horas, Dia +2, Dia +3 e Dia +4. Este fato demonstra que durante as primeiras 12 horas após a aplicação da solução de carragenina o uso da medicação foi capaz de manter os níveis de Proteína C-Reativa semelhantes aos encontrados no início do estudo, antes de ser realizada a inflamação experimental.

Tabela 2. Aplicação do teste de média na variável proteína C-reativa em função dos grupos e tempos¹

Grupo	Valor médio /Tempo de avaliação							
	T0	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas	Dia +2	Dia +3	Dia +4
Controle	5,34	7,59	4,76	15,24	15,69	5,16	4,14	6,24
Medicado	6,55^a	8,07^a	4,59^a	16,79^b	16,18^b	6,53^a	5,60^a	5,85^a
Valor de p	0,5305	0,7472	0,9072	0,5612	0,7973	0,1698	0,1069	0,1857

¹Aplicação do teste *t*. O efeito significativo é considerado quando o valor de *p* é menor do que 5% ($p<0,05$). Aplicação do teste Dunnett sobre o grupo Medicado, médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação aos valores de fibrinogênio (**Tabela 3**), observa-se que não houve diferença em nenhum dos tempos avaliados durante o decorrer do estudo. Em contra partida, durante a análise pelo teste de Dunnett foi possível observar que durante as primeiras 6 horas após a indução da inflamação experimental os uso da medicação foi capaz de manter os níveis de fibrinogênio semelhantes aqueles encontrados no tempo 0 (zero).

Tabela 3. Aplicação do teste de média nas variável fibrinogênio em função dos grupos e tempos¹

Grupo	Valor médio /Tempo de avaliação
-------	---------------------------------

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

	T0	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas	Dia +2	Dia +3	Dia +4
Controle	200	290	220	380	420	420	360	280
Medicado	160 ^a	200 ^a	280 ^b	400 ^b	420 ^b	340 ^b	360 ^b	290 ^b
Valor de p	0,3306	0,0781	0,1346	0,6733	1,0000	0,1069	1,0000	0,8655

¹Aplicação do teste *t*. O efeito significativo é considerado quando o valor de *p* é menor do que 5% ($p < 0,05$). Aplicação do teste Dunnett sobre o grupo Medicado, médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

A partir da **Tabela 4**, é possível constatar que houve diferença ($p > 0,05$), entre os valores de medida do volume de edema intradérmico dos grupos, em todos os tempos, exceto o Dia +4. Em todos os tempos, pode-se observar que o volume de edema intradérmico dos animais do grupo Medicado foi menor em relação ao grupo Controle.

Ainda se constata que o volume de edema apresentado pelos animais do grupo Controle foi no mínimo 4 vezes superior em comparação ao grupo Medicado, demonstrando que o uso da medicação reduz a inflamação cutânea.

Tabela 4. Aplicação do teste de média nas variável edema intradérmico em função dos grupos e tempos¹

Grupo	Valor médio /Tempo de avaliação												
	T0	4 horas	6 horas	8 horas	10 horas	12 horas	14 horas	16 horas	18 horas	24 horas	Dia +2	Dia +3	Dia +4
Controle	5,74	1,53	1,57	1,65	1,80	1,82	2,03	2,43	2,65	2,14	2,82	4,18	4,91
Medicado	5,60 ^a	0,34 ^b	0,34 ^b	0,24 ^b	0,44 ^b	0,45 ^b	0,57 ^b	0,67 ^b	0,73 ^b	0,58 ^b	1,66 ^b	2,59 ^b	3,19 ^b
Valor de p	0,7396	0,0106	0,0161	0,0025	0,0006	0,0008	0,0002	0,0003	0,0008	0,0004	0,0389	0,0075	0,0551

¹Aplicação do teste *t*. O efeito significativo é considerado quando o valor de *p* é menor do que 5% ($p < 0,05$). Aplicação do teste Dunnett sobre o grupo Medicado, médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Aplicação do teste de média nas variável temperatura local em função dos grupos e tempos¹

Grupo	Valor médio /Tempo de avaliação
-------	---------------------------------

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

	T0	4 hor as	6 hor as	8 hor as	10 hora s	12 hora s	14 hora s	16 hora s	18 hora s	24 hora s	Dia +2	Dia +3	Dia +4
Control e	31, 25	33,2 4	33,5 0	32,3 5	32,02	32,62	31,00	31,59	31,76	32,96	32, 07	32, 97	32, 76
Medica do	31, 17 ^a	33,6 3 ^b	33,7 8 ^b	33,9 0 ^b	32,30 b	32,49 b	31,32 b	31,96 b	30,65 b	32,46 b	32, 56 ^b	32, 06 ^b	32, 23 ^b
Valor de p	0,8 857	0,46 12	0,46 70	0,04 29	0,610 8	0,819 7	0,679 7	0,585 3	0,113 0	0,342 9	0,5 744	0,2 349	0,3 102

¹Aplicação do teste *t*. O efeito significativo é considerado quando o valor de *p* é menor do que 5% ($p < 0,05$). Aplicação do teste Dunnett sobre o grupo Medicado, médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

Durante a avaliação estatística dos valores de temperatura local (**Tabela 5**), observa-se que houve diferença ($p=0,0429$) no tempo de avaliação 8 horas, enquanto que nos demais tempos não foi observada diferença ($p > 0,05$). Ainda na **Tabela 5**, constata-se que o de temperatura local no tempo de avaliação 8 horas foi superior nos animais do grupo Medicado em relação ao grupo Controle. No entanto, este fato não demonstra relevância clínica, pois nos demais tempos avaliados não houve diferença, além disso, durante a análise da **Tabela 4** foi possível observar que no mesmo tempo de avaliação o volume de edema encontrado nos animais do grupo Controle foi 6,87 vezes maior em comparação ao grupo Medicado, demonstrando que mesmo não reduzindo a temperatura, o uso da medicação foi capaz de controlar a inflamação.

CONCLUSÃO

A administração do produto Neodexa Spray®, à base de Neomicina e Dexametasona, foi capaz de promover uma melhora nos sinais clínicos de inflamação, uma vez que os animais medicados apresentaram menor volume de edema intradérmico durante todo o decorrer do estudo.

Guias de referência

- Guideline for the conduct of efficacy studies for non-steroidal anti-inflammatory drugs. EMEA/CVPM /237/ 01-FINAL.

“Avaliação da eficácia anti-inflamatória do produto Neodexa Spray® a base de Neomicina e Dexametasona, em cães (*Canis lupus familiares*) submetidos à inflamação experimental e tratados com o spray tópico durante 3 (três) dias consecutivos.”

- EMEA Directive 81/852/EEC, EPA Guideline OPPTS 870.7200 e FDA Guideline 33.
- Guidance for industry, Good Clinical Practice, Vich GL9; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, May 9, 2001.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R.; **Inflamação aguda**. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F.; **Bases da Patologia em Veterinária**. 4ªed., cap.3, Rio de Janeiro : Elsevier, 2009.

GOTTSCHALK, J. et al.; Influence of topical dexamethasone applications on insulin, glucose, thyroid hormone and cortisol levels in dogs.**Research in Veterinary Science** 90ELSEVIER ,2011, pag 491–497.

LARSSON, C.E. & LARSSON J, C.E.; **Farmacologia Dermatológica**.In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M.; **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, Ed 5ª, Cap. 56, GUANABARA KOOGAN – Rio de Janeiro, 2011.

LUCAS, R.; Semiologia da pele. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico**. 2. Ed., cap. 12, São Paulo: Roca, 2008.

EK, N.**The quantitative determination of fibrinogen in normal bovine plasma and in cow with inflammatory conditions**. Acta VeterinariaScandinavicaSupplementum, Denmark, v.13, p.174-184, 1972.

VECINA, J. F.; PATRÍCIO, R. F.; PAULO CÉSAR CIARLINI, P. C. **Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães**. Ciência Veterinária dos Trópicos, Recife-PE, v. 9, n. 1, p. 31 –35, 2006.

QUIMIPLAN ANÁLISES E CONSULTORIA LTDA –
Av. Francisco Assunção Carvalho, 170-Santa Inês-Vila Velha/ES
Tel.: (27) 3229-1013 Fax:(27) 3229 1013

Arçari, Anderson Tozi; Loureiro, Karina De Carli; Kill, João Luís; Haese, Douglas; Puppo, Débora Del; Sant'Anna, Dawster.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a inocuidade, em cães, do produto Neodexa Spray[®], à base de neomicina e acetato de dexametasona, quando administrado por via tópica, duas vezes ao dia, aplicando uma fina camada do produto na área a ser tratada, durante nove dias consecutivos. Foram utilizados 16 cães, machos e fêmeas na mesma proporção, diagnosticados ao início do estudo como clinicamente saudáveis por um médico veterinário, através de inspeção geral do estado de saúde e exames hematológicos e bioquímicos realizados antes do início do estudo. Os animais foram distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, em dois grupos (grupos Controle e Medicado) com 8 animais cada. Foram coletadas amostras de sangue para a realização dos exames de eritrograma (eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, hemoglobina corpuscular média), leucograma (contagem total e diferencial de leucócitos), contagem de plaquetas e análises bioquímicas para avaliação da função renal (ureia e creatinina), função hepática (fosfatase alcalina, proteína total, albumina, globulina, alanina transaminase e aspartato transaminase) e realizados exames clínicos (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal) em intervalos pré-definidos, e ainda, avaliada diariamente a ocorrência de qualquer sintomatologia fora da normalidade, com intuito de determinar a segurança da utilização do produto em estudo. Durante o período de avaliação não houve nenhum sinal de toxicidade e, ou, efeitos adversos referentes à administração do produto aos animais do grupo Medicado. Os resultados obtidos a partir das avaliações clínicas não indicaram alterações provenientes da utilização do produto. Os resultados laboratoriais, comparados com os valores de referência adotados, e avaliados por meio de análises estatísticas, indicaram um aumento das enzimas Fosfatase alcalina e Alanina transaminase e aumento do número de leucócitos e neutrófilos, além de diminuição do número de linfócitos, após a utilização do produto em estudo.

Data de realização do estudo

- Data do início do estudo: 27/11/2013
- Data do encerramento do estudo: 19/12/2013

Dados do produto

- Nome do produto: Neodexa Spray[®]
- Substância ativa: Neomicina (sulfato), Dexametasona (acetato)
- Via de administração: Tópica
- Composição:
- Cada 100 mL contém:
 - Neomicina base.....320mg
 - Acetato de Dexametasona.....100 mg
 - Veículo q.s.p.100 ml

INTRODUÇÃO

A pele como uma das principais queixas na rotina das clínicas e hospitais veterinários, é o maior órgão de um organismo funcionando como uma barreira anatômica e fisiológica que protege o organismo das injúrias do meio ambiente, sejam elas física, químicas ou biológicas; além de refletir algumas alterações internas do organismo (Lucas, 2008).

Quando lesada, a pele desencadeia um processo inflamatório onde modificações fluídicas e celulares ocorrem no tecido vascularizado resultando em sinais clinicamente detectáveis de rubor, calor, dor, aumento de volume e perda da função, a fim de reparar o tecido lesado (Ackermann, 2009).

Com uma função importante em diluir, isolar e eliminar a causa da lesão, a inflamação também pode ser prejudicial quando esta se torna excessiva e/ou prolongada, agravando a severidade do processo. Assim, com a compreensão do processo, fármacos anti-inflamatórios como corticosteróides, ácido acetilsalicílico e anti-inflamatório não esteroidais foram desenvolvidos para modulação da cascata inflamatória e redução da severidade da resposta inflamatória (Ackermann, 2009).

A terapia dermatológica tópica com anti-inflamatórios esteroidais, há anos vem sendo utilizada, mostrando-se eficaz e segura. Indicada para qualquer tipo de dermatite alérgica é uma opção para direcionar uma alta concentração local do princípio ativo, sem que geralmente ocorra efeito colateral. Esta terapia quando utilizada por longos períodos, em lesões extensas ou crônicas podem levar a supressão do eixo hipotálamo- hipófise-adrenal. Outros efeitos indesejáveis que podem ocorrer com esta terapia, esta a alopecia, atrofia cutânea (epidérmica e dérmica), telangiectasias, púrpuras, equimoses, erupções acneicas, comedogênese, hipertricose, predisposição a infecções e dermatite de contato (Larsson & Larsson J.;2011).

A neomicina é um antibiótico pertencente à classe dos aminoglicosídeos, que são importantes para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas, entretanto sua utilização é limitada devido ao alto potencial de toxicidade e resíduos em produtos de origem animal. Os aminoglicosídeos são antibióticos bactericidas que interferem na síntese protéica ligando-se à subunidade 30S do ribossomo (Spinosa et al, 2011).

Todos os aminoglicosídeos causam, em maior ou menor grau, nefrotoxicidade e ototoxicidade. A toxicidade da neomicina é grande, fazendo com que seu uso seja limitado a infecções entéricas (uma vez que não é absorvida), ou uso local, inclusive administração intramamária (Spinosa et al, 2011).

OBJETIVOS

O presente estudo teve como intuito determinar a segurança clínica (inocuidade), através da avaliação de reações adversas e alterações de parâmetros clínicos e hematológicos para o produto Neodexa Spray® a base de neomicina e acetato de dexametasona, administrado pela via tópica em cães.

JUSTIFICATIVA

Atendimento à solicitação da empresa fabricante, e atendendo as exigências regulatórias do MAPA.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

O estudo foi realizado no Canil experimental do Centro de Tecnologia Animal Ltda. - CTA, localizado no distrito de Paraju, município de Domingos Martins – ES.

Animais

Foram utilizados 16 cães (machos e fêmeas), com peso homogêneo, e em perfeitas condições de sanidade.

Os animais foram mantidos em baias numeradas, e identificados através de microchip (**ANEXO II**). As fichas individuais continham as seguintes informações:

- Número do registro;
- Sexo;
- Idade;
- Peso;
- Resultados de cada avaliação clínica realizada durante o estudo;
- Campo destinado a anotações diversas.

Critérios de inclusão

- Animais considerados em bom estado de saúde atestado por um médico veterinário e confirmados clinicamente saudáveis, por exames clínicos e laboratoriais realizados no dia -7.
- Cães com idade superior a 18 meses.

Critérios de exclusão

- Debilitados;
- Fêmeas prenhes ou em fase de amamentação;
- Animais que estejam fazendo tratamento concomitante com outro medicamento;
- Os animais não poderão apresentar infecções sistêmicas que causem imunossupressão, outras dermatopatias não bacterianas, doenças crônicas, histórico recente (tempo inferior a 20 dias) de tratamentos com anti-inflamatórios ou antibióticos ou apresentarem doenças auto-imunes, virais ou neoplasia;
- Animais que apresentaram exames laboratoriais no dia -7 que caracterizam doença, devendo ser substituídos por outros em condições adequadas.

Instalação experimental

Os animais foram alojados individualmente em baias no canil experimental do CTA, onde as baias são divididas em dois ambientes (interno e solário), o ambiente interno mede 1,35 x 1,30 m, e o solário 1,35 x 2,50 m, possuem piso de cimento e estrado de plástico, comedouro e bebedouro disponíveis.

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições de ambiente e manejo durante todo o período do estudo, com luz natural e temperatura de conforto para a espécie.

Os animais que participaram do estudo não entraram em contato físico com animais não incluídos no estudo.

Alimentação

Todos os animais foram alimentados diariamente com ração balanceada (**Tabela 1**) e tiveram acesso *ad libitum* à água proveniente de poço artesiano, fornecida em bebedouro de alumínio, durante todo o estudo.

O estoque de ração foi armazenado sobre estrado vazado em ambiente seco e arejado para evitar umidade e contato com vetores.

Tabela 1. Níveis de garantia da ração

Cálcio (Max)	2,5 %
Extrato Etéreo (Min.)	8,0 %
Fósforo (Min.)	1,0 %
Matéria fibrosa (Max.)	5,0 %
Matéria mineral (Max.)	10,0 %
Proteína bruta (Min.)	22,0 %
Umidade (Max.)	12,0 %

Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em dois grupos (grupo Controle e Medicado), onde cada grupo foi composto por oito animais. Cada cão foi considerado uma unidade experimental (U.E.).

A distribuição dos animais nos grupos foi feita de tal forma que o peso médio entre os grupos foi semelhante, considerando uma variação de + ou – 5% (**Tabela 2**).

Cada U.E foi pesada nos dias **-7, 0 (zero), +8 e +15**. As informações referentes foram registradas na ficha clínica de cada animal.

Tabela2. Identificação e peso das unidades experimentais de acordo com o grupo

Grupo	Identificação	Sexo	Peso da unidade experimental, kg			
			Dia -7	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Controle	1100	Fêmea	15,050	14,900	15,050	14,900
	1791	Fêmea	11,600	11,500	11,550	11,700
	3206	Macho	14,950	14,900	15,200	14,950
	6448	Fêmea	14,900	14,750	15,300	15,400
	7613	Fêmea	15,050	15,050	15,550	15,750
	8521	Macho	10,400	10,700	10,550	10,650
	8816	Macho	17,000	16,000	13,700	19,050
	9403	Macho	11,950	11,950	11,800	12,300
Média do grupo			13,863 ± 2,26	13,719 ± 2,00	13,588 ± 2,00	14,338 ± 2,69
Medicado	593	Fêmea	14,500	14,550	15,050	14,500
	999	Macho	27,000	26,350	25,450	26,200
	1033	Macho	11,950	11,700	11,200	12,100
	1073	Macho	13,900	13,600	13,650	13,100
	2405	Fêmea	7,450	7,400	7,750	7,650
	3342	Macho	16,800	16,750	14,850	14,650
	5638	Fêmea	8,100	8,100	8,000	7,650
7523	Fêmea	8,850	10,300	10,250	9,800	
Média do grupo			13,569 ± 6,37	13,594 ± 6,05	13,275 ± 5,68	13,026 ± 5,94

Os animais, de ambos os grupos, foram monitorados duas vezes ao dia (manhã e tarde), com relação as informações referentes a:

- Alimentação;
- Água;
- Comportamento dos animais;
- Aparecimento de reações adversas;

As informações referentes a cada animal foram registradas na ficha clínica individual (**ANEXO II**).

Administração do produto

O produto teste foi administrado aos animais do grupo Medicado, pela via tópica, duas vezes ao dia, aplicando um jato do produto a cada 6,5 cm² de área a ser tratada, durante nove dias consecutivos (**Figura 4**). A dose administrada nos animais foi de um jato de Neodexa Spray® a cada 6,5 cm² de área a ser tratada, totalizando 23 jatos no local de tratamento. A administração ocorreu sempre às 7:30 e, 19:30, ± 30 minutos.

Os animais do grupo Controle não receberam nenhum tipo de medicação durante todo o período do estudo, apenas passaram pelo mesmo processo de tricotomia aplicado nos animais do grupo Controle.

A área tratada foi delimitada através de tricotomia na dimensão de 150 cm² (10 cm x 15 cm), objetivando maior contato do produto com a pele, sendo retirado todo o pelo da área delimitada.

Mascaramento do estudo

Após a randomização dos dados e distribuição dos animais nos grupos, não foi revelado ao responsável pela avaliação dos animais a identificação dos grupos Medicado e Controle. O mascaramento seguiu até a avaliação estatística dos dados, após a qual foi revelada a identidade dos grupos.

Parâmetros avaliados

Exames clínicos dos animais

O monitoramento foi diário e as avaliações clínicas ocorreram no dia -7, 0 (zero), +8 e +15.

Os exames clínicos avaliados foram:

- Frequência cardíaca, realizada a partir da contagem do número de batimentos cardíacos, no tempo de um minuto, com auxílio de estetoscópio;
- Frequência respiratória, realizada a partir da contagem do número de movimentos abdominais realizados pelo animal, no tempo de um minuto;
- Temperatura retal (°C), aferida a através de termômetro digital;
- Sintomas de intoxicação;
- Exame dermatológico;
- Verificação de diarreia;
- Verificação de reações adversas.

Os resultados das avaliações clínicas encontram-se no **ANEXO II**.

Exames laboratoriais

Foram coletadas amostras de sangue para realização dos exames hematológicos e bioquímicos de cada animal, através da punção da veia jugular ou cefálica, utilizando seringas de 5,0 mL, agulhas 25,0 x 7,0 mm descartáveis, e tubos estéreis com e sem anticoagulante (EDTA).

Os exames laboratoriais avaliados nos dias -7, 0 (zero), +8 e +15, foram:

- Hematológicos: hemácias; hemoglobina; hematócrito; volume corpuscular médio (VCM); hemoglobina corpuscular média (HCM); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), leucócitos; bastonetes; segmentados; eosinófilos; basófilos; linfócitos; monócitos e plaquetas.
- Bioquímicos: ureia; creatinina; fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); proteína; albumina; globulina, alanina transaminase (ALT).

Todas as amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório clínico CDV– Centro de Diagnóstico Veterinário, e analisadas no mesmo dia em que foram coletadas.

Os resultados dos exames de sangue (hemograma, leucograma e bioquímico) encontram-se no ANEXO III.

Cronograma

O estudo seguiu criteriosamente o cronograma descrito no **Quadro 1**.

Quadro 1. Cronograma do estudo

DIA	DATA	ATIVIDADE A SER DESENVOLVIDA
- 7	27/11/2013	<ul style="list-style-type: none">○ Anamnese, exames físicos, laboratoriais e coproparasitológico em todos os animais;○ Pesagem dos animais;○ Randomização e constituição dos grupos conforme Tabela 3;
0	04/12/2013	<ul style="list-style-type: none">○ Exames físicos e laboratoriais em todos os animais;○ Pesagem dos animais;○ Início do tratamento (GRUPO MEDICADO) com Neodexa Spray®
+1 ao +7	05/12/2013 a 11/12/2013	<ul style="list-style-type: none">○ Tratamento com Neodexa Spray®;○ Exame dermatológico;
+8	12/12/2013	<ul style="list-style-type: none">○ Último dia do tratamento (GRUPO MEDICADO) com Neodexa Spray®○ Exames físicos e laboratoriais em todos os animais;○ Pesagem dos animais;
+15	19/12/2013	<ul style="list-style-type: none">○ Exames físicos e laboratoriais em todos os animais;○ Pesagem dos animais;

ESTATÍSTICA

A primeira etapa do cálculo consistiu em verificar se a distribuição dos dados seguiu uma distribuição Gaussiana (normal ou paramétrica) ou não Gaussiana (não normal ou não paramétrica). Para tal, o teste de normalidade de Lilliefors foi aplicado, com nível de significância definido em 5% ($p < 0,05$).

Para atender os pressupostos da análise paramétrica os dados foram transformados de acordo com os resultados do teste de distribuição. Sendo que, para dados que não apresentaram distribuição normal foi aplicada a transformação logarítmica à base 10 de $x + 1$. Já para os valores em porcentagem aplicou-se uma transformação em arco seno da raiz quadrada de $x/100$.

Para a análise intergrupo (Controle x Medicado) nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste de média t-Student (teste t), para dados não pareados. A análise de diferenças estatísticas dentro do grupo Medicado foi realizada pelo teste de média Dunnett.

Na análise intergrupo e dentro do grupo, a diferença foi considerada significativa quando o valor de p foi menor do que 5% ($p < 0,05$).

Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa SAEG, versão 9.1, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (2007).

Os dados brutos da análise estatística estão apresentados no **ANEXO IV** deste relatório.

RESULTADOS

Fase biológica

Avaliação Clínica

Com relação ao quadro clínico, não foi verificada a ocorrência de diarreia e, ou, vômito, nos animais que receberam a medicação, ou qualquer outra sintomatologia fora da normalidade.

Não foram observadas alterações nos animais por parte da equipe de investigadores antes, durante e após a administração do medicamento, de forma que não houve alteração aparente do apetite, ingestão de água ou alteração da excreta dos animais.

Ao exame dermatológico, realizado diariamente durante a aplicação do produto (Dia 0 ao dia +8) e no dia +15 não foram verificadas pápulas, pústulas, vesículas, bolhas, nem foram verificadas alterações na pigmentação da pele ou outras lesões de pele local de aplicação do Neodexa Spray®.

Com base nas observações realizadas, durante todo o período de avaliação não foi observado nenhum efeito adverso nos animais do grupo Medicado. Da mesma forma, nenhum animal veio à óbito durante o decorrer do estudo.

Estatística descritiva das funções fisiológicas dos animais dos grupos Controle e Medicado em função dos tempos avaliados

Os valores médios das funções fisiológicas em função dos grupos (Controle e Medicado) e dos períodos avaliados encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3. Valores médios das funções fisiológicas dos animais (grupos Controle e Medicado) em função dos tempos

Avaliação clínica				
Grupo	Tempo (dia)	Frequência cardíaca (bpm)	Frequência respiratória (mpm)	Temperatura retal (°C)
Controle	Dia -7	103,00	36,50	38,70
	Dia +0	97,00	45,00	38,54
	Dia +8	114,00	38,50	38,06
	Dia +15	115,00	40,50	38,29
Média		107,25	40,13	38,40
Medicado	Dia -7	110,50	35,00	38,19
	Dia +0	91,50	42,25	38,36
	Dia +8	86,50	30,50	37,11
	Dia +15	101,00	35,50	38,01
Média		97,38	35,81	37,92

Aplicação de teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para os valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal

Os resultados das avaliações clínicas foram analisados estatisticamente comparando-se os grupos Controle e Medicado nos tempos 0 (zero), +8 e +15 após o início da medicação. Os resultados estatísticos são demonstrados na **Tabela 4**.

Tabela 4. Aplicação do teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para as funções fisiológicas dos animais¹

Variáveis	Valor de <i>p</i>		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Frequência cardíaca	0,5211	0,0025	0,0817
Frequência respiratória	0,7495	0,0120	0,3721
Temperatura retal	0,3177	0,2169	0,2436

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Verificação de diferença estatística dentro do grupo Medicado em função dos tempos de avaliação, pelo teste de Dunnett, para os parâmetros fisiológicos

Os resultados foram comparados pelo teste de Dunnett e a detecção de diferenças significativas entre as médias levou em consideração o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A aplicação do teste de Dunnett se dá para a verificação de diferença estatística entre os valores observados no grupo Medicado em função do tempo de avaliação, de maneira a observar se os resultados se mantiveram semelhantes, ou não, durante o decorrer do estudo.

As médias aritméticas dos diferentes tempos de avaliações das funções fisiológicas (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal) e a comparação das médias dentro do grupo Medicado são apresentadas na **Tabela 5**.

Tabela 5. Aplicação do teste de média no grupo Medicado para as funções fisiológicas dos animais nos diferentes tempos¹

Avaliação clínica			
Tempo (dia)	Frequência cardíaca (bpm)	Frequência respiratória (mpm)	Temperatura retal (°C)
Dia +0	91,50	42,25	38,36
Dia +8	86,50	30,50	37,11
Dia +15	101,00	35,50	38,01
CV²	16,744	7,761	3,225

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coefficiente de Variação.

As interpretações dos resultados das funções fisiológicas foram realizadas por meio das análises estatísticas (análise intergrupo e dentro do grupo Medicado) e, também, pela comparação com os respectivos valores de referência (**Quadro 2**).

Quadro 2. Valores de referênciade parâmetros fisiológicos de cães

PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	VALORES DE REFERÊNCIA
Batimentos cardíacos/minuto(bpm)	60 - 160
Frequência respiratória/minuto (mpm)	18 - 36
Temperatura retal (°C)	37,5 -39,2

¹FEITOSA, 2004.

Fase analítica

Avaliação hematológica (Hemograma e bioquímico)

Estatística descritiva das variáveis analisadas dos grupos (Controle e Medicado) em função do período de avaliação

Os valores médios das análises sanguíneas coletadas nos dias -7, 0 (zero), +8 e +15 estão apresentados nas **Tabelas 6, 7 e 8**.

Tabela 6. Valores médios das variáveis do eritrograma dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

ERITROGRAMA							
Grupo	Tempo (dia)	Hemácias (milhões/ μ L)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
Controle	Dia -7	7,44	17,09	50,34	67,69	33,96	22,99
	Dia +0	7,18	16,41	48,73	67,85	33,68	22,85
	Dia +8	7,07	16,74	48,30	68,32	34,65	23,67
	Dia +15	7,80	18,29	53,71	68,84	34,06	23,44
Média		7,37	17,13	50,27	68,18	34,09	23,24
Medicado	Dia -7	6,88	15,96	46,95	68,23	34,00	23,20
	Dia +0	6,70	15,39	45,65	68,15	33,73	22,98
	Dia +8	6,39	14,98	43,79	68,54	34,19	23,44
	Dia +15	6,73	15,79	46,11	68,56	34,22	23,47
Média		6,68	15,53	45,63	68,37	34,03	23,27

Tabela 7. Valores médios das variáveis do leucograma dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

LEUCOGRAMA									
Grupo	Tempo (dia)	Leu (μ L)	Neut (μ L)	Lin (μ L)	Mon (μ L)	Eos (μ L)	Bast (μ L)	Basóf (μ L)	Plaq (μ L)
Controle	Dia -7	13975	10580	2031	373	963	29	0	278750
	Dia +0	14100	8387	2989	1277	1345	102	0	283000
	Dia +8	13950	8083	2854	952	2035	27	0	277375
	Dia +15	13025	7550	2407	1278	1689	101	0	294875
Média		13763	8650	2570	970	1508	64	0	283500
Medicado	Dia -7	13113	9746	2222	257	887	0	0	265250
	Dia +0	11438	6529	2227	1250	1404	27	0	268250
	Dia +8	22538	18195	742	3270	100	231	0	262625
	Dia +15	11563	8541	1311	1333	125	253	0	247125
Média		14663	10753	1625	1527	629	128	0	260813

Leu – leucócitos; Neut - neutrófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Plaq - plaquetas.

Tabela 8. Valores médios das variáveis do bioquímico dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

BIOQUÍMICO									
Grupo	Tempo (dia)	FA (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	UR (mg/gL)	CREAT (mg/dL)	ALB (g/dL)	GLOB (g/dL)	PROT (g/dL)
Controle	Dia -7	42,25	43,50	42,13	51,88	1,03	3,61	3,78	7,39
	Dia +0	40,25	50,63	40,50	59,25	1,00	3,46	3,55	7,01
	Dia +8	32,75	72,38	41,63	67,50	0,92	3,35	3,90	7,25
	Dia +15	36,63	62,25	47,25	45,50	0,72	3,82	3,89	7,71
Média		37,97	57,19	42,88	56,03	0,92	3,56	3,78	7,34
Medicad o	Dia -7	34,13	56,38	43,63	47,88	0,91	3,51	3,69	7,19
	Dia +0	30,38	55,88	46,25	56,25	0,97	3,41	3,59	7,00
	Dia +8	286,50	206,75	46,38	51,63	0,63	3,42	3,41	6,83
	Dia +15	379,00	325,75	64,25	48,75	0,65	3,71	3,75	7,46
Média		182,50	161,19	50,13	51,13	0,79	3,51	3,61	7,12

Fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); alanina transaminase (ALT), ureia (UR); creatinina (CREAT); albumina (ALB); globulina (GLOB); proteína (PROT).

Aplicação de teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para os valores hematológicos dos animais

Os resultados laboratoriais (eritrograma, leucograma e bioquímico) foram analisados estatisticamente, através do teste *t*, comparando-se o grupo Controle com o grupo Medicado dentro dos tempos avaliados. Os resultados estatísticos são demonstrados nas **Tabelas 9, 10 e 11**.

Tabela 9. Aplicação do teste de média nas variáveis do eritrograma dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de <i>p</i>		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Hemácias	0,0403	0,0021	0,0002
Hemoglobina	0,0591	0,0024	0,0006
Hematócrito	0,0614	0,0025	0,0003
VCM	0,7346	0,7695	0,7108
CHCM	0,8074	0,1137	0,5433
HCM	0,6882	0,5337	0,9763

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 10. Aplicação do teste de média nas variáveis do leucograma dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de <i>p</i>		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Leucócitos	0,2533	0,0043	0,4475
Neutrófilos	0,2409	0,0007	0,3560
Linfócitos	0,3748	0,0000	0,0067
Monócitos	0,9188	0,0000	0,9103
Eosinófilos	0,9086	0,0000	0,0002
Bastonetes	0,5079	0,2366	0,5164
Basófilos	-	-	-
Plaquetas	0,5253	0,6365	0,1120

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 11. Aplicação do teste de média nas variáveis do bioquímico dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de <i>p</i>		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Fosfatase alcalina	0,2170	0,0000	0,0008
Alanina transaminase	0,3510	0,0065	0,0002
Aspartato Aminotransferase	0,2682	0,4943	0,0097
Ureia	0,6327	0,0012	0,1276
Creatinina	0,7629	0,0027	0,3488
Albumina	0,7263	0,5283	0,3248
Globulina	0,8955	0,0240	0,5880
Proteína	0,9634	0,0714	0,3125

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Aplicação de teste de média dentro do grupo Medicado em função dos tempos de avaliação para os valores hematológicos dos animais

A aplicação do teste de Dunnett se dá para a verificação de diferença estatística entre os valores observados no grupo Medicado em função do tempo de avaliação, de maneira a observar se os resultados se mantiveram semelhantes, ou não, durante o decorrer do estudo.

Os resultados laboratoriais (eritrograma, leucograma e bioquímico) foram analisados estatisticamente, através do teste de Dunnett, comparando-se os tempos de avaliação dentro do grupo Medicado. Os resultados estatísticos são demonstrados nas **Tabelas 12, 13 e 14.**

Tabela 12. Aplicação do teste de média nas variáveis do eritrograma dos animais em função dos tempos¹

ERITROGRAMA						
Tempo (dia)	Hemácias (milhões/ μ L)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
Dia +0	6,70	15,39	45,65	68,15	33,73	22,98
Dia +8	6,39	14,98	43,79	68,54	34,19	23,44
Dia +15	6,73	15,79	46,11	68,56	34,22	23,47
CV²	6,394	6,817	3,977	2,883	1,619	3,756

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coeficiente de Variação.

Tabela 13. Aplicação do teste de média nas variáveis do leucograma dos animais em função dos tempos¹

LEUCOGRAMA								
Tempo (dia)	Leu (/ μ L)	Neut (/ μ L)	Lin (/ μ L)	Mon (/ μ L)	Eos (/ μ L)	Bast (/ μ L)	Basóf (/ μ L)	Plaq (/ μ L)
Dia +0	11438 ^a	6529 ^a	2227 ^a	1250 ^a	1404 ^a	27	0	268250
Dia +8	22538 ^b	18195 ^b	742 ^b	3270 ^b	100 ^b	231	0	262625
Dia +15	11563 ^a	8541 ^a	1311 ^b	1333 ^a	125 ^b	253	0	247125
CV²	29,101	3,531	6,496	39,120	68,074	107,947	-	24,539

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coeficiente de Variação; Leu – leucócitos; Hete - heterófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Plaq - Plaquetas.

Tabela 14. Aplicação do teste de média nas variáveis do bioquímico dos animais em função dos tempos¹

BIOQUÍMICO								
Tempo (dia)	FA (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	UR (mg/gL)	CREAT (mg/dL)	ALB (g/dL)	GLOB (g/dL)	PROT (g/dL)
Dia +0	30,38 ^a	55,88 ^a	46,25 ^a	56,25	0,97 ^a	3,41 ^a	3,59	7,00
Dia +8	286,50 ^b	206,75 ^b	46,38 ^a	51,63	0,63 ^b	3,42 ^a	3,41	6,83
Dia +15	379,00 ^b	325,75 ^b	64,25 ^b	48,75	0,65 ^b	3,71 ^b	3,75	7,46
CV²	14,598	12,030	6,020	18,799	23,795	5,321	12,088	7,305

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coeficiente de Variação; Fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); alanina transaminase (ALT), ureia (UR); creatinina (CREAT); albumina (ALB); globulina (GLOB); proteína (PROT).

As interpretações dos resultados hematológicos foram realizadas por meio das análises estatísticas (análise intergrupo e dentro do grupo Medicado) e, também, pela comparação com os respectivos valores de referência (**Quadros 3 e 4**).

Quadro 3. Valores de referência para cães

ERITROGRAMA ¹	
PARÂMETROS	REFERÊNCIA
Hemácias	5,5-8,5 x10 ⁶ / µL
Hemoglobina	12-18 g/dL
Hematócrito	37-55 %
VCM	60-77 fL
HCM ²	19,5-24,5pg
CHCM	32- 36g/dL
LEUCOGRAMA ¹	
Leucócitos	6000 –17000/µL
Neutrófilos	3000 –11500/µL
Eosinófilos	100 – 1250/µL
Basófilos	Raros
Bastonetes	0 – 300 /µL
Linfócitos	1000 –4800/µL
Monócitos	150 – 1350/µL
Plaquetas	20 - 50 x10 ³ /µL

¹WEISS & WARDROP (2010);²JAIN(1993).

Quadro 4. Valores de referência para cães

BIOQUÍMICO	
PARÂMETROS	REFERÊNCIA
Fosfatase alcalina	20 - 156 U/L
Alanina transaminase	21 - 102 U/L
Aspartato transaminase	23 - 66 U/L
Proteína total ²	5,39–8,37 g/dL
Globulina ²	2,52 – 5,38 g/dL
Albumina ²	1,77–3,85 g/dL
Creatinina	0,5 – 1,5mg/dL

¹KANEKO, et al. (2008); ²GONZÁLES et al. (2001).

DISCUSSÃO

Diariamente, a equipe investigadora, realizou a inspeção dos animais e não foram registrados eventos adversos, dessa forma, não houve alterações nos animais pertencentes ao Grupo Medicado que poderiam ser associadas ao uso do produto em estudo.

No que diz respeito a análise estatística dos valores médios das variáveis da avaliação clínica dos cães (**Tabela 4**), foi verificada diferença entre os grupos para FC ($p=0,0025$) e FR ($p=0,0120$) no tempo de avaliação +8, no entanto, a partir da análise intragrupo (**Tabela 5**), não houve diferença ($p>0,05$).

Valores normais de frequência cardíaca de cães hígdidos podem variar de 60 a 160 batimentos por minuto (Feitosa, 2004). Observando a **Tabela 3**, constata-se que os valores médios apresentados pelos

animais durante o período experimental mantiveram-se normais para a espécie. Assim, a diferença observada entre os grupos, não expressa importância clínica.

Já em relação aos valores médios de FR descritos na **Tabela 3**, constata-se que o valor médio apresentado pelos animais de ambos os grupos no tempo de avaliação D +0 e, grupo Controle D +8, mantiveram-se discretamente acima da faixa de referência, que varia de 18 a 36 (FEITOSA, 2004). É comum que a frequência respiratória dos animais eleve-se discretamente durante a avaliação clínica, devido ao estado fisiológico de excitação que ocorre devido à mudança de rotina (Reece, 2006).

Sendo assim, a diferença observada não expressa relevância clínica, pois ocorreu devido ao valor superior apresentado pelos animais do grupo Controle no tempo +8 em comparação ao grupo Medicado.

Além disso, durante todo o decorrer do estudo não foram observadas alterações clínicas nos animais por parte da equipe investigadora.

Segundo Feitosa (2004), a temperatura retal de cães pode variar de 37,5 a 39,2 °C. De acordo com os dados apresentados na **Tabela 3**, constata-se que os valores se encontram dentro da normalidade para a espécie, garantindo assim a inocuidade do produto.

Em relação às variáveis do eritrograma (**Tabela 9**), houve diferença para hemácias nos tempos de avaliação D 0 (zero) ($p=0,0403$), D +8 ($p=0,0021$) e, D +15 ($p=0,0002$); para hemoglobina nos tempos D +8 ($p=0,0024$) e D +15 ($p=0,0006$); e para hematócrito nos tempos D +8 ($p=0,0025$) e D +15 ($p=0,0003$), entre os animais do grupo Controle e Medicado. Já durante a avaliação intragrupo (**Tabela 12**), não houve diferença ($p>0,05$) para nenhuma das variáveis avaliadas.

Observando os valores médios das variáveis do eritrograma (**Tabela 6**), pode-se constatar que durante todo o decorrer do estudo os animais do grupo Controle apresentaram valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito discretamente superiores em comparação aos animais do grupo Medicado. No entanto, segundo WEISS & WARDROP (2010), valores normais para cães hípidos variam entre 5,5 a 8,5 $\times 10^6$ hemácias/ μL , 12 a 18 g/dL de hemoglobina, e 37 a 55% de hematócrito. Assim, constata-se que durante todo o decorrer do estudo, em ambos os grupos, nenhuma das variáveis se manteve fora do intervalo de referência para a espécie. Dessa forma, a conclui-se que a diferença observada entre os grupos não está relacionada ao uso do produto sob investigação, descrevendo apenas uma particularidade dos animais utilizados no estudo.

O mesmo se aplica às variáveis VCM, HCM e CHCM, as quais permaneceram dentro dos valores de normalidade para a espécie durante todo o período experimental.

Além disso, durante a avaliação laboratorial não foram observadas alterações no volume ou forma dos eritrócitos (anisocitose) que caracterizasse anemia, ou qualquer estado patológico. Com isso, assegura-se a inocuidade do produto sobre as variáveis do eritrograma.

Durante a análise das variáveis leucócitos e neutrófilos, pelo teste *t* (**Tabela 10**), houve diferença para leucócitos ($p=0,0043$) e para neutrófilos ($p=0,0007$) no tempo de avaliação +8. E de forma semelhante, durante a avaliação pelo teste de Dunnett (**Tabela 13**), houve diferença para leucócitos e neutrófilos no D +8.

Observando os valores médios descritos na **Tabela 7**, pode-se constatar que no tempo de avaliação +8 os valores de leucócitos e neutrófilos mantiveram-se discretamente acima da faixa de referência descrita por WEISS & WARDROP (2010), que varia de 6.000 a 17.000 leucócitos/ μL , e 3.000 a 11.500 neutrófilos/ μL .

Sabe-se que o uso de anti-inflamatórios esteroidais influenciam eventos celulares e vasculares, sendo comum que ocorra diminuição da migração de neutrófilos para o local da “lesão”, bem como, o aumento na produção de neutrófilos pela medula óssea, de maneira que a soma destes fatores resulta em leucocitose por neutrofilia (JERICÓ & MARCO, 2006). Dessa forma, os resultados obtidos no grupo Medicado no tempo de avaliação D +8, condizem com os esperados em animais medicados com anti-inflamatórios glicocorticoides, como a dexametasona.

O mesmo pode-se dizer em relação a diferença observada para os valores de monócitos dos cães do grupo Medicado nos tempos de avaliação D +8 e D+15 em comparação ao grupo Controle, e no tempo D +8 a partir da avaliação intragrupo. Pois segundo Jericó & Marco (2006), o uso de fármacos glicocorticoides interfere na apresentação de antígenos aos macrófagos fagocitários, aumentando sua concentração no compartimento circulante, gerando monocitose.

No que diz respeito a diferença observada para o valor médio de linfócitos no tempo de avaliação D +8 e D +15 entre os grupos, constata-se que esta ocorreu devido aos valores inferiores apresentados pelos animais do grupo Medicado em comparação ao grupo Controle.

De acordo com Jericó & Marco (2006), o uso de fármacos glicocorticoides podem levar à linfopenia, devido à redistribuição dos linfócitos do compartimento circulante para os órgãos linfóides. Assim, o valor abaixo da faixa de normalidade obtido no tempo D +8, e o valor discretamente inferior encontrado no tempo D +15, podem ocorrer em animais que são medicados com glicocorticoides.

Em relação aos valores de eosinófilos, ao teste *t* foi observada diferença nos tempos de avaliação D +8 e D +15, e de forma semelhante, durante a avaliação pelo teste de Dunnett houve diferença nos tempos D +8 e D +15.

Segundo Weiss & Wardrop (2010), valores normais de eosinófilos para cães hígdos podem variar de 100 a 1.250 cél/ μ L. Observando os valores médios descritos na **Tabela 7**, os valores médios obtidos no grupo Controle no D 0 ao D+15, e D 0 no grupo Medicado, mantiveram-se fora do intervalo de referência. De acordo com Stockham & Scott (2011), eosinofilia discreta é por vezes observada em mamíferos sadios, não estando relacionada a parasitose ou outro distúrbio, pois muitos animais que cursam com infecções parasitárias não apresentam eosinofilia. Assim, estes achados são irrelevantes clinicamente, uma vez que não foram acompanhados de demais alterações. Além disso, assegura-se que este achado não está relacionado ao uso do produto sob investigação, uma vez que no grupo Medicado este fato foi transitório, onde nos demais tempos os valores se mantiveram dentro da normalidade.

A variável basófila não foi avaliada estatisticamente, pois os valores obtidos a partir das análises foram zero, o que não permite o uso do programa. Porém, os valores nulos estão dentro do intervalo de referência, o que indica ausência de interferência negativa da administração do produto em estudo neste parâmetro. O mesmo se aplica aos valores de bastonetes, que se encontram dentro da faixa de normalidade.

Em relação aos valores de plaquetas, constatam-se todos os valores se mantiveram dentro da faixa de normalidade específica para a espécie (200.000 a 500.000 plaquetas/ μ L).

Durante a comparação dos valores médios de FA e ALT entre os grupos (Controle *vs* Medicado) (**Tabela 11**), constatou-se que houve diferença nos tempo de avaliação D +8 e D +15. De forma semelhante, durante a análise intragrupo (**Tabela 14**) foi observada diferença nos tempos de avaliação D +8 e D +15.

Segundo Kaneko et al. (2008), valores normais de FA e ALT para cães podem variar de 20 a 156 U/L, e 23 a 66 U/L, respectivamente. De acordo com os valores médios, constata-se que apenas no grupo Medicado nos tempos D +8 e D +15, os valores das variáveis se mantiveram acima da faixa de normalidade. Stockham & Scott (2011), ressaltam que aumentos nos níveis séricos de FA podem ocorrer induzidos pelo uso de corticosteroides, devido aumento da síntese das isoenzimas L-FA e C- FA, podendo os valores de FA variar entre maior do que 2 vezes o limite superior de referência (LSR) e menor que 20 vezes o LSR. De forma semelhante, aumentos nos níveis séricos da enzima ALT podem ser observados em cães devido a hepatopatia induzida por corticosteroides, sendo que este aumento pode variar de discreto a moderado, ou seja, menor do que 7 vezes o LSR.

Os valores de FA e ALT encontrados no estudo estão, aproximadamente, 2 e 5 vezes, respectivamente, superior aos limites de referência. Portanto, dentro do esperado para pacientes que utilizam glicocorticoides.

No que diz respeito a diferença observada para a variável AST no tempo de avaliação D +15 a partir das análises intergrupo (Controle *V/S* Medicado) e intragrupo, constata-se a partir da **Tabela 8** que esta ocorreu devido aos valores médios discretamente superiores apresentados pelo grupo Medicado em comparação ao grupo Controle, no entanto, este fato não demonstra relevância clínica, pois os valores médios se mantiveram dentro da normalidade durante todo o período experimental.

Sobre as variáveis ureia, creatinina e globulina (**Tabela 11**) no tempo de avaliação D +8, observa-se que a diferença encontrada apenas ocorreu devido ao valor discretamente superior apresentado pelo grupo Controle. Mesmo apresentado diferença, pode-se observar que durante todo o estudo os valores médios de ambos os grupos mantiveram-se dentro da faixa de referência para a espécie. O mesmo se aplica a diferença observada a partir do teste intragrupo para creatinina nos tempos D +8 e D +15, e para albumina no tempo D +15.

Segundo Jericó & Marco (2006), o uso de fármacos glicocorticoides pela via tópica é muito útil quando há necessidade de se obter altas concentrações em uma área restrita. Porém, como esses fármacos tem a característica de serem permeáveis à barreira cutânea, podem levar à supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, e dessa forma ocasionar o aparecimento de efeitos adversos quando utilizados cronicamente e em áreas muito extensas. Estes autores ainda citam que o uso de uma pomada otológica à base de dexametasona, a cada 12 horas durante um período de 10 dias, causa supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que pode persistir por até 14 dias após o uso da medicação.

Diante do exposto, é possível verificar que a utilização do produto Neodexa Spray[®] em estudo, ocasionou alterações detectáveis ao hemograma, que já eram esperadas para o fármaco em estudo.

CONCLUSÃO

Foi verificado que com a utilização do produto Neodexa Spray[®] quando administrado por via tópica, duas vezes ao dia durante 9 dias consecutivos, período este 28,5% superior ao máximo preconizado, evidentemente superior ao máximo preconizado em bula (7 dias), que ao término do estudo, não foram evidenciados por parte da equipe investigadora, sintomas clínicos, físicos e comportamentais que comprometessem a integridade dos animais, fora os eventos comuns e típicos que são gerados por anti-inflamatórios esteroidais. Além disso, também não foram constatados efeitos nefrotóxicos e gastrointestinais nos animais pertencentes ao estudo

Guias de referência

Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products.

EMA/CVMP/VICH/393388/2006

Guidance for industry, Good Clinical Practice, Vich GL9; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, May 9, 2001

REFERÊNCIAS

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. Roca, São Paulo: 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CARVALHO, V.; MÖLLER, V.A.; DUARTE, F.R. Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**. 29(1):1-6, 2001.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, Lea &Febiger, 1993.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6thed, Elsevier, 2008.

REECCE, W. O. **Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12^a ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006.

JERICÓ, M. M. & MARCO, V. **Anti-inflamatórios esteroidais**. In: REECCE, W. O. **Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12^a ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 261-271, 2006.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2^a ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2011.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6th ed., Backwell, 2010.

Laboratório responsável e executor do estudo: Quimiplan Análises e Consultoria Ltda.
Av. Francisco Assunção Carvalho, 170 Santa Inês - Vila Velha/ES

Centro de Tecnologia Animal - Estrada Paraju x Ponto Alto, Km 2, s/n.
Paraju – Domingos Martins/ES

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Arçari, Anderson Tozi; Loureiro, Karina De Carli; Kill, João Luís; Haese, Douglas; Puppo, Débora Del; Sant’Anna, Dawster.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a inocuidade, em gatos, do produto à base de neomicina e acetato de dexametasona, quando administrado por via tópica, duas vezes ao dia, aplicando 15 jatos do produto na área a ser tratada, durante nove dias consecutivos. Foram utilizados 16 gatos, machos e fêmeas na mesma proporção, diagnosticados ao início do estudo como clinicamente saudáveis por um médico veterinário, através de inspeção geral do estado de saúde e exames hematológicos e bioquímicos realizados antes do início do estudo. Os animais foram distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, em dois grupos (grupos Controle e Medicado) com 8 animais cada. Foram coletadas amostras de sangue para a realização dos exames de eritrograma (eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, hemoglobina corpuscular média), leucograma (contagem total e diferencial de leucócitos), contagem de plaquetas e análises bioquímicas para avaliação da função renal (ureia nitrogenada e creatinina), função hepática (fosfatase alcalina, proteína total, albumina, globulina, alanina transaminase e aspartato transaminase) e realizados exames clínicos (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal) em intervalos pré-definidos, e ainda avaliado diariamente a ocorrência de qualquer sintomatologia fora da normalidade, com intuito de determinar a segurança da utilização do produto em estudo. Durante o período de avaliação não houve nenhum sinal de toxicidade e, ou, efeitos adversos referentes à administração do produto aos animais do grupo Medicado. Os resultados obtidos das análises clínicas e laboratoriais, comparados com os valores de referência adotados e avaliados por meio de análises estatísticas, asseguram que o produto Neodexa Spray®, é seguro para gatos quando administrado conforme as recomendações de bula.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

INFORMAÇÕES GERAIS

Título do estudo

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Número do estudo

Participantes

Data de realização do estudo

- Data do início do estudo: 03/06/2014
- Data do encerramento do estudo: 25/06/2014

4.5. Guias de referência

- Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products. EMEA/CVMP/VICH/393388/2006
- Guidance for industry, Good Clinical Practice, Vich GL9; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, May 9, 2001.

Bem estar animal

O projeto foi protocolado junto a Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa em Animais da Quimiplan Análises e Consultoria Ltda.

A declaração desta comissão consta no **ANEXO I** do presente relatório.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Dados do produto

- Nome do produto: Neodexa Spray®
- Substância ativa: Neomicina (base) e Acetato de Dexametasona
- Dose: 15 jatos no local de tratamento, duas vezes ao dia
- Via de administração: Tópica
- Composição:

Cada 100 mL contém:

Neomicina base.....	320 mg
Acetato de Dexametasona.....	100 mg
Veículo q.s.p.	100 mL

INTRODUÇÃO

A pele como uma das principais queixas na rotina das clínicas e hospitais veterinários, é o maior órgão de um organismo funcionando como uma barreira anatômica e fisiológica que protege o organismo das injúrias do meio ambiente, sejam elas física, químicas ou biológicas; além de refletir algumas alterações internas do organismo (Lucas, 2008).

Quando lesada, a pele desencadeia um processo inflamatório onde modificações fluídicas e celulares ocorrem no tecido vascularizado resultando em sinais clinicamente detectáveis de rubor, calor, dor, aumento de volume e perda da função, a fim de reparar o tecido lesado (Ackermann, 2009).

Com uma função importante em diluir, isolar e eliminar a causa da lesão, a inflamação também pode ser prejudicial quando esta se torna excessiva e/ou prolongada, agravando a severidade do processo. Assim, com a compreensão do processo, fármacos anti-inflamatórios como corticosteróides, ácido acetilsalicílico e anti-inflamatório não esteroidais foram desenvolvidos para modulação da cascata inflamatória e redução da severidade da resposta inflamatória (Ackermann, 2009).

A terapia dermatológica tópica com anti-inflamatórios esteroidais, há anos vem sendo utilizada, mostrando-se eficaz e segura. Indicada para qualquer tipo de dermatite alérgica é uma opção para direcionar uma alta concentração local do princípio ativo, sem

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

que geralmente ocorra efeito colateral. Esta terapia quando utilizada por longos períodos, em lesões extensas ou crônicas podem levar a supressão do eixo hipotálamo- hipófise-adrenal. Outros efeitos indesejáveis que podem ocorrer com esta terapia, esta a alopecia, atrofia cutânea (epidérmica e dérmica), telangiectasias, púrpuras, equimoses, erupções acneicas, comedogênese, hipertricose, predisposição a infecções e dermatite de contato (Larsson & Larsson J.;2011).

A toxicidade da neomicina é grande, fazendo com que seu uso restrinja-se à infecções entéricas (uma vez que não é absorvida), ou aplicações tópicas. Estes antibióticos não são biotransformados no organismo, ligam-se pouco às proteínas plasmáticas e são eliminados pelos rins através de filtração glomerular.

De acordo com Hazen e Brown (1981) a dose de 50 mg / kg / dia em um período de um mês não demonstrou sinais de toxicidade, enquanto que a dose de 225 mg / kg / dia pelo período de 6 meses demonstrou sinais como ataxia, tremores musculares e rigidez.

A pesquisa em questão visa avaliar a inocuidade do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, no tratamento de gatos (*Felis catus*) durante 9 dias consecutivos, bid, que corresponde ao período máximo de tratamento preconizado na bula do produto (sete dias de tratamento mais quarenta e oito horas após o desaparecimento dos sintomas).

OBJETIVOS

O presente estudo teve como finalidade avaliar a segurança (inocuidade, reações adversas, alterações de parâmetros clínicos e laboratoriais) de um produto à base Neomicina e Acetato de Dexametasona.

JUSTIFICATIVA

Atendimento à solicitação da empresa fabricante, e atendendo as exigências regulatórias do MAPA.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

O estudo foi realizado no Gatil experimental do Centro de Tecnologia Animal Ltda. - CTA, localizado no distrito de Paraju, município de Domingos Martins – ES.

Animais

Foram utilizados 16 gatos(machos e fêmeas), com peso homogêneo, e em perfeitas condições de sanidade.

Os animais foram mantidos no gatil experimental, e identificados através de microchip (ANEXO II) e os dados referentes aos animais foram registrados nas fichas clínicas, que continham as seguintes informações:

- Número do registro;
- Sexo;
- Idade;
- Peso;
- Resultados de cada avaliação clínica realizada durante o estudo;
- Campo destinado a anotações diversas.

Critérios de inclusão

- Animais com bom estado de saúde comprovados mediante hemograma completo, bioquímico (ureia, creatinina, ALT, AST, FA), albumina, globulina e coproparasitológico.
- Gatos jovens adultos com idade superior a 12 meses.
- Animais devidamente vacinados e vermifugados.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Critérios de exclusão

- Debilitados;
- Fêmeas prenhes ou em fase de amamentação;
- Animais que estejam fazendo tratamento concomitante com outro medicamento;
- Os animais não com ausência de infecções sistêmicas que causam imunossupressão, outras dermatopatias não bacterianas, doenças crônicas, histórico recente (tempo inferior a 20 dias) de tratamentos com anti-inflamatórios ou antibióticos ou que apresentaram doenças auto-imunes, virais ou neoplasia;
- Animais que apresentaram exames laboratoriais no dia -7 que caracterizam doença, devendo ser substituídos por outros em condições adequadas.

Instalação experimental

Os animais foram alojados individualmente em gaiolas de aço galvanizado, no gatil experimental do CTA. As gaiolas medem 0,48 m², possuem piso de plástico, comedouro e bebedouro disponíveis, além de caixa de areia. Os animais apenas foram mantidos em gaiolas por um período de 2 horas após a administração da medicação, enquanto que no restante do período os animais permaneciam livres na sala de estudos (**Figura 2**).

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições de ambiente e manejo durante todo o período do estudo, com temperatura de conforto para a espécie.

Os animais que participarem do estudo não entraram em contato físico com animais não incluídos no estudo.

Alimentação

Todos os animais foram alimentados diariamente com ração balanceada (**Tabela 1**) e tiveram acesso *ad libitum* à água proveniente de poço artesiano, fornecida em bebedouro de alumínio, durante todo o estudo.

O estoque de ração foi armazenado sobre estrado vazado em ambiente seco e arejado para evitar umidade e contato com vetores.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Tabela 1. Níveis de garantia da ração

Cálcio (Max)	10 g
Extrato Etéreo (Min.)	100 g
Fósforo (Min.)	8000 mg
Matéria fibrosa (Max.)	40 g
Matéria mineral (Max.)	85 g
Proteína bruta (Min.)	300 g
Umidade (Max.)	100 g

Delineamento experimental

No dia -7 foram realizados os exames clínicos e laboratoriais em 18 animais e no dia 0 (zero) foram selecionados pelo investigador 16 animais.

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em dois grupos (grupo Controle e Medicado), em que cada grupo foi composto por oito animais. Cada gato foi considerado uma unidade experimental (U.E.).

A distribuição dos animais nos grupos foi feita de tal forma que o peso médio entre os grupos foi semelhante, considerando uma variação de + ou - 5% (Tabela 2 e Figura 3).

Cada felino foi pesado nos dias -7, 0 (zero), +8 e +15. As informações referentes foram registradas na ficha clínica de cada animal.

Tabela 2. Identificação e peso das unidades experimentais de acordo com o grupo

Grupo	UE	Sexo	Peso da unidade experimental, kg			
			Dia -7	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Controle	513	Fêmea	2,800	2,842	2,830	2,680
	1267	Macho	3,480	3,476	3,510	3,560
	2068	Fêmea	3,790	3,828	3,730	3,902
	2074	Macho	4,100	4,165	4,210	4,245
	7250	Fêmea	3,200	3,230	3,256	3,208
	7252	Macho	3,050	3,110	3,166	3,156
	7255	Macho	4,500	4,660	4,725	4,875
	7258	Fêmea	3,900	3,986	4,025	3,980
Média do grupo			3,603	3,662	3,682	3,701
Medicado	3620	Fêmea	3,050	3,044	2,990	3,150

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

4229	Fêmea	2,810	2,890	2,878	2,934
4601	Macho	3,300	3,348	3,246	3,248
4991	Macho	4,270	4,265	4,206	4,235
5097	Macho	4,300	4,270	4,246	4,310
7243	Fêmea	4,100	4,255	4,200	4,205
7256	Fêmea	5,200	5,260	5,200	5,315
8363	Macho	3,200	3,182	3,072	3,150
Média do grupo		3,779	3,814	3,755	3,818

Os animais, de ambos os grupos, foram monitorados duas vezes ao dia (manhã e tarde), com relação às informações referentes a:

- Alimentação;
- Água;
- Comportamento dos animais;
- Aparecimento de reações adversas;

As informações referentes a cada animal foram registradas na ficha clínica individual (ANEXO II).

Administração do produto

O produto teste foi administrado aos animais do grupo Medicado, pela via tópica, duas vezes ao dia, aplicando um jato do produto a cada 6,5 cm² de área a ser tratada, durante nove dias consecutivos. A dose administrada nos animais foi de 15 jatos de Neodexa Spray® para cada animal. A administração ocorreu sempre às 7h30 e às 19h30.

Os animais do grupo Controle não receberam nenhum tipo de medicação durante todo o período do estudo, apenas passaram pelo mesmo processo de tricotomia aplicado nos animais do grupo Controle.

A área tratada delimitada através de tricotomia, objetivando maior contato do produto com a pele, na dimensão de 49 cm² (7 cm x 7 cm) no dorso do animal, visando menor incidência de lambedura.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Parâmetros avaliados

Exames clínicos dos animais

O monitoramento foi diário e as avaliações clínicas ocorreram no dia -7, 0 (zero), +8 e +15.

Foi realizado o exame coproparasitológico no dia -7.

Os exames clínicos avaliados foram:

- Frequência cardíaca, realizada a partir da contagem do número de batimentos cardíacos, no tempo de um minuto, com auxílio de estetoscópio;
- Frequência respiratória, realizada a partir da contagem do número de movimentos abdominais realizados pelo animal, no tempo de um minuto;
- Temperatura retal (°C), aferida a através de termômetro digital;
- Sintomas de intoxicação;
- Exame dermatológico;
- Verificação de outras reações adversas como: diarreia, vômito, anúria, poliúria, disúria.

Os resultados das avaliações clínicas encontram-se no **ANEXO II**.

Exames laboratoriais

Foram coletadas amostras de sangue para realização dos exames hematológicos e bioquímicos de cada animal, através da punção da veia jugular ou cefálica, utilizando seringas de 5,0 mL, agulhas 20,0x 5,5mm descartáveis, e tubos estéreis com e sem anticoagulante (EDTA).

Os exames laboratoriais avaliados nos dias -7, 0 (zero), +8 e +15, foram:

- Hematológicos: hemácias; hemoglobina; hematócrito; volume corpuscular médio (VCM); hemoglobina corpuscular média (HCM); concentração de hemoglo-

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

bina corpuscular média (CHCM), leucócitos; bastonetes; segmentados; eosinófilos; basófilos; linfócitos; monócitos e plaquetas.

- Bioquímicos: ureia nitrogenada; creatinina; fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); proteína; albumina; globulina, alanina transaminase (ALT).

Todas as amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório clínico CDV– Centro de Diagnóstico Veterinário, e analisadas no mesmo dia em que foram coletadas.

Os resultados dos exames de sangue (eritrograma, leucograma e bioquímico) encontram-se no **ANEXO III**.

Cronograma

O estudo seguiu criteriosamente o cronograma descrito no **Quadro 1**.

Quadro 1. Cronograma do estudo

DIA	DATA	ATIVIDADE A SER DESENVOLVIDA
- 7	03/06/14	Anamnese, exames físicos (incluindo dermatológico), laboratoriais e coproparasitológico em todos os animais; Pesagem dos animais; Randomização e constituição dos grupos conforme Tabela 1;
0	10/06/14	Exames físicos e laboratoriais em todos os animais; Pesagem dos animais; Início do tratamento (GRUPO TRATADO) com Neodexa Spray®, duas vezes ao dia, permanecendo até o dia +8
0 ao +8	10/06/14 ao 18/06/14	Exames dermatológicos.
+8	18/06/14	Último dia do tratamento (GRUPO TRATADO) com Neodexa Spray® Exames físicos e laboratoriais em todos os animais; Pesagem dos animais;
+15	25/06/14	Exames físicos (incluindo dermatológico) e laboratoriais em todos os animais; Pesagem dos animais;

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

ESTATÍSTICA

A primeira etapa do cálculo consistiu em verificar se a distribuição dos dados seguiu uma distribuição Gaussiana (normal ou paramétrica) ou não Gaussiana (não normal ou não paramétrica). Para tal, o teste de normalidade de Lilliefors foi aplicado, com nível de significância definido em 5% ($p < 0,05$).

Para atender os pressupostos da análise paramétrica os dados foram transformados de acordo com os resultados do teste de distribuição. Sendo que, para dados que não apresentaram distribuição normal foi aplicada a transformação logarítmica à base 10 de $x + 1$. Já para os valores em porcentagem aplicou-se uma transformação em arco seno da raiz quadrada de $x/100$.

Para a análise intergrupo (Controle x Medicado) nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste de média t-Student (teste t), para dados não pareados. A análise de diferenças estatísticas dentro do grupo Medicado foi realizada pelo teste de média Dunnett.

Na análise intergrupo e dentro do grupo, a diferença foi considerada significativa quando o valor de p foi menor do que 5% ($p < 0,05$).

Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa SAEG, versão 9.1, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (2007).

Os dados brutos da análise estatística estão apresentados no **ANEXO IV** deste relatório.

RESULTADOS

Fase biológica

Avaliação Clínica

Com relação ao quadro clínico, não foi verificada a ocorrência de diarreia e, ou, vômito, nos animais que receberam a medicação, ou qualquer outra sintomatologia fora da normalidade.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Não foram observadas alterações nos animais por parte da equipe de investigadores antes, durante e após a administração do medicamento, de forma que não houve alteração aparente do apetite, ingestão de água ou alteração da excreta dos animais.

Ao exame dermatológico, realizado diariamente durante a aplicação do produto (Dia 0 ao dia +8) e no dia +15 não foram verificadas pápulas, pústulas, vesículas, bolhas, nem foram verificadas alterações na pigmentação da pele ou outras lesões de pele local de aplicação do Neodexa Spray.

Com base nas observações realizadas, durante todo o período de avaliação não foi observado nenhum efeito adverso nos animais do grupo Medicado. Da mesma forma, nenhum animal veio à óbito durante o decorrer do estudo.

Estatística descritiva das funções fisiológicas dos animais dos grupos Controle e Medicado em função dos tempos avaliados

Os valores médios das funções fisiológicas em função dos grupos (Controle e Medicado) e dos períodos avaliados encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3. Valores médios das funções fisiológicas dos animais (grupos Controle e Medicado) em função dos tempos

Avaliação clínica				
Grupo	Tempo (dia)	Frequência cardíaca (bpm)	Frequência respiratória (mpm)	Temperatura retal (°C)
Controle	Dia -7	155,00	51,00	37,20
	Dia 0	153,50	54,50	37,34
	Dia +8	170,50	55,00	37,64
	Dia +15	164,50	52,00	37,70
Média		160,88	53,13	37,47
Medicado	Dia -10	168,00	57,50	37,03
	Dia 0	161,00	53,00	37,23
	Dia +8	171,50	57,50	37,55
	Dia +15	170,00	59,00	37,69
Média		167,63	56,75	37,37

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Aplicação de teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para os valores de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal

Os resultados das avaliações clínicas foram analisados estatisticamente comparando-se os grupos Controle e Medicado nos tempos 0 (zero), +8 e +15 após o início da medicação. Os resultados estatísticos são demonstrados na **Tabela 4**.

Tabela 4. Aplicação do teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para as funções fisiológicas dos animais¹

Variáveis	Valor de p		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Frequência cardíaca	0,4310	0,8936	0,5038
Frequência respiratória	0,9493	0,6959	0,0838
Temperatura retal	0,6009	0,7222	0,9638

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Verificação de diferença estatística dentro do grupo Medicado em função dos tempos de avaliação, pelo teste de Dunnett, para os parâmetros fisiológicos

Os resultados foram comparados pelo teste de Dunnett e a detecção de diferenças significativas entre as médias levou em consideração o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A aplicação do teste de Dunnett se dá para a verificação de diferença estatística entre os valores observados no grupo Medicado em função do tempo de avaliação, de maneira a observar se os resultados se mantiveram semelhantes, ou não, durante o decorrer do estudo.

As médias aritméticas dos diferentes tempos de avaliações das funções fisiológicas (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal) e a comparação das médias dentro do grupo Medicado são apresentadas na **Tabela 5**.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Tabela 5. Aplicação do teste de média no grupo Medicado para as funções fisiológicas dos animais nos diferentes tempos¹

Avaliação clínica			
Tempo (dia)	Frequência cardíaca (bpm)	Frequência respiratória (mpm)	Temperatura retal (°C)
Dia 0	161,00	53,00	37,23
Dia +8	171,50	57,50	37,55
Dia +15	170,00	59,00	37,69
CV²	11,059	4,338	1,417

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade;²Coefficiente de Variação.

As interpretações dos resultados das funções fisiológicas foram realizadas por meio das análises estatísticas (análise intergrupo e dentro do grupo Medicado) e, também, pela comparação com os respectivos valores de referência (**Quadro 2**).

Quadro 2. Valores de referência de parâmetros fisiológicos de gatos

PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	VALORES DE REFERÊNCIA
Batimentos cardíacos/minuto (bpm)	120 - 140
Frequência respiratória/minuto (mpm)	20 - 40
Temperatura retal (°C)	37,8 - 39,2

¹FEITOSA, 2004.

Fase analítica

Avaliação hematológica (Hemograma e bioquímico)

Estatística descritiva das variáveis analisadas dos grupos (Controle e Medicado) em função do período de avaliação

Os valores médios das análises sanguíneas coletadas nos dias -7,0 (zero), +8 e +15 estão apresentados nas **Tabelas 6, 7 e 8**.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Tabela 6. Valores médios das variáveis do eritrograma dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

ERITROGRAMA							
Grupo	Tempo (dia)	Hemácias (milhões/ μ L)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
Controle	Dia -10	9,86	13,85	42,18	42,93	32,82	14,09
	Dia 0	9,37	13,55	40,46	43,26	33,46	14,47
	Dia +8	8,81	12,78	38,10	43,25	33,52	14,49
	Dia +15	8,74	12,78	40,39	46,26	31,65	14,63
Média		9,19	13,24	40,28	43,92	32,86	14,42
Medicado	Dia -10	9,82	14,06	42,13	42,91	33,42	14,34
	Dia 0	9,99	14,20	42,60	42,57	33,34	14,20
	Dia +8	8,74	12,80	38,13	43,62	33,45	14,60
	Dia +15	8,59	12,49	39,05	45,63	32,04	14,62
Média		9,28	13,39	40,48	43,68	33,06	14,44

Tabela 7. Valores médios das variáveis do leucograma dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

LEUCOGRAMA									
Grupo	Tempo (dia)	Leu (μ L)	Neut(μ L)	Lin (μ L)	Mon (μ L)	Eos (μ L)	Bast(μ L)	Basóf (μ L)	Plaq (μ L)
Controle	Dia -10	22512,50	13879,75	7124,88	219,00	1288,88	0,00	0,00	177875,00
	Dia 0	21900,00	12311,38	8071,25	245,50	1245,38	26,50	0,00	210125,00
	Dia +8	20425,00	12472,88	5546,75	269,13	2136,25	0,00	0,00	162500,00
	Dia +15	20087,50	12691,63	5146,00	676,63	1573,25	0,00	0,00	127750,00
Média		21231,25	12838,91	6472,22	352,56	1560,94	6,63	0,00	169562,50
Medicado	Dia -10	23300,00	13977,00	7896,75	568,13	858,13	0,00	0,00	155500,00
	Dia 0	25412,50	16146,75	7886,88	370,25	950,00	58,63	0,00	200250,00
	Dia +8	20012,50	12785,88	5735,13	391,50	1100,00	0,00	0,00	132875,00
	Dia +15	19400,00	12690,63	5009,25	648,63	1051,50	0,00	0,00	101250,00
Média		22031,25	13900,06	6632,00	494,63	989,91	14,66	0,00	147468,75

Leu – leucócitos; Neut - neutrófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Plaq - plaquetas.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Tabela 8. Valores médios das variáveis do bioquímico dos animais em função dos tempos e grupos (Controle e Medicado)

BIOQUÍMICO									
Grupo	Tempo (dia)	FA (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	Proteína (g/dL)
Controle	Dia -10	44,88	68,13	36,63	62,75	1,05	2,58	6,11	8,68
	Dia 0	47,13	63,38	33,38	63,00	1,11	2,47	5,96	8,42
	Dia +8	44,38	52,50	38,75	53,38	1,01	2,54	6,11	8,65
	Dia +15	45,13	57,63	36,63	56,25	0,88	2,42	5,85	8,27
Média		45,38	60,41	36,34	58,84	1,01	2,50	6,01	8,51
Medicado	Dia -10	46,88	58,00	35,25	64,00	1,04	2,56	6,27	8,83
	Dia 0	54,50	51,88	30,75	61,75	1,14	2,51	6,15	8,67
	Dia +8	52,63	53,50	27,00	55,00	1,00	2,71	5,95	8,66
	Dia +15	50,00	52,13	33,38	58,13	0,92	2,50	5,99	8,48
Média		51,00	53,88	31,59	59,72	1,03	2,57	6,09	8,66

Fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); alanina transaminase (ALT), ureia (UR); creatinina (CREAT); albumina (ALB); globulina (GLOB); proteína (PROT).

Aplicação de teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para os valores hematológicos dos animais

Os resultados laboratoriais (eritrograma, leucograma e bioquímico) foram analisados estatisticamente, através do teste *t*, comparando-se o grupo Controle com o grupo Medicado dentro dos tempos avaliados. Os resultados estatísticos são demonstrados nas **Tabelas 9, 10 e 11**.

Tabela 9. Aplicação do teste de média nas variáveis do eritrograma dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de p		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Hemácias	0,2293	0,8760	0,7730
Hemoglobina	0,4259	1,0000	0,6751
Hematócrito	0,4080	0,9425	0,5718
VCM	0,5423	0,7275	0,6077
CHCM	0,7108	0,8953	0,5102
HCM	0,5067	0,8205	0,9837

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Tabela 10. Aplicação do teste de média nas variáveis do leucograma dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de p		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Leucócitos	0,1201	0,8708	0,7420
Neutrófilos	0,1046	0,8802	1,0000
Linfócitos	0,9236	0,8787	0,8623
Monócitos	0,2210	0,2386	0,8944
Eosinófilos	0,5609	0,7971	0,0467
Bastonetes	-	-	-
Basófilos	-	-	-
Plaquetas	0,7465	0,2206	0,1039

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 11. Aplicação do teste de média nas variáveis do bioquímico dos animais em função dos grupos¹

Variáveis	Valor de p		
	Dia 0	Dia +8	Dia +15
Fosfatase Alcalina	0,3542	0,2803	0,5896
Alanina transaminase	0,2252	0,8955	0,5755
Aspartato transaminase	0,6266	0,0790	0,4514
Ureia	0,8262	0,7144	0,4882
Creatinina	0,7577	0,9529	0,6813
Albumina	0,7131	0,0454	0,4211
Globulina	0,5435	0,5533	0,5894
Proteínas totais	0,4846	0,9864	0,4073

¹Aplicação do teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Aplicação de teste de média dentro do grupo Medicado em função dos tempos de avaliação para os valores hematológicos dos animais

A aplicação do teste de Dunnett se dá para a verificação de diferença estatística entre os valores observados no grupo Medicado em função do tempo de avaliação, de maneira a observar se os resultados se mantiveram semelhantes, ou não, durante o decorrer do estudo.

Os resultados laboratoriais (eritrograma, Leucograma e bioquímico) foram analisados estatisticamente, através do teste de Dunnett, comparando-se os tempos de avaliação

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

dentro do grupo Medicado. Os resultados estatísticos são demonstrados nas **Tabelas 12, 13 e 14.**

Tabela 12. Aplicação do teste de média nas variáveis do eritrograma dos animais em função dos tempos¹

ERITROGRAMA						
Tempo (dia)	Hemácias (milhões/μL)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
Dia 0	9,99^a	14,20	42,60	42,57	33,34	14,20
Dia +8	8,74^b	12,80	38,13	43,62	33,45	14,60
Dia +15	8,59^b	12,49	39,05	45,63	32,04	14,62
CV²	8,403	3,904	6,132	6,363	3,650	7,726

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coeficiente de Variação.

Tabela 13. Aplicação do teste de média nas variáveis do leucograma dos animais em função dos tempos¹

LEUCOGRAMA								
Tempo (dia)	Leu (μL)	Neut (μL)	Lin (μL)	Mon (μL)	Eos (μL)	Bast (μL)	Basóf (μL)	Plaq (μL)
Dia 0	25412,50^a	16146,75	7886,88	370,25	950,00	58,63	0,00	200250,00^a
Dia +8	20012,50^b	12785,88	5735,13	391,50	1100,00	0,00	0,00	132875,00^b
Dia +15	19400,00^b	12690,63	5009,25	648,63	1051,5 0	0,00	0,00	101250,00^b
CV²	19,318	2,692	50,196	22,701	30,702	-	-	30,424

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coeficiente de Variação; Leu – leucócitos; Hete - heterófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Plaq - Plaquetas.

Tabela 14. Aplicação do teste de média nas variáveis do bioquímico dos animais em função dos tempos¹

BIOQUÍMICO								
Tempo (dia)	FA (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	Proteína (g/dL)
Dia 0	54,50	51,88	30,75	61,75	1,14	2,51^a	6,15	8,67
Dia +8	52,63	53,50	27,00	55,00	1,00	2,71^b	5,95	8,66
Dia +15	50,00	52,13	33,38	58,13	0,92	2,50^a	5,99	8,48
CV²	29,15 9	35,74 1	26,03 6	13,024	19,146	6,805	8,773	6,578

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

¹Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Coefficiente de Variação; Fosfatase alcalina (FA); aspartato transaminase (AST); alanina transaminase (ALT), ureia (UR); creatinina (CREAT); albumina (ALB); globulina (GLOB); proteína (PROT).

As interpretações dos resultados hematológicos foram realizadas por meio das análises estatísticas (análise intergrupo e dentro do grupo Medicado) e, também, pela comparação com os respectivos valores de referência (**Quadros 3 e 4**).

Quadro 3. Valores de referência para gatos

ERITROGRAMA¹	
VARIÁVEIS	REFERÊNCIA
Hemácias	5,0 - 10,0 x 10 ⁶ /μL
Hemoglobina	8,0 - 15,0 g/dL
Hematócrito	24 - 45 %
VCM ²	39 - 55 fL
CHCM	31 - 35 g/dL
HCM	12,5 - 17,5 pg
LEUCOGRAMA	
VARIÁVEIS	REFERÊNCIA
Leucócitos	5.500 - 19.500/μL
Neutrófilos	2.500 - 12.500/μL
Linfócitos	1.500 - 7.000/μL
Monócitos	0 - 850/μL
Eosinófilos	0 - 1.500/μL
Bastões	0 - 300/μL
Basófilos	Raros
Plaquetas ²	175.000 - 500.000/μl

¹WEISS & WARDROP (2010);²Lopes et. al(2007).

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Quadro 4. Valores de referência para gatos

BIOQUÍMICO	
VARIÁVEIS	REFERÊNCIA
Fosfatase alcalina (FA)	25 - 93 U/L
Aspartato Transaminase (AST)	26 - 43 U/L
Alanina Transaminase (ALT)	6 - 83 U/L
γ -glutamilttransferase (GGT)	1,3 - 5,1 U/L
Creatinafosfoquinase (CK) ²	88 - 386 U/L
Ureia	20 - 30 mg/dL
Creatinina	0,8 - 1,8 mg/dL
Albumina	2,1 - 3,3 g/dL
Globulina	2,6 - 5,1 g/dL
Proteína total	5,4 - 7,8 g/dL

¹KANEKO, et al. (2008); ²Levy et al. (2006).

DISCUSSÃO

Não foram observadas alterações comportamentais nos animais, por parte da equipe de investigadores antes, durante e após a administração do medicamento, de forma que não houve alteração aparente do apetite, ingestão de água ou alterações visíveis nas fezes ou urina dos animais.

As análises dos valores médios obtidos das avaliações clínicas dos felinos (**Tabela 2**) demonstrou que durante todo o estudo os valores de frequência cardíaca e frequência respiratória se mantiveram discretamente acima do limite superior de referência. Já os valores médios da temperatura retal se apresentaram ligeiramente menores que o limite inferior de referência (**Quadro 2**).

No entanto, segundo Reece (2006), a frequência respiratória dos animais pode variar de acordo com: tamanho corpóreo, idade, exercício, grau de excitação e ansiedade, e é comum que alguns animais apresentem frequência cardíaca mais elevada durante o momento de avaliação, devido ao estresse, à movimentação e a contenção dos animais para realizar a auscultação.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Ainda, quando se comparou os resultados dos grupos, Controle e Medicado (Teste t) e os resultados do grupo Medicado (Teste de Dunnett), não foram verificadas diferenças estatísticas para as variáveis das avaliações clínicas (**Tabelas 4 e 5**).

Assim, como não foram observadas alterações clínicas nos animais que sugerissem alteração no padrão de respiração ou arritmias cardíacas, conclui-se que o valor aumentado é apenas decorrente de um momento de excitação de alguns animais, não demonstrando assim, qualquer relevância clínica, não comprometendo a inocuidade do produto em estudo. Da mesma forma, pode-se inferir que a temperatura dos animais não caracterizou hipotermia e foi observada em ambos os grupos, portanto sem importância clínica ou ligação com a utilização do produto investigado.

Quando avaliado os resultados do eritrograma (**Tabela 6**) constata-se que todas as variáveis mantiveram-se dentro dos limites de normalidade descritas para espécie no **Quadro 4**.

No que diz respeito às análises estatísticas, observa-se que houve diferença para hemácias ao teste de Dunnett, sendo que os valores apresentados pelos animais no Dia 0 foram superiores aos valores obtidos nos dias +8 e +15 (**Tabela 9**). Entretanto, ao Teste *t* (**Tabela 12**) não foram constatadas diferenças entre os grupos, Controle e Medicado. Diante do exposto, pode-se afirmar que não ocorreu influência do produto sobre as variáveis do eritrograma.

Quanto aos valores médios do leucograma descritos na **Tabela 7**, pode-se constatar que durante todo o decorrer do estudo as variáveis, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos saíram dos limites de referência para gatos (**Quadro 3**). No entanto, apesar das variações dos valores médios, ao analisá-los pelo teste *t* (**Tabela 10**), com exceção de eosinófilos (Dia +15), nenhuma das variáveis descritas no leucograma apresentaram diferença ($p > 0,05$) quando comparados os grupos (Controle *VS* Medicado), demonstrando que, o produto em uso foi inócuo sobre esses parâmetros.

Stockham & Scott (2011) ressaltam que é comum a observação do padrão de leucograma de estresse, em alguns animais, como resposta de fuga ou luta (excitação, medo, dor, exercício, ansiedade). O leucograma de estresse é caracterizado por uma

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

leucocitose fisiológica mediada por neutrofilia, e, ou linfocitose, a qual ocorre devido a um desvio de células do compartimento marginal para o compartimento circulante, iniciado tanto por um aumento do fluxo sanguíneo quanto por uma diminuição da aderência das células ao endotélio.

Ao teste de Dunnett (**Tabela 13**), percebe-se que o número de leucócitos sofreu uma redução gradativa de acordo com os tempos de coleta, o que corrobora ao achado de estresse, já que nas primeiras avaliações é comum os animais se apresentarem mais estressados e no decorrer do estudo, estes vão se adaptando as manipulações.

Quanto à diferença observada entre os grupos para os valores de eosinófilos no Dia +15, verifica-se que ocorreu devido a um aumento observado no grupo Controle, portanto sem qualquer interação com o uso do produto, uma vez que os valores obtidos para o grupo Medicado se apresentaram normais para a espécie.

Frente a essa informação, garante-se que, tanto os valores obtidos no leucograma quanto as diferenças estatísticas observadas, não demonstram importância clínica, por descreverem apenas um estado fisiológico de estresse, possivelmente decorrente da manipulação realizada durante o estudo.

Durante a avaliação dos valores médios de plaquetas, pode-se verificar que nos dias +8 e +15 do grupo Controle e nos dias -7, +8 e +15 do grupo Medicado, estes se mantiveram reduzidos quando comparados aos valores de referência. O que ocorreu devido à agregação plaquetária observada nestes dias de avaliação. Quando realizada a análise estatística entre grupos, através do teste *t*, não foi observada diferença, dessa forma, pode-se garantir a inocuidade do produto sobre essa variável.

Em relação aos exames bioquímicos realizados, é possível verificar que, com exceção das proteínas totais e globulinas (**Tabela 8**), todos os demais perfis avaliados permaneceram dentro dos limites de referência para a espécie (**Quadro 4**).

Quanto aos valores de proteínas e globulinas, estes se apresentaram ligeiramente superiores à referência utilizada (8,18 g/dL e 5,1 g/dL, respectivamente). Entretanto, o valor mais elevado de globulina observado no estudo pode ser considerado uma particularidade dos animais, não demonstrando relevância clínica, pois este ocorreu

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

durante todo o estudo tanto nos animais que receberam o produto teste quanto naqueles que não receberam nenhum tipo de medicação. O mesmo pode ser observado para os valores de proteínas, dessa forma, este fato não expressa relevância clínica, pois o aumento na proteína foi constante e, ainda, não ocorreram diferenças estatística entre os grupos, o que permite afirmar que o produto é seguro em relação as variáveis mencionadas.

Para os valores de globulina, ocorreu diferença estatística no teste de Dunnett (Dia +8) e entre os grupos no dia +8, decorrente ao maior valor apresentado pelo grupo Medicado (2,71 g/dL) neste dia em comparação ao Controle (2,54 g/dL). No entanto, esse aumento não foi expressivo, pois permaneceu na faixa de normalidade (**Quadro 4**), portanto sem demonstrar importância clínica.

Diante do exposto, é possível verificar que a utilização do produto em estudo não ocasionou alterações detectáveis ao hemograma, leucograma e bioquímico, portanto, demonstrando-se seguro.

CONCLUSÃO

A utilização do produto Neodexa Spray® quando administrado por via tópica, durante 7 dias consecutivos, não ocasionou efeitos dermatológicos, hepatotóxicos, nefrotóxicos e gastrointestinais clinicamente e laboratorialmente detectáveis.

Dessa forma, baseando-se nos resultados obtidos no estudo, a administração do produto Neodexa Spray® apresentou-se segura para gatos quando administrado conforme recomendação de bula.

Guias de referência

- Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products. EMEA/CVMP/VICH/393388/2006
- Guidance for industry, Good Clinical Practice, Vich GL9; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, May 9, 2001.

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

13. REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R.; Inflamação aguda. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F.; Bases da Patologia em Veterinária. 4ªed., cap.3, Rio de Janeiro : Elsevier, 2009.

EMEA/MRL/218/97-FINAL. June 1997

Francisco Leydon F. Feitosa. Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico. Editora Roca, São Paulo, pag. 807, 2004.

Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products. EMEA/CVMP/VICH/393388/2006

Guidance for industry, Good Clinical Practice, Vich GL9; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, May 9, 2001.

Hazen, E.H., and Brown, R. Fungicidin, an antibiotic produced by a soil Actinomycete (18397). Proc. Soc. Exper.Biol. & Med. 76, 93-97, 1951.

LARSSON, C.E. & LARSSON J, C.E.; FarmacologiaDermatológica.In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M.; Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, Ed 5ª, Cap. 56, GUANABARA KOOGAN – Rio de Janeiro, 2011.

LUCAS, R.; Semiologia da pele. In: FEITOSA, F. L. F. Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico. 2. Ed., cap. 12, São Paulo: Roca, 2008.

Nicholas H. Booth & Leslie E. McDonald.Farmacologia e terapêutica em veterinária. Editora Guanabara Koogan S.A., 6ª edição.

PINA, E. S. “Antibióticos e quimioterápicos na clínica veterinária de pequenos animais”. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 24f. 2000.

Stephen J. Ettinger& Edward C. Feldman.Tratado de medicina interna veterinária. Editora Guanabara Koogan S.A., 5ª edição.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro “Antibióticos e Quimioterápicos na ClínicaVeterinária de Pequenos Animais” Edgard Sarmento de Pina Janeiro – 2000

Etapa analítica - Centro de Diagnóstico Veterinário - CDV

“Avaliação da segurança clínica do produto Neodexa Spray® à base de Neomicina e Acetato de Dexametasona, administrado pela via tópica em gatos (*Felis catus domesticus*) jovens adultos.”

Estudo nº 128.164/13
Relatório Final

Laboratório certificado pelo Control Lab

Rua Pedro Fonseca, 155, Ilha de Monte Belo - Vitória - ES - Brasil.

Laboratório responsável e executor do estudo: Quimiplan Análises e Consultoria Ltda.

Av. Francisco Assunção Carvalho, 170 Santa Inês - Vila Velha/ES

Centro de Tecnologia Animal - Estrada Paraju x Ponto Alto, Km 2, s/n.

Paraju – Domingos Martins/ES