

RELATÓRIO FINAL

Nº: 021.27/17

Estudo de segurança clínica

“Estudo de segurança clínica (inocuidade) do Sabonete Matacura Sarnicida e Anti-Pulgas administrado em cães adultos, pela via tópica.”

Autores: Carolina D’ávila Pozzatti (Mestre) – Médica Veterinária – Centro de Tecnologia Animal Ltda.
Enrique Coelho Brugnara (Mestrando) – Médico Veterinário – Centro de Tecnologia Animal Ltda.

Investigador: Enrique Coelho Brugnara – Médico Veterinário – Centro de Tecnologia Animal Ltda.

Pesquisadores envolvidos: Carolina D’ávila Pozzatti (Mestre) – Médica Veterinária – Centro de Tecnologia Animal Ltda.
Douglas Haese (Doutor) – Médica Veterinária – Centro de Tecnologia Animal Ltda.
Ebraim Vargas Ribett – Zootecnista – Centro de Tecnologia Animal Ltda.
Enrique Coelho Brugnara – Médico Veterinário – Centro de Tecnologia Animal Ltda.

Empresa Contratante: Agro Industrial Catarinense Ltda. - AIC

Data: Dezembro/2017

Código do estudo: 021.27/17

SUMÁRIO

1.	DECLARAÇÃO DE CUMPRIMENTO DE BPC	4
2.	PÁGINA DE ASSINATURAS	5
3.	INFORMAÇÕES GERAIS	6
3.1.	Título do estudo	6
3.2.	Número do estudo	6
3.3.	Participantes	6
3.4.	Guias de referência	7
3.5.	Bem-estar animal	7
3.6.	Dados do produto	7
4.	OBJETIVO	8
5.	JUSTIFICATIVA	8
6.	MATERIAL E MÉTODOS	8
6.1.	Local do estudo	8
6.2.	Período de realização	8
6.3.	Animais	9
6.4.	Origem e destino dos animais do estudo	10
6.5.	Critérios de inclusão	10
6.6.	Critérios de exclusão	10
6.7.	Remoção após a inclusão	10
6.8.	Tratamentos concomitantes	11
6.9.	Instalação experimental	11
6.10.	Alimentação e manejo	11
6.11.	Aclimatação	12
6.12.	Seleção	12
6.13.	Formação dos Grupos	12

6.14.	Delineamento Experimental	13
6.15.	Área de aplicação	13
6.16.	Administração do produto	13
6.17.	Parâmetros avaliados	14
6.18.	valiação do local de aplicação	16
6.19.	Análise estatística	18
6.20.	Eventos adversos	19
6.21.	Eutanásia ou Mortalidade dos Animais após o Tratamento	19
7.	CRONOGRAMA	20
8.	RESULTADOS	21
8.1.	Fase biológica	21
8.2.	Fase analítica	24
9.	DISCUSSÃO	30
10.	CONCLUSÃO	33
11.	OBRIGAÇÕES ADMINISTRATIVAS	34
11.1.	Garantia da qualidade	34
11.2.	Monitoramento	34
11.3.	Desvios do protocolo de estudo original	34
11.4.	Garantia de conformidade ao protocolo de estudo	35
11.5.	Registros dos dados	35
11.6.	Anotações e correções de erros dos dados brutos	35
11.7.	Guarda dos documentos do ensaio	36
12.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
13.	ANEXOS	37

1. DECLARAÇÃO DE CUMPRIMENTO DE BPC

Declaro que este estudo foi realizado de acordo com os princípios de Boas Práticas Clínicas (BPC). O estudo foi conduzido de acordo com o protocolo do estudo e procedimentos operacionais padrão relevantes do Centro de Pesquisa.

Enrique Coelho Brugnara
Investigador

Data

2. PÁGINA DE ASSINATURAS

**“Estudo de segurança clínica (inocuidade) do Sabonete Matacura Sarnicida
administrado em cães adultos, pela via tópica.”**

Aprovado.

Responsável pela Patrocinadora

Rubrica

Data

Eduardo Dillenburg Zanette
Responsável técnico
Agro Industrial Catarinense Ltda.

___/___/___

Responsável pelo Centro

João Luís Kill
Centro de Tecnologia Animal Ltda.

___/___/___

Investigador

Enrique Coelho Brugnara
Centro de Tecnologia Animal Ltda.

3. INFORMAÇÕES GERAIS

3.1. Título do estudo

“Estudo de segurança clínica (inocuidade) do Sabonete Matacura Sarnicida administrado em cães adultos, pela via tópica.”

3.2. Número do estudo

021.27/17

3.3. Participantes

Patrocinador: AIC-Agro Industrial Catarinense Ltda.
Rua Oiapoc, 1085 – Bairro Agostini – São Miguel – SC
– Brasil – CEP: 89900 – 000
Site: www.aicveterinaria.ind.br
Telefone: (49) 3622-0090

Representante do Patrocinador: Eduardo Dillenburg Zanette
E-mail: direcao@aicveterinaria.ind.br

Monitor do Estudo: Vantoir Feraso
E-mail: controle@aicveterinaria.ind.br

Responsável e executor do estudo: CTA – Centro de Tecnologia Animal Ltda.
Estrada Paraju x Ponto Alto, Km 2,0 – Distrito de
Paraju – Domingos Martins – ES

Investigador: CEP: 29273-000
Telefone: (27) 3249 1048
E-mail: ctapesquisas@ctapesquisas.com.br
Site: www.ctapesquisas.com.br
Enrique Coelho Brugnara
E-mail: enrique@ctapesquisas.com.br
Carolina D'ávila Pozzatti
E-mail: carolina@ctapesquisas.com.br
Douglas Haese
E-mail: douglas@ctapesquisas.com.br
Pesquisadores envolvidos: Ebraim Vargas Ribett
E-mail: braim@ctapesquisas.com.br
Enrique Coelho Brugnara
E-mail: enrique@ctapesquisas.com.br

3.4. Guias de referência

- 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.
- Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products, VICH, GL43, Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine Apr 24, 2009.

3.5. Bem-estar animal

O estudo foi conduzido conforme a Lei nº 11.794 (Lei Arouca) de 08/10/2008 que estabelece os procedimentos para uso de animais em experimentação científica, regulamentada pelo decreto nº 6.899 de 15/07/2009 que Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria- Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA.

O projeto foi protocolado junto a Comissão de Ética, Bioética e Bem-estar animal do Centro de Tecnologia Animal Ltda. (CEUA – CTA) e foi aprovado por esta comissão antes de iniciar o estudo.

3.6. Dados do produto

- Nome da formulação: Sabonete Maticura Sarnicida e Anti-pulgas
- Substâncias ativas: Benzoato de Benzila.
- Composição da formulação: 10%.
- Via de administração: Via tópica (*banho*).
- Empresa Fabricante: Agro Industrial Catarinense Ltda.
- Condições de conservação: Conservar em local seco e fresco, longe de alimentos, fora do alcance de crianças e animais domésticos.

Quadro 1. Dados do lote do produto utilizado no estudo

Partida	Apresentação	Data da Fabricação
078/17	Sabonete em barra	AGO/2017

4. OBJETIVO

Avaliar a segurança clínica do Sabonete Maticura Sarnicida (Agro Industrial Catarinense Ltda.), à base de Benzoato de Benzila, quando administrada em cães adultos por via tópica, uma vez ao dia, durante 8 dias consecutivos.

5. JUSTIFICATIVA

O estudo foi realizado para dar suporte às documentações necessárias para renovação de registro de produto junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que exige estudos que confirmem a segurança do produto em cada espécie alvo.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. Local do estudo

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

6.2. Período de realização

O estudo foi realizado no período de Setembro a Outubro de 2017.

6.3. Animais

Foram utilizados 16 cães, de diversas raças, (oito machos e oito fêmeas), em perfeitas condições de saúde, com idade acima de 12 meses e em bom estado nutricional. Cada animal foi identificado por meio de microchip, e a identificação completa (sexo, peso, idade e número de registro) foi anotada (CTA-FC-03) no dia D-7 do estudo (**Tabela 1**).

O número de animais neste protocolo foi estabelecido de acordo com a referência do VICH GL 43 - *Guidance for Industry – Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceuticals Products* (2009) que preconiza um mínimo de oito animais por grupo.

Tabela 1. Identificação dos grupos e dos animais

Grupo	U.E.	ID	Sexo	Idade (Anos)	Raça
-------	------	----	------	--------------	------

Controle	24A	841	Fêmea	3,6	Beagle
Controle	20	844	Macho	3,6	Beagle
Controle	11	1503	Macho	5,9	SRD
Controle	12A	1760	Macho	5,2	Beagle
Controle	21	3431	Fêmea	10,1	SRD
Controle	12	3713	Macho	7,2	Fox Paulistinha
Controle	10	7005	Fêmea	5,5	SRD
Controle	22	9310	Fêmea	5,9	Fox Paulistinha
Medicado	13	846	Macho	3,6	Beagle
Medicado	1	860	Fêmea	3,6	Beagle
Medicado	18	4701	Fêmea	7,1	Fox Paulistinha
Medicado	16	5886	Macho	5,8	SRD
Medicado	14	7242	Fêmea	3,8	Beagle
Medicado	17	7247	Macho	3,8	Beagle
Medicado	15	7257	Fêmea	3,8	Beagle
Medicado	19	7790	Macho	5,2	Beagle

U.E.=Unidade Experimental; ID=Identificação do Animal.

6.4. Origem e destino dos animais do estudo

Os animais utilizados neste estudo são de propriedade do CTA e após o término do estudo todos os animais permaneceram nas instalações do CTA.

6.5. Critérios de inclusão

- Espécie: *Canis lupus familiaris*;
- Raças: Diversas raças;
- Idade: acima de 12 meses;
- Sexo: fêmeas e machos;

- Animais vacinados e vermifugados conforme rotina do centro de pesquisa;
- Animais considerados em bom estado nutricional e de saúde atestado por médico veterinário e confirmados clinicamente saudáveis, a critério do investigador, através de avaliação clínica associada aos exames de hemograma e bioquímico realizados no dia D-7.

6.6. Critérios de exclusão

- Os animais seriam excluídos caso apresentassem qualquer sinal clínico ou laboratorial de doença ou não estivessem em boas condições gerais, a critério do investigador;
- Animais que estivessem recebendo outro tratamento medicamentoso concomitante;
- Animais com problemas comportamentais que influenciassem no manejo do estudo.

6.7. Remoção após a inclusão

No decorrer do estudo, os animais poderiam ser retirados caso:

- Apresentassem alterações sistêmicas indicativas de doença;
- Evento adverso relacionado ou não ao produto teste que impossibilitasse a continuidade do animal no estudo após o tratamento;
- Animais que fossem tratados com medicamentos que interferisse na avaliação do produto investigado devido a qualquer intercorrência relacionado ou não com o produto teste.

Animais retirados do estudo seriam acompanhados para observação da sintomatologia apresentada até a resolução do evento.

Todavia, nenhum animal foi excluído após a randomização.

6.8. Tratamentos concomitantes

Não estavam previstos tratamentos concomitantes nos animais incluídos no estudo. Práticas do local do experimento seriam permitidas caso não interferissem com os objetivos do estudo, desde que com prévia autorização do monitor/patrocinador.

Entretanto, não foi estabelecido nenhum tratamento concomitante durante o estudo.

6.9. Instalação experimental

Os animais foram alojados individualmente em baias no canil experimental do CTA. 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.

6.10. Alimentação e manejo

Os animais foram alimentados com uma mesma ração, do tipo Premium, durante todo o período do estudo.

A quantidade de ração oferecida é calculada a partir da indicação do fabricante e adaptada de acordo com a necessidade de cada animal, sendo fornecida pela manhã e a tarde, ficando disponível durante uma hora para o consumo.

O manejo dos cães foi o mesmo durante todo o período experimental, com luz natural e temperatura de conforto para a espécie.

6.11. Aclimação

Os animais foram aclimatados por um período de sete dias antes do tratamento (D-7 ao D-1) e neste período, foram observados ao menos uma vez ao dia, para verificar a saúde dos mesmos (CTA-FC-01).

6.12. Seleção

No dia D-7 do estudo foram avaliados o perfil hematológico e bioquímico de 20 animais, destes, foram selecionados pelo Investigador no dia D-1, 16 cães, de acordo com os resultados laboratoriais obtidos conjuntamente a avaliação física. Caso todos os animais estivessem aptos a participar do estudo os animais seriam selecionados através de sorteio, mantendo-se a proporção de machos e fêmeas.

6.13. Formação dos Grupos

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com dois grupos (Controle e Medicado), com oito cães em cada grupo, totalizando 16 animais, sendo que cada grupo teve número homogêneo entre machos e fêmeas. Cada animal foi considerado uma unidade experimental.

6.14. Delineamento Experimental

Quadro 1. Grupos, formulação, dose, número de animais e via de administração

Grupos	Formulação	Dose	Animais por tratamento	Via de administração
GC (Controle)	Sabonete neutro	Aplicação até a formação abundante de espuma, esfregando os animais pelo	8 (4 machos e 4 fêmeas)	Tópica

GT (Tratado)	Sabonete Matacura Sarnicida	tempo de 5 minutos antes de deixar o produto agir por mais 10 minutos Aplicação até a formação abundante de espuma, esfregando os animais pelo tempo de 5 minutos antes de deixar o produto agir por mais 10 minutos	8 (4 machos e 4 fêmeas)	Tópica
-----------------	-----------------------------------	--	-------------------------------	--------

6.15. Área de aplicação

O produto foi aplicado por todo o corpo do animal, começando pela cabeça em direção à cauda, evitando a área dos olhos, massageando em sentido contrário ao dos pelos.

6.16. Administração do produto

- Grupo Tratado (GT):

O sabonete foi administrado por via tópica, uma vez ao dia, durante 8 dias consecutivos. O produto foi aplicado em todo o corpo do animal, começando pela cabeça em direção à cauda, evitando a área dos olhos, massageando-o em sentido contrário ao dos pelos. O produto permaneceu em contato por um período de 10 minutos. Em seguida o animal foi enxaguado e foi repetida a operação inicial.

As demais aplicações seguiram as mesmas recomendações e horários de tratamento do D+1 (com variação aceitável de ± 30 minutos).

Os tratamentos foram anotados na ficha CTA-FC-19.

- Grupo Controle (GC):

Os cães do Grupo Controle receberam a aplicação de um sabonete neutro, pela via tópica, seguindo as mesmas recomendações, dosagens e horários de tratamento preconizados para o GT. Os tratamentos foram registrados na ficha CTA-FC-19.

Os animais do grupo Controle foram compartilhados entre os estudos 005.27/17 e 021.27/17, que iniciaram simultaneamente e tiveram o mesmo delineamento experimental. Essa medida visou diminuir ao mínimo indispensável o número de animais usados em experimentação e está de acordo com o Art. 14, § 4º da LEI nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008.

6.17. Parâmetros avaliados

6.17.1. Observações Gerais de Saúde (OGS)

Durante todo o período experimental (D-7 ao D+15), um pesquisador realizou as OGS (CTA-FC-01) em todos os animais pelo menos uma vez ao dia.

As OGS consistiram em observar a aparência física geral e o comportamento, anormalidades no consumo de alimento e água, aparência da urina e das fezes e demais parâmetros, de acordo com a espécie, que fosse um indicativo do estado de saúde dos animais.

Se alguma anormalidade fosse identificada, um veterinário realizaria o exame do animal em questão e documentaria os achados deste exame (CTA-FC-35). O veterinário acompanharia e documentaria diariamente os achados, até que a saúde do animal fosse reestabelecida.

6.17.2. Pesagem dos Animais

Os animais foram pesados nos dias D-7, D0, D+9 e D+15 (CTA-FC-05 – **Tabela 2**).

Tabela 2. Identificação e peso individual dos animais nos tempos avaliados D-7, D0, D+9 e D+15

Grupo	Identificação do animal	Sexo	Peso dos animais, kg			
			Dia -7	Dia 0	Dia +9	Dia +15

	841	Fêmea	7,850	7,650	7,500	7,550
	3431	Fêmea	12,650	12,500	12,450	12,300
	7005	Fêmea	10,800	10,700	10,700	11,100
	9310	Fêmea	10,300	10,100	10,050	10,200
Controle	Média		10,400	10,238	10,175	10,288
	844	Macho	12,550	12,050	12,150	12,100
	1503	Macho	13,300	13,000	12,750	13,100
	1760	Macho	12,650	12,450	12,750	13,000
	3713	Macho	12,350	11,850	12,000	12,150
	Média		12,713	12,338	12,413	12,588
Média do grupo			11,556	11,288	11,294	11,438
	860	Fêmea	9,150	9,000	8,750	9,350
	4701	Fêmea	9,850	9,950	10,200	10,450
	7242	Fêmea	11,250	11,100	10,900	11,150
	7257	Fêmea	11,600	11,400	11,250	12,000
Medicado	Média		10,463	10,363	10,275	10,738
	846	Macho	10,750	10,550	10,400	10,800
	5886	Macho	14,300	13,900	14,000	14,350
	7247	Macho	11,500	11,550	11,500	10,950
	7790	Macho	14,350	14,200	14,100	14,250
	Média		12,725	12,550	12,500	12,588
Média do grupo			11,594	11,456	11,388	11,663

6.17.3. Avaliação clínica

Nos dias D-7, D0, D+9 e D+15, foram realizadas avaliações clínicas em todos os animais.

Os exames clínicos avaliaram os seguintes parâmetros, que foram registrados nas fichas clínicas (CTA-FC-34):

- Frequência cardíaca (bpm), realizada através de ausculta com estetoscópio, no tempo de um minuto;
- Frequência respiratória (mpm), realizada a partir da contagem do número de movimentos abdominais realizados pelo animal, no tempo de um minuto;
- Temperatura retal (°C), aferida através de termômetro digital;

- Verificação de sintomas compatíveis com intolerância ou intoxicação sistêmica. A alteração seria investigada conforme sistema alterado (digestório, cardiocirculatório, respiratório, genito-urinário, nervoso, locomotor, tegumentar, etc).
- Outros eventos adversos.

6.15.2. Avaliação laboratorial

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

Os exames laboratoriais avaliados nos dias D-7, D0, D+9 e D +15 foram:

- Hematológicos: hemácias; hemoglobina; hematócrito; volume corpuscular médio (VCM); hemoglobina corpuscular média (HCM); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM); leucócitos; bastonetes; neutrófilos; eosinófilos; basófilos; linfócitos; monócitos e plaquetas.
- Bioquímicos: creatinina; ureia; fosfatase alcalina (FA); γ -glutamilttransferase (GGT); alanina transaminase (ALT); aspartato transaminase (AST); albumina e proteínas totais.

Todas as amostras coletadas serão encaminhadas ao laboratório clínico e analisadas em no máximo 24 horas após a sua coleta.

6.18. Avaliação do local de aplicação

Imediatamente antes do primeiro banho (D+1) foi realizada uma inspeção por todo o corpo do animal para verificar se estava adequado e sem alterações aparentes. Após o banho (D+1) até dois dias após o último dia de aplicação do produto (D+10) a avaliação do local foi realizada uma vez ao dia, para a detecção da presença dos seguintes sinais:

- Eritema (ausente; presente; mediar a área com paquímetro);
- Pápulas (ausente; presente; mediar a área com paquímetro);
- Pústulas (ausente; presente; mediar a área com paquímetro);
- Crostas (ausente; presente; mediar a área com paquímetro);
- Descamação (ausente; presente; mediar a área com paquímetro);
- Alopecia (ausente; presente; medir a área com paquímetro);
- Prurido (ausente; presente [escala de 1 a 5, conforme **Quadro 2**]).
- O prurido foi avaliado ao longo do dia (08:00 horas às 17:00 horas);
- A nota foi registrada ao final do dia.

Quadro 2. Classificação do prurido

-	5 Prurido extremamente intenso e constante.
-	Lambe, coça e esfrega com intensidade para causar feridas.
-	4 Prurido intenso/Episódios prolongados.
-	Lambe e coça excessivamente e eventualmente apresenta arranhões.
-	3 Prurido moderado/ Episódios regulares.
-	Lambe e coça frequentemente, mas interrompe para brincar e comer.
-	2 Prurido ligeiro/ Episódios ocasionais.
-	Coça e lambe frequentemente.
-	1 Prurido muito ligeiro/ Episódios ocasionais.
-	Lambe com certa frequência, mas está confortável.
-	0 Sem prurido. Apenas mantém o ritual de higiene normal.

*Adaptado de Hobi et.al (2001).

- Outros sinais dermatológicos que fossem indicativos de reações adversas relacionadas ou não ao produto teste.

Se algum animal apresentasse qualquer alteração clínica, o mesmo seria observado diariamente até a sua completa recuperação.

6.19. Análise estatística

A primeira etapa do cálculo consistiu em verificar se a distribuição dos dados segue 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 . Já para os valores em porcentagem foi aplicada uma transformação em arco seno da raiz quadrada de $x/100$.

Para os resultados das avaliações clínicas e laboratoriais, foi realizada a análise estatística intergrupo (Controle x Medicado) nos diferentes tempos de avaliação utilizando 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 resultados da avaliação do local de aplicação do produto foram submetidos à análise intergrupo (Controle x Medicado) nos diferentes tempos de avaliação utilizando o teste de Fisher, pois o tamanho das duas amostras são pequenas e independentes. Este teste faz o uso de tabela de contingência 2x2 e consiste em determinar a probabilidade exata de uma frequência observada. Em relação à análise do prurido foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos e a diferença foi considerada significativa quando o valor de p for menor do que 5% ($p < 0,05$).

Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa SPSS, versão 22.0, desenvolvido pela IBM (2013).

6.20. Eventos adversos

Um evento adverso se constitui de qualquer resposta que seja prejudicial, não intencional, podendo se manifestar como doença, anormalidade ou lesão observada nos animais participantes de um estudo clínico, após a administração dos produtos em teste. O evento adverso pode ou não estar relacionado com o uso do produto em teste.

Os animais do estudo foram observados diariamente quanto à saúde e para registro das possíveis ocorrências de eventos adversos relacionados ou não com a formulação teste.

Caso algum animal viesse a apresentar algum evento adverso, o patrocinador seria comunicado prontamente e o evento seria documentado. Ficaria a critério de o investigador providenciar exame (s) clínico (s) completo do(s) animal (is) acometido (s) e provável diagnóstico. Caso fosse necessária qualquer intervenção (medicamentosa, cirúrgica ou de emergência) esta seria autorizada previamente pelo investigador e também pelo responsável da empresa patrocinadora. Em casos extremos que exigissem tratamento imediato este seria feito enquanto o investigador/patrocinador fosse contatado. O animal que apresentasse um evento adverso seria acompanhado até sua resolução. Todas as informações referentes ao diagnóstico e procedimentos adotados para tratamento de eventos adversos ou doença concomitante, seria registradas na ficha CTA-FC-35.

Todavia, nenhum efeito adverso foi observado.

6.21. Eutanásia ou Mortalidade dos Animais após o Tratamento

Caso algum animal fosse encontrado morto ou tivesse que ser submetido à eutanásia (por questões de bem-estar animal), o responsável da empresa patrocinadora do estudo seria imediatamente comunicado (e-mail ou telefone). Uma necropsia completa, se necessário incluindo exames macroscópicos e histopatológicos, seria realizada sob a orientação de um Patologista Veterinário. Todos os dados de necropsia, incluindo resultados de exames foram relatados em forma de laudo de necropsia e incluídos no relatório de estudo, além de anotados na ficha CTA-FC-32.

Animais doentes seriam examinados por um Médico Veterinário e caso a recomendação fosse a de eutanásia, esta seria autorizada pelo investigador e pelo responsável da empresa patrocinadora do estudo. Caso houvesse necessidade de se comprovar diagnóstico através de amostras de sangue, plasma e tecidos, estes seriam colhidos, devidamente identificados (número do estudo, número do animal, data, hora aproximada da morte e nome do investigador responsável), processados e armazenados a -20°C ou de acordo com a orientação do Médico Veterinário patologista.

A carcaça dos animais necropsiados seria destinada a compostagem. Animais removidos do estudo seriam devidamente registrados (CTA-FC-33).

No entanto, nenhum animal morreu e/ou foi eutanasiado.

7. CRONOGRAMA

- Data do início do estudo: 12 de Setembro de 2017.
- Data do encerramento do estudo: 04 de Outubro de 2017.

O estudo seguiu o cronograma descrito no **Quadro 3**.

Quadro 3. Cronograma do estudo

DATA	DIA DO ESTUDO	ATIVIDADE
D-7 a D+15	12SET17 ao 04OUT17	Observações Gerais de Saúde (OGS).
D-7	12SET17	Identificação dos animais; Inspeção geral; Pesagem; Exame clínico; Colheita de sangue.
D-1	18SET17	Seleção dos animais; Randomização;
D0	19SET17	Exame clínico; Colheita de sangue; Pesagem.
D+1 ao D+8	20SET17 ao 27SET17	Banho dos animais do grupo controle com sabonete neutro; banho dos animais do grupo tratado com o produto teste.
D+1 ao D+10	20SET17 ao 29SET17	Avaliação do local de aplicação (inspeção de todo o corpo dos animais).
D+9	28SET17	Pesagem; Exame clínico; Colheita de sangue.
D+15	04OUT17	Exame clínico; Colheita de Sangue.

8. RESULTADOS

8.1. Fase biológica

8.1.1 Avaliação Clínica

Com relação ao quadro clínico, não foi verificada a ocorrência de qualquer sintomatologia fora da normalidade.

Não foram observadas alterações nos animais por parte da equipe de pesquisadores 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.

Com base nas observações realizadas, durante todo o período de avaliação não foi observado nenhum efeito adverso nos animais do grupo Medicado.

Avaliação do local de aplicação

Durante todo o estudo não foi observada alteração do local de aplicação para os grupos Controle e Medicado, indicando que o Sabonete Antisséptico e Bactericida Maticura foi inócuo sobre a pele dos animais.

9.1.1.1. 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 (Controle e Medicado) em função dos tempos

Grupo	Tempo (dia)	Funções fisiológicas		
		Frequência respiratória (mpm)	Frequência cardíaca (bpm)	Temperatura retal (°C)
-	Dia -7	35 50	100 50	37 86

	Dia 0	30,50	102,50	38,09
	Dia +9	29,00	100,50	38,05
	Dia +15	30,00	97,00	38,19
	Média	31,25	100,13	38,05
Medicado	Dia -7	41,00	101,50	37,76
	Dia 0	30,50	98,00	38,20
	Dia +9	30,00	96,00	38,08
	Dia +15	30,50	95,50	38,09
	Média	33,00	97,75	38,03

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

Os resultados das avaliações das funções fisiológicas foram analisadas comparando-se os grupos Controle e Medicado nos tempos 0, +9 e +15. Os resultados estatísticos estão demonstrados na **Tabela 4**.

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

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

Variáveis	Valor de p		
	0	+9	+15
Frequência respiratória	1,000	0,662	0,837
Frequência cardíaca	0,303	0,382	0,680
Temperatura retal	0,558	0,823	0,494

9.1.1.3 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 pela 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 respiratória, frequência cardíaca e temperatura retal) e a comparação das médias dentro do grupo Medicado estão apresentadas na **Tabela 5**.

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

Funções fisiológicas			
Tempo (dia)	Frequência respiratória (mpm)	Frequência cardíaca (bpm)	Temperatura retal (°C)
Dia 0	30,50	98,00	38,20
Dia +9	30,00	96,00	38,08
Dia +15	30,50	95,50	38,09
p²	0,960	0,723	0,625

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

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 4**).

Quadro 4. Valores de referência das funções fisiológicas 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

Fonte: ¹FEITOSA (2004).

8.2. Fase analítica

8.2.1. Avaliação descritiva das variáveis hematológicas analisadas dos grupos (Controle e Medicado) em função do período de avaliação

Os valores médios das análises sanguíneas das amostras coletadas nos dias 0, +9 e +15 estão apresentados nas **Tabelas 6, 5 e 4**.

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	7,61	17,54	52,46	68,88	33,49	23,03
	Dia 0	7,10	16,29	49,08	69,25	33,18	22,96
	Dia +9	7,72	16,33	52,89	68,58	31,20	21,39
	Dia +15	7,71	18,63	46,37	61,25	39,64	24,17
	Média	7,53	17,19	50,20	66,99	34,37	22,89
Medicado	Dia -7	7,79	17,70	52,61	68,00	33,61	22,83
	Dia 0	7,18	16,50	48,80	67,88	33,80	23,01
	Dia +9	7,55	16,73	51,54	68,30	32,48	22,20
	Dia +15	7,49	17,84	45,72	60,88	39,04	23,81
	Média	7,50	17,20	49,67	66,27	34,73	22,96

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)	Neu (μ L)	Lin (μ L)	Mon (μ L)	Eos (μ L)	Bast (μ L)	Basóf (μ L)	Plaq (μ L)
Controle	Dia -7	13196,25	8158,36	3048,34	944,14	1045,41	0,00	0,00	445500,00
	Dia 0	11938,75	7418,63	2785,05	843,09	891,99	0,00	0,00	377500,00
	Dia +9	9637,50	6336,13	2354,00	323,50	623,88	0,00	0,00	268625,00
	Dia +15	11991,25	7215,48	2837,28	924,51	1013,99	0,00	0,00	443500,00
	Média	11690,94	7282,15	2756,17	758,81	893,82	0,00	0,00	383781,25

Dia 0	12755,00	7951,23	2915,33	1007,60	880,85	0,00	0,00	403750,00
Dia +9	9812,50	5629,50	3216,63	271,12	695,25	0,00	0,00	284625,00
Dia +15	11351,25	6885,31	2716,06	864,06	885,81	0,00	0,00	460125,00
Média	11790,94	7160,35	2987,49	803,80	835,37	0,00	0,00	409906,30

Leu – leucócitos; Neu - neutrófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Pla -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)	GGT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Proteínas totais (g/dL)
Controle	Dia -7	47,50	41,63	36,63	3,00	0,78	28,88	3,38	7,64
	Dia 0	61,63	40,00	45,38	4,13	0,77	26,50	3,30	6,88
	Dia +9	39,50	46,50	35,63	2,25	0,72	36,50	3,54	7,15
	Dia +15	52,00	99,50	64,25	2,50	0,86	61,50	3,14	7,45
	Média	50,16	56,91	45,47	2,97	0,79	38,35	3,34	7,28
Medicado	Dia -7	62,38	31,25	34,63	3,75	0,87	40,63	3,22	7,59
	Dia 0	76,75	34,38	34,63	4,13	0,70	21,75	3,13	6,97
	Dia +9	47,75	37,75	33,25	2,38	0,74	35,38	3,29	7,13
	Dia +15	123,13	97,25	77,38	2,88	0,90	59,75	2,93	8,03
	Média	77,50	50,15	44,97	3,29	0,80	39,38	3,14	7,43

Fosfatase alcalina (FA); alanina transaminase (ALT); aspartato aminotransferase (AST); gama-glutamil transferase (GGT).

8.2.1.2. Aplicação do teste de média entre os grupos (Controle e Medicado) para os valores hematológicos dos cães da espécie *Canis lupus familiaris*

Os resultados laboratoriais (eritograma, 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 estão 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 +9	Dia +15
Hemácias	0,820	0,617	0,421
Hemoglobina	0,774	0,612	0,245
Hematócrito	0,886	0,545	0,705
VCM	0,340	0,797	0,743
CHCM	0,113	0,467	0,259
HCM	0,917	0,537	0,439

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 p		
	Dia 0	Dia +9	Dia +15
Leucócitos	0,370	0,844	0,578
Neutrófilos	0,390	0,374	0,641
Linfócitos	0,471	0,230	0,640
Monócitos	0,335	0,631	0,698
Eosinófilos	0,939	0,716	0,492
Bastonetes	-	-	-
Basófilos	-	-	-
Plaquetas	0,561	0,723	0,688

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 +9	Dia +15

Fosfatase Alcalina	0,279	0,364	0,204
Alanina Amino Transferase	0,268	0,083	0,871
Aspartato animotransferase	0,289	0,462	0,285
Gama-glutamil transferase	0,783	0,835	0,980
Creatinina	0,229	0,789	0,811
Ureia	0,114	0,799	0,396
Albumina	0,136	0,013	0,117
Proteínas totais	0,673	0,945	0,225

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

8.2.1.3 Aplicação de teste de média dentro do grupo Medicado em função dos tempos de avaliação para os valores hematológicos dos cães da espécie *Canis lupus familiaris*

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

¹Aplicação do teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Significância.

ERITROGRAMA						
Tempo (dia)	Hemácias (milhões/ μ L)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)
Dia 0	7,18	16,50	48,80	67,88^a	33,80^a	23,01
Dia +9	7,55	16,73	51,54	68,30^a	32,48^a	22,20
Dia +15	7,49	17,84	45,72	60,88^b	39,04^b	23,81
p^2	0,335	0,202	0,186	0,000	0,000	0,414

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

LEUCOGRAMA								
Tempo (dia)	Leu (/μL)	Neu (/μL)	Lin (/μL)	Mon (/μL)	Eos (/μL)	Bast (/μL)	Basóf (/μL)	Pla (/μL)
Dia 0	12755,00 ^a	7951,23 ^a	2915,33	1007,60 ^a	880,85	0,00	0,00	403750,00 ^a
Dia +9	9812,50 ^b	5629,50 ^b	3216,63	271,12 ^b	695,25	0,00	0,00	284625,00 ^b
Dia +15	11351,25 ^a	6885,31 ^a	2716,06	864,06 ^a	885,81	0,00	0,00	460125,00 ^a
<i>p</i> ²	0,002	0,000	0,690	0,000	0,345	0,00	0,00	0,022

¹Aplicação do teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Significância; Leu – leucócitos; Neu - neutrófilos; Lin – linfócitos; Mon – monócitos; Eos – eosinófilos; Bast – bastonetes; Basóf – basófilos; Pla-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)	GGT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Albumina (g/dL)	Proteínas totais (g/dL)
Dia 0	76,75	34,38 ^a	34,63 ^a	4,13	0,70	21,75 ^a	3,13	6,97 ^a
Dia +9	47,75	37,75 ^a	33,25 ^a	2,38	0,74	35,38 ^a	3,29	7,13 ^a
Dia +15	123,13	97,25 ^b	77,38 ^b	2,88	0,90	59,75 ^b	2,93	8,03 ^b
<i>p</i> ²	0,262	0,000	0,000	0,239	0,280	0,000	0,182	0,033

¹Aplicação do teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade; ²Significância.

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 5 e 6**).

Quadro 5. Valores de referência dos parâmetros de eritrograma e leucograma de cães

ERITROGRAMA¹	
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 - 24,5 pg
CHCM	32 - 36 g/dL
LEUCOGRAMA¹	
Leucócitos	6000 - 17000 /µL
Neutrófilos	3000 - 11500 /µL
Linfócitos	1000 - 4800 /µL
Monócitos	150 - 1350 /µL
Eosinófilos	100 - 1250 /µL
Basófilos	Raros
Bastonetes	0 - 300 /µL
Plaquetas	200 - 500 x10 ³ /µL

Fonte: ¹Weiss & Wardrop (2010); ² Jain (1993).

Quadro 6. Valores de referência dos parâmetros do bioquímico de cães

BIOQUÍMICO*	
VARIÁVEIS	REFERÊNCIA
Fosfatase alcalina (FA)	20 - 156 U/L
Alanina Transaminase (ALT)	21 - 102 U/L
Aspartato Transaminase (AST)	23 - 66 U/L
Gama-glutamil transferase (GGT)	1,2 a 6,4 U/L
Uréia	21,4 - 59,9 mg/dL
Creatinina	0,5 - 1,5 mg/dL
Albumina	2,6 - 3,3 g/dL

Proteína total	5,4 - 7,1 g/dL
----------------	----------------

Fonte: ¹ Kaneko et al. (2008).

9. DISCUSSÃO

Durante todo o decorrer do estudo os cães foram monitorados diariamente pela equipe investigadora em relação ao seu estado geral de saúde, e não foram observadas alterações nos animais pertencentes ao grupo Medicado, que pudessem ser associadas ao uso do produto em estudo.

As interpretações dos resultados hematológicos e da avaliação física 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 4, 5 e 6**).

Com relação às avaliações das funções fisiológicas dos cães, pode-se observar na **Tabela 3**, que os animais de ambos os grupos apresentaram valores médios dentro do esperado para as variáveis frequência cardíaca e temperatura retal durante todo período de avaliação. Para a variável frequência respiratória, apenas o tempo D-7 do grupo Medicado apresentou discreta taquipnéia, enquanto os demais permaneceram dentro dos limites quando comparados a faixa de referência presente no **Quadro 4**. Como a taquipnéia foi observada apenas no tempo antecedente ao uso do produto investigacional (D-7), essa alteração não tem correlação com o uso do mesmo, portanto é pouco significativa.

Quando avaliados os resultados das análises estatísticas (**Tabela 4 e 5**) nota-se semelhança entre os grupos e entre os tempos de avaliação, demonstrando que o produto investigacional foi inócuo sobre as funções fisiológicas dos cães.

Com relação aos valores obtidos nas análises laboratoriais, é importante ressaltar que os valores podem variar significativamente quando analisados sob diferentes condições e em diferentes laboratórios. Além disso, vários fatores podem influenciar na composição sanguínea, como o horário da coleta, fatores genéticos, idade, sexo, nutrição, condições ambientais e condições fisiológicas (como estresse e excitação) (adaptado de Jain, 1993). Dessa forma, os valores de referência adotados para a espécie servem como uma orientação geral para direcionar a análise dos resultados.

Quando analisados os valores médios do eritrograma (**Tabela 6**), observa-se que as variáveis hemácias, hematócrito, VCM e HCM permaneceram, para ambos os grupos, com seus valores médios dentro dos limites de referência descritos no **Quadro 5** durante todos os tempos avaliados.

Observa-se que o grupo Controle apresentou concentração média de hemoglobina discretamente acima do que o esperado no tempo D+15. Todavia, esse fato tem pouca significância, pois ocorreu apenas no grupo que recebeu sabonete placebo, não influenciando na segurança do produto. Para o parâmetro CHCM notaram-se valores médios mais elevados do que a faixa de referência no tempo D+15 de ambos os grupos. Como as demais variáveis que compreendem o eritrograma permaneceram dentro dos limites de referência, o discreto aumento de CHCM não é significativo.

A Análise intergrupo (**Tabela 9**) revela a similaridade entre os grupos para todas as variáveis do eritrograma. A análise intragrupo (**Tabela 12**) mostra que houve apenas um aumento dos valores médios VCM e CHCM no tempo D+15 em comparação ao tempo inicial (D0). Todavia, a diferença entre os tempos apenas para esses parâmetros é pouco significativa, pois as demais permaneceram em concentrações constantes e dentro dos limites de referência para espécie.

A respeito do leucograma, nota-se na **Tabela 7** que todas as variáveis que compreendem o leucograma apresentaram valores médios para ambos os grupos, dentro da faixa de referência descrita no **Quadro 5**, durante todo período de avaliação.

Os resultados das análises estatísticas (**Tabela 10 e 13**) demonstram semelhança entre os grupos para todas as variáveis e uma redução da concentração de leucócitos, neutrófilos, monócitos e plaquetas no tempo D+9 quando comparado ao tempo D0, dentro do grupo Medicado. Diante do fato das concentrações médias estarem dentro dos limites de referência, e dos grupos serem semelhantes, a falta de constância das concentrações torna-se pouco significativa perante a higidez dos animais, não correlacionando esse fato com o uso do produto investigacional.

Com relação ao perfil bioquímico (**Tabela 8**), observa-se que, com exceção das variáveis AST, ureia, albumina e proteínas, as demais variáveis mantiveram seus valores médios dentro dos limites de referência (**Quadro 6**) para ambos os grupos e durante todo o decorrer do estudo.

Concentração de AST discretamente elevada foi observada apenas no tempo D+15 do grupo Medicado. Segundo Stockham & Scott (2011), a AST pode ter sua concentração aumentada em casos de lesão de hepatócito, lesão muscular e hemólise. Baseando-se nesse fato e na avaliação dos exames laboratoriais pode-se afirmar que os animais não apresentaram injúria hepática, já que as demais enzimas enquadram-se dentro dos valores de referência esperado, e comparando os grupos, nota-se que o grupo Controle também apresentou aumento da mesma, o que é comprovado pela semelhança entre os grupos na **Tabela 11**. A análise intragrupo (**Tabela 14**) evidencia esse aumento, quando demonstra diferença entre os tempos de avaliação D+15 e D0. Apesar do aumento da concentração de AST nesse tempo, deve-se salientar que a semelhança entre os grupos desvincula o uso do produto investigacional com essa observação, não influenciando sobre sua segurança.

Observa-se uma uremia discreta no tempo D+15 de ambos os grupos. De acordo com Stockham & Scott (2011), a concentração de creatinina tem maior valor diagnóstico quando comparada com a concentração de ureia, pois a quantidade de creatinina apresentada aos rins é mais constante e não é reabsorvida pelos túbulos, ao contrário da ureia. Com base na citação

do autor, a uremia apresentada sozinha não garante afetar a higidez dos animais, pois as concentrações de creatinina estavam dentro do esperado e ainda, a uremia ocorreu de forma semelhante entre os grupos, comprovada pelo teste *t* (**Tabela 11**). A análise intragrupo (**Tabela 14**) evidencia a uremia apresentada no tempo D+15 em comparação ao tempo D0. Entretanto, como ocorreu em ambos os grupos, esse fato deve-se a um fator comum a eles, e não se correlaciona ao uso do produto investigacional.

Com relação à função hepática, foi observada hiperalbuminemia apenas no grupo Controle, nos tempos D-7 e D+9 e hiperalbuminemia nos tempos D-7, D+9 e D+15 em ambos os grupos. Como a hiperalbuminemia ocorreu apenas no grupo Controle ela não é significativa e não deve ser correlaciona ao uso do produto. De acordo com Stockham & Scott (2011) a hiperproteinemia pode ser causada por hemoconcentração, doenças inflamatórias e neoplasias de linfócitos B. Com base no resultado da análise intergrupo (**Tabela 11**) pode-se definir que a causa da hiperproteinemia é um fator comum aos grupos, dada a semelhança entre eles ao teste *t*. A análise intragrupo (**Tabela 14**) revela a diferença entre os tempos de avaliação D+15 com hiperproteinemia e o tempo D0 com concentrações dentro do esperado. Todavia, a semelhança entre os grupos é fator principal para concluir que o produto não influenciou sobre a função hepática dos cães.

Ainda na análise estatística observa-se semelhança entre os grupos para todas as variáveis do perfil bioquímico, com exceção da variável albumina (**Tabela 11**). Apenas no tempo D+9 ($p=0,013$) observa-se menor concentração média de albumina para o grupo Medicado do que para o grupo Controle. Todavia, sabe-se que essa diferença advém da hiperalbuminemia presente no grupo Controle nesse tempo, não tem valor significativo para a inocuidade do produto investigacional. Na análise intragrupo (**Tabela 14**) nota-se diferença entre os tempos de avaliação para as variáveis ALT, AST, ureia e proteína, sendo as três últimas já comentadas. Houve aumento da concentração média de ALT no tempo D+15, em comparação ao tempo D0. Todavia, essa diferença é pouco significativa, pois apesar do

aumento da concentração, ela continuou atendendo o limite de referência para a espécie. E ainda, deve-se ressaltar que os grupos apresentaram comportamento semelhante, de modo que também foi observada aumento da concentração ALT no grupo Controle. Portanto, essa diferença não é condizente com o uso do produto investigacional. Dessa forma, pode-se garantir que o produto investigacional foi seguro para a função hepática e renal dos cães.

10. CONCLUSÃO

A utilização do Sabonete Maticura Sarnicida e Anti-pulgas, a base de Benzoato de Benzila, quando administrado em cães adultos por via tópica, uma vez ao dia, durante 8 dias consecutivos, não ocasionou efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos, gastrointestinais e nem no local de aplicação ou outros efeitos clinicamente observados e laboratorialmente detectáveis nos cães.

Dessa forma, baseando-se nos resultados obtidos no estudo, a administração do Sabonete Maticura Antisséptico e Bactericida apresentou-se segura para cães da espécie *Canis lupus familiaris* quando realizada conforme recomendação de bula.

11. OBRIGAÇÕES ADMINISTRATIVAS

11.1. Garantia da qualidade

As Boas Práticas Clínicas Veterinárias devem ser seguidas neste estudo e compreendem principalmente os seguintes itens:

O pesquisador responsável pelos estudos tem conhecimento científico, treinamento e experiência comprovados através de dados curriculares.

- O estudo de campo seguiu o protocolo experimental, sendo realizado em conformidade com as normas de Boas Práticas Clínicas (VICH, GL9; CBV/DEB/SDA/MABA - DDC 2000)

- As instalações em que os animais foram mantidos estavam em boas condições de uso.
- O manejo e a alimentação dos animais foram cuidadosamente supervisionados.
- Os dados foram colhidos e registrados de forma apropriada.

Todos os documentos relativos ao estudo de campo foram guardados cuidadosamente e em local seguro, por um período de tempo que dependerá das autoridades de regulamentação locais e conforme recomendações de BPC e BPL.

11.2. Monitoramento

O presente estudo foi coordenado pelos pesquisadores do CTA, sob o monitoramento da empresa contratante.

11.3. Desvios do protocolo de estudo original

Desvios do protocolo são definidos como procedimentos em desacordo com as propostas originais. O investigador, desviando-se do protocolo ou qualquer pessoa que detectar um desvio posteriormente, deve relatar o ocorrido ao monitor. Os desvios devem ser descritos detalhadamente na ficha de observações e seu impacto sobre os resultados comentados. Este documento deve ser assinado e datado pelo investigador e anexado aos documentos originais do estudo.

11.4. Garantia de conformidade ao protocolo de estudo

O estudo foi conduzido segundo as normas de Boas Práticas Clínicas e Boas Práticas Laboratoriais. O tratamento foi administrado conforme descrito neste protocolo, por pessoa treinada para esta tarefa. O uso do medicamento e suas dosagens foram documentados pelo

investigador durante o estudo. Na conclusão do estudo as sobras dos produtos foram contabilizadas e devolvidas ao patrocinador.

11.5. Registros dos dados

Todos os dados brutos, bem como eventuais efeitos adversos foram documentados nas respectivas fichas de acompanhamento individual. Todas as observações foram feitas com caneta esferográfica. As informações foram posteriormente transferidas para planilhas digitais.

11.6. Anotações e correções de erros dos dados brutos

O investigador ou a pessoa designada pelo investigador foi responsável por preencher todos os dados, e observações, diretamente nas respectivas fichas de acompanhamento.

As correções de erros em dados originais foram realizadas traçando-se uma única linha sobre a anotação incorreta, de modo que o registro original (errado) permaneça legível. A anotação correta foi registrada ao lado da anotação original, ou no final da página, juntamente com a data em que a mudança for realizada e as iniciais da pessoa que efetuar a correção. O motivo da alteração também foi indicado. Um dos símbolos abaixo foi inserido ao lado da correção, quando aplicável, no lugar de uma explicação escrita:

Símbolo	Explicação
①	Erro de registro (anotação)
②	Erro de cálculo
③	Erro de Transcrição
④	Erro de ortografia

⑤

Outro (Especificar quando este símbolo for utilizado)

11.7. Guarda dos documentos do ensaio

Após os estudos, os dados brutos foram enviados para a empresa patrocinadora e as cópias serão mantidas no arquivo técnico do Centro de Tecnologia Animal pelo período de 5 anos.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais-CIUCA, mediante a regulamentação da Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências.

Disponível em:

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6899.htm. Acesso em: 09/09/15.

BRASIL. Lei nº 11.794 (Lei Arouca). Estabelece os procedimentos para uso de animais em experimentação científica, prezando o bem estar animal. 08/10/2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/111794.htm. Acesso em: 09/09/15.

JAIN, N. C. Essentials of veterinary hematology. Lea & Febiger, cap. 3, 1993.

REECCE, W. O. Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos. 12ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006, p. 108.

STOCKHAM, S. L. & SCOTT, M. A. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária. Segunda Edição. Editora Guanabara Koogan Ltda, 2011.

VICH. Guideline on Good Clinical Practices. VICH GL9 (GCP), for Implementation at Step 7, June 2000.

VICH. Target Animal Safety Guidelines for Veterinary Pharmaceuticals Products. GL43 (Target Animal Safety) – Pharmaceuticals, for implementation at Step 7, July 2008.

13. ANEXOS

ANEXO I. Parecer da Comissão de Ética, Bioética e Bem-estar Animal Centro de Tecnologia Animal Ltda. (CEUA-CTA)

ANEXO II. Fichas de acompanhamento individual

ANEXO III. Laudos dos Exames Laboratoriais

ANEXO IV. Dados brutos da análise estatística