RAFAEL LANZELLOTI FONSECA

Ivermectina: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos) gêneros e concentração do medicamento

São Paulo

2019

RAFAEL LANZELLOTTI FONSECA

Ivermectina: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos) gêneros e concentração do medicamento

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Silvana Lima Górnjak

São Paulo

2019

ERRATA

FONSECA, R. L. **Ivermectina**: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos), gêneros e concentração do medicamento. 2019. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Página	Onde se lê	Leia-se
Ficha Catalográfica	102 f.	101 f.
RESUMO	102 f.	101 f.
ABSTRACT	102 f.	101 f.

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3767
FMVZ

Fonseca, Rafael Lanzelloti
Ivermectina: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos) gêneros e concentração do medicamento / Rafael Lanzelloti Fonseca. – 2019.
102 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Lima Górnaiak.

1. Farmacocinética. 2. Ivermectina. 3. *Bos taurus*. 4. *Bos indicus*. 5. Meio-sangue Angus-Nelore. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Ivermectina: estudo farmacocinético em bovinos de corte. 1. Comparação entre as raças zebuína, europeia e seus cruzamentos. 2. Comparação entre gêneros", protocolada sob o CEUA nº 6510200217 (ID 006145), sob a responsabilidade de **Silvana Lima Górnaiak e equipe; Rafael Lanzelloti Fonseca** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 15/02/2019.

We certify that the proposal "Ivermectin: pharmacokinetic study in beef cattle. 1. Comparison between the zebuine, European breeds and their crosses. 2. Comparison between genders", utilizing 57 Bovines (males and females), protocol number CEUA 6510200217 (ID 006145), under the responsibility of **Silvana Lima Górnaiak and team; Rafael Lanzelloti Fonseca** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/15/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 03/2017 a 12/2018

Área: **Patologia - Toxicologia Veterinária**

Origem:	Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga			
Espécie:	Bovinos	sexo:	Machos	idade: 1 a 5 anos N: 09
Linhagem:	Tabapuã			Peso: 300 a 1000 kg
Origem:	Animais de proprietários			
Espécie:	Bovinos	sexo:	Machos e Fêmeas	idade: 1 a 5 anos N: 22
Linhagem:	Aberdeen Angus x Nelore			Peso: 300 a 1000 kg
Origem:	Animais de proprietários			
Espécie:	Bovinos	sexo:	Fêmeas	idade: 1 a 5 anos N: 19
Linhagem:	Nelore			Peso: 300 a 1000 kg
Origem:	Animais de proprietários			
Espécie:	Bovinos	sexo:	Machos	idade: 1 a 5 anos N: 07
Linhagem:	Angus			Peso: 300 a 1000 kg

Local do experimento: Prefeitura do campus da USP Pirassununga e Fazendas a definir

São Paulo, 15 de fevereiro de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FONSECA, Rafael Lanzelloti

Título: **Ivermectina:** estudo farmacocinético em bovinos de corte.
Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos),
gêneros e concentração do medicamento

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Patologia
Experimental e Comparada da Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICO

Aos meus pais Antônio Carlos Fonseca e Valéria Aparecida. Lanzelloti Fonseca, e a meus irmãos Carla e Jeferson, que sempre me apoiaram em minhas decisões e estiveram ao meu lado. Tenho por vocês imensa gratidão por tudo que me proporcionaram com tanto amor e carinho. É com muita alegria que divido com vocês mais uma conquista.

Amo vocês

**À minha esposa Jéssica e minha filha Lavínia, que
está sempre ao meu lado nos momentos de tristezas,
alegrias e conquistas, sempre com gestos e palavras de
conforto. Obrigado por toda ajuda e força fundamentais
para a realização deste trabalho. Tenho certeza que
nossos objetivos e metas serão alcançados com fé em
Deus.**

Amo muito vocês, minha família.

**À minha Orientadora, Profª Drª Silvana Lima Górnaiak e
ao Prof Dr André Tadeu Gotardo, que além de me
oferecer uma oportunidade e me acompanhar em cada
passo com muita paciência, me corrigindo e me
estimulando, se mostrou um exemplo de
profissionalismo. Obrigado pela atenção, paciência e
toda dedicação essenciais, não só para a realização
deste trabalho, mas também para minha formação.**

Sou muito grato a vocês

AGRADECIMENTOS

- ✓ Aos meus grandes amigos do CEPTOX: Adilson (Bala), Elaine, Estevão, Marco (Marquim) que sempre estiveram ao meu lado durante esta caminhada, me ajudando no que fosse preciso. Meus sinceros agradecimentos por tudo que vocês fizeram e fazem por mim;
- ✓ Ao Paulo Cesar e a Leonila Ester, pela grande ajuda e incentivo, meu muito obrigado;
- ✓ Ao Diego H. Dickel que nos ajudou durante as coletas, obrigado;
- ✓ Ao LANAGRO de Porto Alegre e toda sua equipe pela grande colaboração com as análises desse trabalho, meu muito obrigado a todos;
- ✓ À minha segunda família (Sogra, Sogro e Cunhada), por terem me acolhido durante estes anos com tanto carinho, me ajudando com o que fosse preciso. Muito obrigado a todos vocês;
- ✓ Ao Dr. Ubiraem Mário Schalch pelo apoio, amizade e grande colaboração na procura de propriedades e dos animais para realização deste trabalho;
- ✓ Ao Prof Dr Rodrigo Silva Goulart, que se empenhou muito em nos ajudar na procura dos animais *Bos taurus*;
- ✓ À Profª Drª Isis e a Profª Drª Claudia Mori, pelo apoio científico e por inúmeras ajudas. Obrigado;
- ✓ Ao Prof Dr Jorge Camilo Flório pela grande ajuda com os cálculos farmacocinéticos, Obrigado;
- ✓ Ao André do gado de leite e ao Ismael e todos funcionários da FZEA pela ajuda com os animais *Bos indicus*;

- ✓ Ao pecuarista Fernando José Landenberger Piva e todos funcionários da Chácara Pirapora, muito obrigado;
- ✓ Ao pecuarista Walter Castanha, Sr Alízio e todos funcionários da Fazenda Pinheirinho, muito obrigado;
- ✓ Ao pecuarista Valdomiro Polisellii Junior, Reginaldo e toda equipe da Fazenda Cardinal, muito obrigado;
- ✓ À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro (Processo número 1722859/2017).
- ✓ À Milena, secretária do VPT, por me ajudar prontamente à todas as dúvidas;
- ✓ Ao Fabiano Barreto e toda sua equipe do LANAGRO de Porto Alegre, que foram muito receptivos e colaboram muito com nosso trabalho;
- ✓ À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao VPT, pela oportunidade de cursar a pós-graduação em um programa de excelência, permitindo-me crescimento pessoal e profissional.
- ✓ Todos os funcionários da Biblioteca pelo auxílio na conclusão desta dissertação;
- ✓ A todos que direta ou indiretamente fizeram parte deste trabalho e estiveram ao meu lado. Muito obrigado.

RESUMO

FONSECA, R. L. **Ivermectina**: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos) gêneros e concentração do medicamento. [Ivermectin: pharmacokinetic study in beef cattle. Comparison among breeds (zebu, European and their crosses) genres and drug concentration]. 2019. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A ivermectina foi o primeiro antiparasitário do grupo das lactonas macrocíclicas a ser comercializado, sendo introduzido no mercado, inclusive no Brasil, em 1983. Embora tenham sido desenvolvidos outros tantos antiparasitários pertencentes ao grupo das lactonas macrocíclicas, a ivermectina (IVM) é ainda o mais amplamente empregado antiparasitário na bovinocultura no nosso país. A farmacocinética da ivermectina é caracterizada, em termos gerais, por baixa absorção quando administrada por via subcutânea, largo volume de distribuição, muito pequena biotransformação e excreção lenta. A cinética está diretamente ligada a vários fatores, mas principalmente à via de administração, espécie animal e formulação. O presente estudo foi dividido em três partes, sendo objetivo verificar se há diferenças na farmacocinética da IVM, considerando-se a comparação entre os cruzamentos (europeu, zebuino e meio-sangue), os gêneros, bem como as diferentes concentrações do antiparasitário (1% e 3,15%). Na primeira parte, foram comparados os perfis farmacocinéticos do Angus, Tabapuã e meio sangue Angus-Nelore. Os resultados mostraram grandes diferenças, tanto nos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroivermectina-B1a, bem como foram detectados valores significativamente maiores no C_{max}, ASC e t_{1/2β} nos animais Tabapuã, quando comparado àqueles bovinos de origem europeia e meio-sangue. Na outra etapa, na comparação entre os gêneros e machos castrados, verificou-se que não houve nenhuma alteração, em todos os parâmetros farmacocinéticos avaliados. O estudo, no qual objetivou-se comparar a farmacocinética da ivermectina entre as duas concentrações: 1% e 3,15%, mostrou, como o esperado, várias diferenças no perfil farmacocinético do antiparasitário entre os dois grupos. Assim, inicialmente os níveis de plasmáticos de 22,23 Dihidroivermectina-B1a foram superiores naqueles animais tratados com IVM 1%; no entanto, a partir da 3ª semana após a administração do medicamento, esses valores foram significativamente superiores nos bovinos tratados com a maior concentração da ivermectina. Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, conforme o esperado, houve maiores valores de T_{max}, ASC e t_{1/2β}

naqueles animais que receberam IVM 3,15%. Entretanto, pelos dados farmacocinéticos, aqui obtidos, pode-se levantar a hipótese de que os períodos de retirada propostos pelo fabricante para IVM 3,15% é seguro, mesmo para animais de origem zebuína.

Palavras-chave: Farmacocinética. Ivermectina. *Bos taurus*. *Bos indicus*. Meio-sangue Angus-Nelore.

ABSTRACT

FONSECA, R. L. **Ivermectin**: pharmacokinetic study in beef cattle. Comparison between breeds (zebu, European and their crosses) genres and drug concentration. [Ivermectina: estudo farmacocinético em bovinos de corte. Comparação entre as raças (zebuína, europeia e seus cruzamentos) gêneros e concentração do medicamento]. 2019. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Ivermectin (IVM) was the first antiparasitic of the macrocyclic lactone group to be marketed and was marketed, including in Brazil, in 1981. Although many antiparasitics drugs have been developed in the macrocyclic lactone group, ivermectin is still the most widely used antiparasitic in Brazil. The pharmacokinetics of IVM are generally characterized by low absorption when administered subcutaneously, large volume of distribution, very small biotransformation and slow excretion. The kinetics is directly linked to several factors, but mainly route of administration, animal species and formulation. The present study was divided in three parts, with the objective to verify if there are differences in the pharmacokinetics of the IVM, considering the comparison between the crosses (european, zebu and half-blood), the genera, as well as the different concentrations of antiparasitic (1 % and 3.15%). In the first part, the pharmacokinetic profiles of Angus, Tabapuã and the cross breed Angus-Nelore were compared. The results showed large differences in plasma levels of 22,23 Dihydroavermectin-B1a, as well as significantly higher values in C_{max}, AUC and t_{1/2β} in the Tabapuã animals when compared to those of european and half-blood cattle. In the other step, in the comparison between genders and castrated males, it was verified that there was no change in all pharmacokinetic parameters evaluated. The study, which aimed to compare the pharmacokinetics of IVM between the two concentrations: 1% and 3.15%, showed, as expected, several differences in the pharmacokinetic profile of the antiparasitic between the two groups. Thus, initially plasma levels of 22,23 Dihydroavermectin-B1a were higher in those animals treated with ivermectin 1%; however, from the third week after administration of the drug, these values were significantly higher in cattle treated with the highest concentration of the avermectin. Regarding the pharmacokinetic parameters, as expected, there were higher values of T_{max}, AUC and t_{1/2β} in those animals that received ivermectin 3.15%. However, from the pharmacokinetic data it can be hypothesized that the

withdrawal periods proposed by the manufacturer for IVM 3.15% would be safe, even for animals of zebu origin.

Keywords: Pharmacokinetics. Ivermectin. *Bos taurus*. *Bos indicus*. cross breed Angus-Nelore

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da ivermectina	23
Figura 2 - Animais da raça Angus.....	32
Figura 3 - Animais da raça Tabapuã.....	32
Figura 4 - Animais mestiços Angus x Nelore	33
Figura 5 - Animais mestiços Angus x Nelore. (A) Fêmeas e (B) Machos castrados e inteiros	34
Figura 6 - Novilhas da raça Nelore. (A) Grupo que receberam IVM na concentração de 1% e (B) Grupo que receberam IVM na concentração de 3,15%.....	35
Figura 7 - Animal contido no momento da coleta de sangue da veia jugular	37
Figura 8 - Sangue centrifugado e armazenado em tubos safe-lock (Eppendorf®) para ser mantido em temperatura de -80°C até a extração da IVM	38
Figura 9 - Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre raças	45
Figura 10 - Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre gêneros (machos castrados, machos inteiros e fêmeas).	46
Figura 11 - Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre concentração do medicamento.....	47
Figura 12 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário. a,b,c Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; ANOVA seguida de PDIFF).....	55
Figura 13 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de bovinos machos, Tabapuã, Angus e Meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. a,b Médias e erros seguidos por letras diferentes, se diferem entre si (P<0,05). C _{max} = concentração máxima, T _{max} = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, t _{1/2β} = meia-vida de eliminação	57

- Figura 14 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas (MSF), machos castrados (MSC) e machos inteiros (MSM), que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário a,b Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; ANOVA seguido de PDIFF)64
- Figura 15 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário. Cmax = concentração máxima, Tmax = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, t1/2β = meia-vida de eliminação66
- Figura 16 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg). As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 1% e 0, 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 49, 56, 63, 70, 77, 84, 98, 105, 112, 119, 126, 133, 140, 144 e 147 dias após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 3,15%73
- Figura 17 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg) ou ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), por via subcutânea. Cmax = concentração máxima, Tmax = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, t1/2β = meia-vida de eliminação75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso total (kg) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	49
Tabela 2 - Média e erro padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes de serem submetidos ao tratamento com ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg	50
Tabela 3 - Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	51
Tabela 4 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	52
Tabela 5 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário	54
Tabela 6 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de bovinos machos, Tabapuã, Angus e Meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg	56
Tabela 7 - Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso total (kg) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	58
Tabela 8 - Média e erro padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg	59

Tabela 9 - Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	60
Tabela 10 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias	61
Tabela 11 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário	63
Tabela 12 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg	65
Tabela 13 - Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso diário (kg) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), Período experimental de 42 dias para o grupo IVM 1% e 147 dias para o grupo IVM 3,15%	67
Tabela 14 - Média e erro padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) de fêmeas Nelore, antes de serem submetidos ao tratamento com ivermectina (IVM) 1% ou 3,15%, por via subcutânea (SC)	68
Tabela 15 - Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL), de fêmeas Nelore, antes e 42 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg); antes e 147 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 3,15%	69

Tabela 16 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos fêmeas Nelore, antes e 42 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg); antes e 147 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 3,15%.....	70
Tabela 17 - Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg). As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 1% e 0, 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 49, 56, 63, 70, 77, 84, 98, 105, 112, 119, 126, 133, 140, 144 e 147 dias após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 3,15%	72
Tabela 18 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg) ou ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), por via subcutânea	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	BOVINOCULTURA DE CORTE NO BRASIL	21
1.2	AVERMECTINAS	23
1.3	IVERMECTINA (IVM)	25
2	OBJETIVOS	30
2.1	OBJETIVO GERAL	30
2.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	ANIMAIS E INFORMAÇÕES SOBRE O MANEJO	31
3.2	MEDICAMENTO	35
3.3	PROCEDIENTOS	36
3.3.1	Avaliação coproparasitológica	36
3.3.2	Avaliação clínica e do ganho de peso	36
3.3.3	Coleta de sangue	36
3.3.4	Dosagem de enzimas, componentes sanguíneos e hemograma	37
3.3.5	Obtenção do plasma para extração de ivermectina	38
3.3.6	Método de extração da IVM	38
3.3.6.1	Padrões e reagentes	38
3.3.6.2	Análise LC-MS / MS para detecção do composto marcador	39
3.3.6.3	Validação da metodologia	39
3.3.6.3.1	Seletividade	39
3.3.6.3.2	Linearidade e Limite de Quantificação	40
3.3.6.3.3	Precisão e Exatidão	40
3.3.6.4	Preparação das amostras	41
3.3.6.5	Deteção da 22,23 Dihidroavermectina-B _{1a}	41
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	48
3.4.1	Experimento 1: Determinação da farmacocinética da IVM:	
	comparação entre raças	42
3.4.2	Experimento 2: Determinação da farmacocinética da	
	ivermectina: comparação entre gêneros	43
3.4.3	Experimento 3: Determinação da farmacocinética da IVM:	
	comparação entre concentração do medicamento (1% e 3,15%)	43

3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4	RESULTADOS	49
4.1	EXPERIMENTO 1: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE RAÇAS	49
4.1.1	Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso	49
4.1.2	Avaliação farmacocinética	53
4.2	EXPERIMENTO 2: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE GÊNEROS	58
4.2.1	Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso	58
4.2.2	Avaliação farmacocinética	62
4.3	EXPERIMENTO 3: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DO MEDICAMENTO (1% E 3,15%)	67
4.3.1	Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso	67
4.3.2	Avaliação farmacocinética	71
5	DISCUSSÃO	76
6	CONCLUSÕES	92
	REFERÊNCIAS	94

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, exportando carne e seus subprodutos a diversos países, contribuindo de forma expressiva com a economia do país.

A qualidade do produto final é dependente de uma cadeia que envolve desde o manejo do rebanho (criação dos animais) até a obtenção do produto final à mesa do consumidor. As questões sanitárias são extremamente importantes e sanadas mediante o emprego de programas voltados para a sanidade animal e segurança dos alimentos, o que inclui a utilização de medicamentos preventivos. Entre as classes de medicamentos antiparasitários, o de maior uso em bovinocultura, no Brasil, são as lactonas macrocíclicas, em especial a ivermectina (IVM) (SINDAN, 2013), para controle de ectoparasitas, principalmente de carrapatos, bem como de endoparasitas, particularmente aqueles gastrintestinais, devido ao seu amplo espectro (BALLWEBER; BAETEN, 2012).

Embora a IVM tenha amplo emprego, particularmente em bovinos, os estudos de eficácia e segurança, necessários para o registro no país são provenientes de animais de origem europeia, *Bos taurus*. Por outro lado, deve-se ponderar que a grande maioria do rebanho bovino nacional é de origem zebuína, *Bos indicus*. Considerando que as fisiologias nestas duas raças apresentam dissimilaridades, pode-se supor que a farmacocinética dos diferentes medicamentos também deva apresentar comportamentos díspares. Assim sendo, os parâmetros farmacocinéticos, e conseqüentemente a posologia e período de carência, por exemplo, podem diferir substancialmente.

Neste contexto, o estudo farmacocinético deste medicamento é importante para fundamentar o uso correto, bem como auxiliar nas pesquisas posteriores para avaliação do período de retirada do produto, naqueles animais destinados ao abate.

1.1 BOVINOCULTURA DE CORTE NO BRASIL

A revista inglesa, “*The Economist*”, um dos mais conceituados periódicos dedicados à área de finanças e economia mundial, afirmou categoricamente, em 2010, que o Brasil será o principal produtor agropecuário mundial nos próximos 40

anos e essa asseveração se sustenta devido a alguns fatores principais, entre estes citam-se: a admirável capacidade de aumentar a produtividade, sendo que em menos de 30 anos conseguiu passar da condição de importador de alimentos para um dos cinco principais produtores de alimentos mundiais (THE ECONOMIST, 2010). Junte-se a isso, o fato de o país possuir terras férteis e extensas, clima propício para a plantação e criação animal, bem como reserva de água. De fato, o Brasil se posicionou em 2017 como um dos principais responsáveis na produção e comércio de carne bovina no mundo, isto devido a um processo organizado de desenvolvimento que aumentou não só a qualidade como também a produtividade e, consequentemente sua competitividade e abrangência de mercado. Se posicionando em 2015 com o maior rebanho bovino (209 milhões de cabeças), o segundo maior consumidor (38,6 kg/habitante/ano) e o segundo maior exportador (1,9 milhões toneladas equivalente carcaça) de carne bovina do mundo. Atualmente no mercado interno com cerca de 80% do consumo, é composto de moderno parque industrial com capacidade de abate de aproximadamente 200 mil bovinos por dia. Em relação a exportação de carne bovina já representa 3% das exportações brasileiras o que se traduz por 6% do produto interno bruto (PIB) ou 30% do PIB do agronegócio, com uma movimentação superior a 400 bilhões de reais, que representa um aumento em quase 45% nos últimos anos (EMBRAPA, 2017).

A extensão territorial do Brasil propicia explorar os benefícios da bovinocultura a pasto e a baixo custo, o que é um diferencial da pecuária nacional. De fato, a maior parte do rebanho bovino é criada a pasto, sendo estimado que somente 3% é terminado em sistema intensivo. No entanto, o sistema de criação extensivo faz com que o rebanho bovino brasileiro seja submetido ao longo da sua criação a fatores ambientais diversos, como variações de temperatura, excessivas precipitações pluviométricas, umidade e intensas estiagens de inverno. Essas condições, associadas ao clima que favorece a biologia da maioria dos parasitos, bem como a disponibilidade de hospedeiro (bovinos a pasto), predispõem os animais às infecções por endo e ectoparasitas, quais sejam: nematódeos gastrintestinais ou pulmonares, carrapatos, moscas e larvas, que promovem efeitos negativos sobre o ganho de peso, conversão alimentar, desempenho reprodutivo, qualidade de carcaça e comprometimento do sistema imunológico, podendo, em algumas situações, levar o animal à morte.

Portanto, sem dúvida, um dos entraves para a maior expansão da bovinocultura de corte no Brasil são as parasitoses, principais causadoras dos prejuízos econômicos neste tipo de produção. Neste sentido, estima-se que em 2014 a perda produzida por este tipo de afecção no rebanho de bovinos em nosso país foi de quase 14 bilhões de dólares (GRISI, 2014). Portanto, o uso de medicamentos parasiticidas na pecuária bovina brasileira é fundamental para viabilizar e tornar eficiente esse tipo de produção animal em nosso país. De fato, o produtor rural despende ao redor de 600 milhões de dólares em medicamentos veterinários, dos quais 44% são antiparasitários, destacando-se dentre estes as avermectinas (SINDAN, 2013).

O rebanho nacional é composto por cerca de 80% de raças zebuínas (*Bos indicus*) e mestiças e o restante (ao redor de 20%) de raças de origem europeia (*Bos taurus*) (CFMV, 2011).

1.2 AVERMECTINAS

As avermectinas, juntamente com as milbemicinas, pertencem ao grupo químico denominado de lactonas macrocíclicas, resultante do processo de fermentação de um actinomiceto, *Streptomyces avermitilis* (Figura 1). São os principais antiparasitários pertencentes a este grupo a ivermectina (IVM), a abamectina, a doramectina, a selamectina e a eprinomectina (LOPES et al., 2014).

Figura 1 – Estrutura química da ivermectina

Fonte: (MOREIRA, 2014).

Alguns fatores, como disponibilidade de vários tipos de formulação, ampla margem de segurança, efeitos persistentes, relativamente baixo custo, permitem que estes produtos sejam, há aproximadamente 35 anos, os principais medicamentos de escolha na bovinocultura para o tratamento de infecções tanto por ectoparasitas, tais como carrapatos, sarnas, piolho, larvas de mosca e moscas, bem como de endoparasitoses, como a maioria das helmintoses gastrointestinais e, também, verminoses pulmonares (VERCRUYSSSE et al., 2002).

As avermectinas, como todas as lactonas macrocíclicas, são, caracteristicamente, compostos altamente lipofílicos, permitindo que sejam rapidamente absorvidos e apresentem grande volume de distribuição (CANGA et al., 2009). Devido à alta lipofilicidade, são depositadas no tecido adiposo, o qual, pelo baixo metabolismo desse tecido, faz com que haja persistência no organismo e, consequentemente, períodos de carência longos. Esta alta solubilidade lipídica, largo volume de distribuição e acumulação na gordura, sugere que a difusão simples seja a principal via de movimento transmembrana das avermectinas (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012).

Em relação ao mecanismo de ação das avermectinas, este não está ainda completamente elucidado. No entanto, sabe-se que sua atuação consiste em causar a imobilização dos nematódeos e ectoparasitos, induzindo paralisia do tipo tônica de sua musculatura. A paralisia é mediada pela potencialização e ativação direta dos canais de cloro sensíveis às avermectinas, controlados pelo glutamato (CULLY et al., 1994; YATES; PORTILLO; WOLSTENHOLME, 2003; GEARY, 2005; ALMEIDA et al., 2017). Tais canais estão presentes somente nos nervos e células musculares dos invertebrados e, uma vez potencializados, causam o aumento da permeabilidade da membrana celular aos íons de cloreto, provocando a hiperpolarização dos nervos ou das células musculares, causando paralisia e morte do parasita (SIVILOTTI; NISTRI, 1991; PAREDES; AGMO, 1992).

As avermectinas podem também interagir com canais de cloro mediados por outros neurotransmissores, como o do ácido gama-aminobutírico (GABA). Nos mamíferos, atuam bloqueando a transmissão pós-sináptica de impulsos nervosos mediados pelo GABA (GUPTA, 2007), que é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC); atualmente, conhecem-se três classes de receptores: GABA-A, GABA-B e GABA-C (SIVILOTTI; NISTRI, 1991; BORMANN, 2000). Além disso, estudos recentes realizados por Laing e colaboradores (2017) mostram que em

concentrações micromolares, as avermectinas podem interagir com uma variedade mais ampla de canais controlados por ligantes encontrados em invertebrados e vertebrados, como glicina, histamina e receptores nicotínicos de acetilcolina.

1.3 IVERMECTINA (IVM)

A IVM, uma mistura de duas avermectinas modificadas quimicamente e contém pelo menos 80% de 22,23 dihidroavermectina-B1a e menos de 20% de 22,23 dihidroavermectina B1b (JECFA, 2016) – Figura 1. Foi descoberta e avaliada em 1974, pelo microbiologista Satoshi Omura, ganhador do prêmio Nobel de medicina em 2015 (LAING; GILLAN; DEVANEY, 2017). Foi o primeiro antiparasitário do grupo das lactonas macrocíclicas a ser comercializado, em 1981, inclusive no Brasil, sendo introduzido no mercado pela empresa Merck Sharp & Dohme, em 1981. Embora tenham sido desenvolvidos outros tantos antiparasitários pertencentes ao grupo das lactonas macrocíclicas, sendo alguns deles até mais eficazes, a IVM é ainda de longe o mais amplamente empregado antiparasitário na bovinocultura (BALLWEBER; BAETEN, 2012). No Brasil, aqueles medicamentos à base de IVM registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), considerando somente bovinos, é de aproximadamente 76 produtos (SINDAN, 2014). A apresentação comercial da ivermectina varia conforme a espécie animal, sendo que no nosso país há registro de medicamentos contendo IVM na forma injetável intramuscular (IM), por via subcutânea (SC), transdérmica (pour on), oral na forma de pasta, pó (premix) e intra-ruminal (ALMEIDA et al., 2017).

Os parâmetros farmacocinéticos da IVM variam de acordo com uma série de fatores, que podem influenciar profundamente as concentrações da substância no plasma. Assim, verifica-se que em relação à via de administração, a maior biodisponibilidade desta avermectina é conseguida por meio da administração por via SC e a menor por via transdérmica (CANGA et al., 2009). Como este medicamento apresenta baixa solubilidade no tecido SC, há precipitação neste local, favorecendo, deste modo, a sua lenta absorção. A formulação também influencia significativamente o comportamento farmacocinético da IVM; desta maneira, a absorção será maior e mais rápida com um veículo aquoso do que com propileno glicol: glicerol-formol (MCKELLAR; BENCHAOUI, 1996; LIFSCHITZ et al., 1999).

A IVM, após ser absorvida, liga-se amplamente à albumina e lipoproteínas plasmáticas e, devido à alta lipofilicidade, é amplamente distribuída com largo volume de distribuição em todas as espécies animais. Esta característica lipofilicidade faz com que a IVM se acumule no tecido adiposo, que atua, portanto, como um reservatório (FINK e PORRAS, 1989; CANGA et al., 2009). De fato, em um estudo em bovinos, conduzido por Chiu et al (1990), os autores encontraram altos níveis de resíduos de IVM no fígado e tecido adiposo e baixos níveis no músculo. Portanto, devido ao baixo *clearance* (Cl) plasmático associado à sua acumulação no tecido gorduroso, verifica-se uma grande persistência da IVM no organismo.

A IVM sofre biotransformação ao nível hepático, sendo seu principal metabólito o 24-hidroximetil-H2B1_a (JECFA, 2016). No entanto, esta avermectina sofre pequeno grau de biotransformação, sendo a grande maioria desta substância excretada de maneira íntegra pelas fezes, que é responsável por 90% da eliminação do medicamento, ficando a via urinária responsável por apenas menos de 2% da excreção da IVM (CANGA et al., 2009).

A principal via de excreção das avermectinas se faz pela mediação da glicoproteína-P (Gp-P) intestinal (LAFFONT et al., 2002). A Gp-P é um membro da superfamília de ligação do ATP, de transporte de proteínas (MEALEY, 2004) e é codificada pelo gene MDR1, também conhecido como gene ABCB1. Este transportador, além de ser encontrado nas vilosidades intestinais, também é localizado em outros tecidos, como na barreira hematoencefálica, canais hepatobiliares e placenta, atuando como proteína e efluxo, carregando do interior das células para fora certas drogas. A importância entre a relação da toxicidade da IVM com a Gp-P está ligada ao fato dela controlar a entrada da IVM nos tecidos potencialmente sensíveis. No SNC a Gp-P é encontrada nos capilares endoteliais, fazendo parte da barreira hematoencefálica. A IVM é, então, transportada pela Gp-P do interior para fora das células endoteliais, através do lúmen do vaso capilar, evitando, assim, sua difusão no SNC (DELGADO et al., 2009). O tempo de excreção da IVM também está vinculado à formulação, sendo que a veiculação deste medicamento em substância não aquosa faz com que haja um retardo na eliminação, quando comparada à formulação aquosa (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012).

Existem vários estudos mostrando que além destes fatores ligados ao medicamento, outros, como espécie animal, gênero, alimentação e grau de parasitismo também apresentam grande influência nas diferentes etapas da

farmacocinética (absorção, distribuição, biotransformação e excreção) da IVM. Considerando-se espécie animal, a título de exemplo, um estudo mostrou que a área sobre a curva (ASC), independentemente da via de administração, é aproximadamente 2,5 menores em ovinos, que aquela obtida em equinos (MARRINER et al., 1987). Outros parâmetros como concentração máxima (Cmax), tempo de concentração máxima (Tmax) e a biodisponibilidade (F) são também muito variáveis entre as diferentes espécies animais e, muitas vezes, entre raças (CANGA et al., 2007; MCKELLAR; GOKBULUT, 2012). Neste sentido, estudos farmacocinéticos, conduzido em Lanzhou (China) com bovinos da raça Yak, (*Bos grunniens*), bem como animais da raça Gobra (*Bos indicus*) estudo este conduzido na estação experimental de Dahra (Senegal), mostraram diferenças expressivas nos parâmetros farmacocinéticos da IVM, quando comparados com aqueles obtidos em animais de raças europeias (DUPUY et al., 2003; NDONG et al., 2005)

Diferenças na farmacocinética da IVM relacionadas ao gênero vêm sendo também descritas em diferentes espécies animais. Assim, por exemplo, um valor 68,7% maior na ASC da ivermectina foi observado em fêmeas ovinas. Da mesma maneira, Toutain e colaboradores (1997), realizaram estudos de farmacocinética em *Bos taurus* e verificaram uma biodisponibilidade plasmática de IVM 10% maior em fêmeas. Embora não se saiba exatamente quais os fatores envolvidos nesta discrepância na farmacocinética da IVM relacionada ao gênero, supõe-se que diferenças na composição, distribuição e quantidade de gordura corpórea, influências hormonais em funções fisiológicas e metabólicas, incluindo metabolismo e clearance de medicamentos devem estar primariamente envolvidos (MUGFORD; KEDDERIS, 1998).

De acordo com estudo realizado por LIFSCHITZ et al. (1997), a má nutrição dos animais também interfere diretamente na cinética da IVM. Assim, em um estudo realizado com bezerros os autores verificaram que quando a avermectina foi administrada aos animais com dieta restrita por 21 dias, verificou-se que a disponibilidade do medicamento no plasma foi maior que naqueles alimentados ad libitum. Portanto, em bezerros com restrição de alimentos, ASC foi de 443 ng/dia/mL e Cmax de 53,9 ng/mL; em animais alimentados ad libitum, a ASC foi de 286 ng/dia/mL e Cmax de 48,5 ng/mL. Além disso, este estudo mostrou também que a eliminação da IVM é retardada em animais com restrição de alimentos (meia-vida de eliminação de 9,7 dias; depuração plasmática ou clearance de 0,465 L/kg/dia), enquanto em

animais sem restrição de alimento, a meia-vida de eliminação é de 5,6 dias e clearance de 0,733 L/kg/dia. Os autores sugerem que restrições na dieta podem reduzir o fluxo biliar de ivermectina, diminuindo, subsequentemente, a excreção biliar deste medicamento. Ainda, considerando-se a dieta, pesquisas vêm consistentemente mostrando que a forma de alimentação, pastagem ou confinamento, pode ter significantes alterações na farmacocinética da IVM. Neste sentido, um estudo conduzido em ovinos revelou que animais confinados apresentam valores de ASC maiores que comparados àqueles animais criados a pasto (TAYLOR et al., 1997). Tais diferenças podem estar relacionadas às características de excreção desta avermectina; além disso, deve-se considerar que animais criados em pastagem apresentam menor tempo de trânsito gastrointestinal e, relativamente, menor absorção, que aqueles submetidos ao confinamento (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012).

Outro fato que deve também ser considerado em relação à farmacocinética refere-se ao parasitismo. De fato, vários pesquisadores, investigaram diferentes parasitas e espécies animais, e concluíram que os valores da farmacocinética podem ser bastante díspares quando se compara animais livres de parasita ou parasitados. Fatores relacionados a alterações fisiopatológicas produzidas pelo parasitismo na mucosa gastrointestinal e tecidos, promovendo obstruções no tempo e taxa de passagem do medicamento, bem como alterações do trânsito do trato gastrointestinal (diarreia), podem ser os fatores determinantes na alteração das características farmacocinéticas da IVM naqueles animais infestados (MCKELLAR; GOKBULUT, 2012).

Em relação à toxicidade da IVM, da mesma forma que qualquer lactona macrocíclica, esse antiparasitário é relativamente seguro para bovinos, bem como para outras espécies animais para as quais tem seu uso aprovado, incluindo-se o ser humano (FOX, 2006). Essa segurança se deve ao fato destes antiparasitários apresentarem alto peso molecular, não atravessando facilmente a barreira hematoencefálica, o que comprometeria o SNC. Por outro lado, para algumas raças de cães (particularmente *Collie*) e de bovinos (*Murray Grey*), tem sido descrito neurotoxicidade (convulsões, tremores, ataxia, letargia e salivação), sendo proposto que tal efeito adverso se deva ao fato de que estes animais apresentam deficiência de Gp-P, resultando em acúmulo de IVM no SNC (DANAHER et al., 2006).

Um ponto relevante se refere ao fato de que os estudos relativos à farmacocinética da IVM, bem como aqueles atinentes à determinação do período de

carência, foram realizados em gado europeu, e não em zebuínos ou bovinos meiosangues representativos do rebanho brasileiro. Por outro lado, como também já referido, a quase totalidade de raças destinadas para a bovinocultura de corte no Brasil são aquelas zebuínas ou azebuadas; portanto, por tudo aqui apresentado e considerando-se justamente a espécie animal e raça como um dos principais fatores de variação destes valores obtidos, justifica-se a relevância desse trabalho, cuja proposta é a de estudar o perfil farmacocinético de animais *Bos indicus*, o cruzamento Angus-Nelore, bem como em *Bos taurus*, verificando fatores ligados à raça, bem como ambientais e de manejo em nosso país como possíveis causas de disparidade de valores farmacocinéticos. Além disso, será objetivo desta pesquisa avaliar se a concentração da IVM (1% e 3,15%), bem como o gênero, poderá refletir em diferenças nestes parâmetros farmacocinéticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a farmacocinética da IVM em bovinos de corte

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar as possíveis diferenças farmacocinéticas da IVM, considerando-se

- Três raças: *Bos taurus*, *Bos indicus* e meio sangue Angus-Nelore.
- Os gêneros
- As diferentes concentrações do medicamento: 1% e 3,15%.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

São apresentados o material e os métodos empregados para realização do delineamento experimental.

3.1 ANIMAIS E INFORMAÇÕES SOBRE O MANEJO

Na primeira etapa da pesquisa, para a comparação da farmacocinética da IVM entre raças, foram empregados bovinos, machos, provenientes de três locais distintos:

- *Bos taurus*, puros de origem (PO), da raça Angus, com peso corporal médio inicial de 280 kg, aproximadamente (Figura 2).

O estudo foi realizado na Fazenda Cardinal, localizada na Rodovia Abrão Assed, 2438-2542, Mococa – SP de propriedade do pecuarista Valdomiro Polisellii Junior.

- *Bos Indicus*, PO, da raça Tabapuã, com peso corporal médio inicial de 490 kg aproximadamente (Figura 3).

Essa parte da pesquisa foi realizada no Campus Administrativo da Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo.

- Bovinos meio-sangue, resultado do cruzamento entre duas raças Angus e Nelore, com peso corporal inicial de 463 kg, aproximadamente (Figura 4).

O experimento foi realizado na Chácara Pirapora, localizada na cidade de Tambaú- SP, 13710-000, de propriedade do pecuarista Fernando José Landenberger Piva.

Todos os animais utilizados nessa etapa, destas três diferentes propriedades, apresentavam idade entre 18 e 24 meses, no início do estudo.

Estes bovinos foram criados em sistema de semiconfinamento, com lotação variando de 1 a 2 unidade animal por hectare (UA/ha), e alimentados com forrageira do gênero *Brachiaria sp*, silagem de milho e ração comercial para a espécie, exceto os animais Tabapuã que, durante o período experimental, foram mantidos em sistema intensivo (confinados), com lotação de 2 UA/baia, e alimentados com silagem de milho e ração contendo 2% de ureia, 5% de sal comum, 20% de soja e 73% de milho, tendo água *ad libitum*.

Figura 2. Animais da raça Angus

Fonte: (FONSECA, 2019).

Figura 3. Animais da raça Tabapuã

Fonte: (FONSECA, 2019).

Figura 4. Animais mestiços Angus x Nelore

Fonte: (FONSECA, 2019).

Na segunda etapa da pesquisa, para a comparação da farmacocinética da IVM entre gêneros, foram selecionados fêmeas e machos, meio-sangue, provenientes do cruzamento entre Angus x Nelore com idade aproximada de 18 meses, com peso médio corporal inicial de 395 kg (Figura 5).

O estudo foi realizado na Chácara Pirapora, localizada na cidade de Tambaú-SP, de propriedade do pecuarista Fernando José Landenberger Piva.

Estes animais foram criados em sistema de semiconfinamento, com lotação variando de 1 a 2 UA/ha, e alimentados com forrageira do gênero *Brachiaria sp*, silagem de sorgo e ração comercial para a espécie, tendo água *ad libitum*.

Figura 5. Animais mestiços Angus x Nelore. (A) Fêmeas e (B) Machos castrados e inteiros.

Fonte: (FONSECA, 2019).

Para a terceira etapa da pesquisa, quando foi objetivo realizar a avaliação da comparação da farmacocinética da IVM entre as diferentes concentrações (1% e 3,15%), foram selecionadas novilhas da raça Nelore, PO, com idade aproximada de 24 meses, e peso médio ao redor de 328 kg (Figura 6).

Esta parte do estudo foi realizado na da Fazenda Pinheirinho, localizada na cidade de Analândia - SP, de propriedade do pecuarista Walter Castanha.

Os animais foram criados em sistema extensivo, com lotação variando de 1 a 2 UA/ha, e alimentados com forrageira do gênero *Brachiaria sp*, tendo água e sal mineral *ad libitum*.

Figura 6. Novilhas da raça Nelore. (A) Grupo que receberam IVM na concentração de 1% e (B) Grupo que receberam IVM na concentração de 3,15%.

Fonte: (FONSECA, 2019).

Todos os animais empregados nesse estudo foram vacinados contra febre aftosa, clostridiose e raiva.

Nenhum dos bovinos utilizados nesta pesquisa foi exposto a qualquer tipo de medicamento antiparasitário, à base de lactonas macrocíclicas, por um período de, no mínimo, 60 dias antes do início do estudo.

3.2 MEDICAMENTO

Foi utilizada a IVM 1% (Ivomec[®], Merial), número de partida: BD193/16; número do lote: 603003656, administrada na dose de 200 μ g/kg, e IVM 3,15% (Ivomec GOLD[®], Merial), número de partida: BA232/15; número do lote: 603003319, administrada na dose de 630 μ g/kg, por via SC na pele solta da frente do membro anterior (paleta), utilizando-se para tal agulha estéril, calibre 15 x15mm de comprimento, conforme recomendação do fabricante.

A administração da IVM sempre ocorreu no período matutino.

3.3 PROCEDIMENTOS

3.3.1 Avaliação coproparasitológica

Para a realização do exame coproparasitológico de todos os bovinos empregados nesse estudo, procedeu-se à coleta de fezes diretamente do reto dos animais, sempre no período matutino, entre 8:00 e 9:00h. O exame foi feito no laboratório do CEPTOX, segundo a técnica de Gordon e Whitlock descrita por Ueno e Gonçalves (1998).

3.3.2 Avaliação clínica e do ganho de peso

Os animais foram submetidos à avaliação clínica, no início do delineamento experimental, sendo aferidas a temperatura corpórea, coloração de mucosas, as frequências cardíaca e respiratória e os movimentos ruminais. Todos os bovinos foram pesados em tronco de contenção acoplado à balança Coimma®. Os animais foram submetidos à pesagem no dia da administração da IVM e, depois, no último dia de avaliação.

3.3.3 Coleta de sangue

O sangue dos bovinos foi coletado por punção da veia jugular, sempre no período matutino, entre 8:00 e 9:00h. A coleta foi realizada com BD Vacutainer® sem anticoagulante para obtenção do soro, e com anticoagulante para obtenção do sangue total. Para coleta os animais foram contidos em tronco de contenção (Figura 7).

Figura 7. Animal contido no momento da coleta de sangue da veia jugular.

Fonte: (FONSECA, 2019).

3.3.4 Dosagem de enzimas, componentes sanguíneos e hemograma

As amostras de sangue coletadas em tubos com anticoagulante foram mantidas refrigeradas e posteriormente utilizadas para realização do hemograma em contador automático de células (Vet ABC® *Animal Blood Counter* – Horiba).

O soro obtido das coletas de sangue dos animais foi usado para realização da dosagem dos níveis séricos de glicose, colesterol, creatinina, ureia, albumina, proteína total, fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT), empregando-se, para tal, kits comerciais específicos (Bioclin®) e analisador automático de bioquímica (Celm®- SAB-200).

3.3.5 Obtenção do plasma para extração de ivermectina

As amostras de sangue coletadas em tubos com anticoagulante foram mantidas refrigeradas e centrifugadas a 3500rpm por 15min para obtenção do plasma, em até, no máximo, duas horas após a coleta. Após a centrifugação, o plasma foi armazenado em tubos *safe-lock* (Eppendorf®) (Figura 8) e mantidos à temperatura de -80°C para posterior extração de IVM utilizando-se, para tal, a metodologia de RÜBENSAM et al, 2013.

Figura 8. Sangue centrifugado e armazenado em tubos *safe-lock* (Eppendorf®) para ser mantido em temperatura de -80°C até a extração da IVM

Fonte: (FONSECA, 2019).

3.3.6 Método de extração da IVM

Foram realizados os métodos descritos a seguir.

3.3.6.1 Padrões e reagentes

Os padrões de IVM e benzoato de emamectina (EMA) com pureza superior a 81% foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

A acetonitrila (ACN) e ácido acético grau de HPLC foram adquiridos da J.T. Baker Phillipsburg, NJ, EUA). O acetato de amônio foi obtido da Mallinckrodt-Baker

(Phillipsburg, NJ, EUA). Soluções estoque individuais na concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ foram preparadas por dissolução de 10 mg de base IVM e do padrão sólido em 10 mL de ACN. As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição de alíquotas da solução de fortificação ($1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) em ACN para a obtenção das concentrações para os pontos inferiores a 25 ng mL^{-1} da curva de calibração. Para as concentrações superiores utilizou-se a solução intermediária ($10 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$). O mesmo foi aplicado ao padrão interno (EMA). As concentrações das soluções de trabalho de ivermectina obtidas por diluição sequencial para atender a faixa de trabalho de 0,5 a 100 ng mL^{-1} , distribuídos em 9 pontos. A concentração da solução de trabalho do PI foi de 5 ng mL^{-1} . Para a curva de calibração foram adicionados 10 μL de cada uma das respectivas soluções.

Todas as soluções padrão foram armazenadas a -20°C em um tubo de polipropileno.

3.3.6.2 Análise LC-MS / MS para detecção do composto marcador

3.3.6.3 Validação da metodologia

A validação para extensão de escopo do método usando LC-MS/MS, para a matriz plasma, foi realizada de acordo com o Manual de Garantia da Qualidade Analítica (MGQA) do MAPA, sendo adaptado a partir de Rubensam e colaboradores, método acreditado pela Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro (Cgcre) à ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017. As características de desempenho avaliadas foram seletividade, especificidade, precisão, exatidão e recuperação. Além disso, a linearidade, limite de quantificação (LOQ) e precisão do método (em termos de precisão intra e inter-dia, expresso como coeficiente de variação CV%) também foram determinados.

3.3.6.3.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada através da comparação dos cromatogramas de amostras brancas de plasma, verificando possíveis interferentes endógenos no tempo de retenção do analito de interesse e padrão interno. Para confirmar a seletividade do

método, nenhum pico com área superior a 20% da área do limite inferior de quantificação pode ser observado nos respectivos tempos de retenção dos fármacos (BRASIL, 2012).

3.3.6.3.2 Linearidade e Limite de Quantificação

Para definir a relação entre concentração/resposta e linearidade do método, foram preparadas seis curvas analíticas contendo dez níveis de concentração para a ivermectina (0; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 75; e 100 ng/mL) com concentração de padrão interno (Emamectina) de 5 ng/mL.

De acordo com MGQA, os critérios de aceitação de desvio menor ou igual a 20% para o LOQ e de 15% para demais concentrações em relação ao valor nominal, com coeficientes de determinação superiores a 0,99.

A linearidade foi realizada estudando-se a significância da regressão e o desvio de linearidade das curvas de calibração *em matriz aplicando* análise de variância, considerando-se $p < 0,05$ como significativo. Os resultados suportam homogeneidade de variância (homoscedasticidade) na faixa de trabalho definida no estudo.

O limite de quantificação foi calculado de maneira experimental, respeitando os requisitos de resposta superior a 10 vezes a razão sinal/ruído ($LOQ = 10 \times S/N$) e variação máxima de 20%. O LOQ obtido foi de 0,5 ng/mL.

3.3.6.3.3 Precisão e Exatidão

A precisão do método (precisão intra e inter-dia) foi avaliada utilizando três níveis de concentração de amostra controle de qualidade em dois dias consecutivos, designado como controle de qualidade baixo (CQB), médio (CQM) e alto (CQA), em seis determinações para cada nível, contemplando a faixa de calibração da curva analítica. Os resultados para precisão foram expressos em coeficiente de variação (CV%), não se admitindo valores superiores a 15%, exceto para o LOQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%.

A exatidão também foi determinada em dois dias consecutivos utilizando amostras do LOQ, CQB, CQM e CQA. Para determinar a exatidão do método foi avaliado o grau de concordância entre os resultados obtidos pelo ensaio e os valores nominais, que não devem exceder 20% para o LOQ e 15% para os outros pontos. A

exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. Os valores de precisão intra-dia foram de 5,1%, inter-dia 8.8% e exatidão entre -12 e 8%.

3.3.6.4 Preparação das amostras

Foram utilizadas alíquotas de 300 µL de plasma. A extração foi realizada pelo método de precipitação com a acetonitrila. Visando obter a melhor condição de extração e remoção de interferentes de matriz, foram adicionadas alíquotas sequencias de acetonitrila seguidas de agitação vigorosa em vórtex por cerca de 15s. Alíquotas de 100 µL foram adicionadas em três etapas seguidas de uma alíquota de 300 µL. Cada adição seguida de agitação em vórtex. Para obtenção do extrato, foi realizada centrifugação à 12.000 xg por 10 minutos à temperatura de 5°C. Um volume de cerca de 700 µL foi transferido para vials e submetido à análise por LC-MS/MS.

3.3.6.5 Detecção da 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a}

As análises foram realizadas utilizando um sistema de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *Tandem* (LC-MS/MS). O sistema é composto por cromatógrafo líquido Agilent, modelo 1260 Infinity II (Santa Clara, CA, EUA) equipado com bomba quaternária, desgaseificador, amostrador automático, e forno de coluna, acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo, *Applied Biosystems*, modelo API 5000 (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA) com fonte de ionização por *eletrospray* (ESI), operando no modo positivo. Os parâmetros dependentes da fonte otimizados foram: voltagem do capilar (*ionspray voltage*), temperatura da fonte, gás de colisão (*collision gas*, CAD), gás de nebulização (*nebulizer gas*, GS1), gás de secagem (*dryer gas*, GS2), sendo os valores utilizados 4500 V, 500° C, 6psi, 55 psi, 55 psi, respectivamente. Os parâmetros dependentes do composto otimizados foram voltagem no orifício de entrada (*declustering potential*, DP), potencial de entrada (*entrance potential*, EP), energia de colisão (*collision energy*, CE) e potencial de saída da célula de colisão (*collision cell exit potential*, CXP) sendo o tempo de permanência (*dwell time*) de 200 ms. Os íons foram monitorados no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM) sendo 892,5>307,3 (DP 71V;

CE 33V; EP 10V; CXP 34V) e 892,5>569,4 (DP 71V; CE 24V; EP 10V; CXP 20V) as transições de quantificação e confirmação da IVM, respectivamente. Para o padrão interno EMA 886,1>158,0 (DP 76V; CE 57V; EP 10V; CXP 24V).

A separação foi realizada em uma coluna Phenomenex Luna C18 (50 mm x 2 mm, i.d., 3 μ m), precedida por uma coluna de guarda (4mm x 3 mm i.d.) com o mesmo material (Phenomenex, Torrance, CA, EUA), usando fase móvel consistindo em água (A), ACN (B), ambos contendo 5 mM de acetato de amônio e 0,1% de ácido acético, em modo gradiente, fluxo de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente foi programado para começar com uma composição de fase móvel de 20% de B, aumentando para 100% em 1 min, permanecendo até 3,5 min retornando a condição inicial em 4 min e permanecendo até 6 min. O volume de injeção foi de 10 μ L e a coluna mantida a 40°C.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado em três etapas, nas quais foram comparadas a farmacocinética da IVM: entre raças, entre gêneros e entre duas diferentes concentrações desta avermectina.

3.4.1 Experimento 1: Determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre raças

Foram empregados 21 bovinos machos inteiros, sendo nove animais, *Bos indicus*, PO, da raça Tabapuã, sete PO, *Bos taurus* (Angus), e cinco meio sangue Angus x Nelore. Estes animais foram separados em três grupos por raças, e mantidos conforme descrito no item 3.1. No dia da administração da IVM e no final do experimento, os animais foram submetidos a avaliação clínica e do ganho de peso conforme item 3.3.2.

Com o objetivo de atestar a sanidade dos animais antes do início do experimento, foi realizada a avaliação coproparasitológica, conforme descrito no item 3.3.1 e dosagem de enzimas, componentes sanguíneos e hemograma (item 3.3.4).

Após estes procedimentos, os animais receberam a IVM 1%, como descrito no item 3.2. Ainda, coletou-se o sangue dos bovinos (item 3.3.3) para obtenção do

plasma para dosagem dos níveis de IVM conforme descrição apresentada no item 3.3.5. A Figura 9 ilustra o procedimento experimental realizado.

3.4.2 Experimento 2: Determinação da farmacocinética da ivermectina: comparação entre gêneros

Foram empregados 22 bovinos meio sangue *Angus* x *Nelore*. Estes animais foram separados em dois grupos por gênero (machos e fêmeas), sendo que os machos castrados e os tourinhos permaneceram no mesmo lote, e suas identificações foram realizadas por marcas numéricas em brincos próprios para a espécie. Mantidos conforme item 3.1, no dia da administração da IVM e no final do experimento, os animais foram submetidos a avaliação clínica e do ganho de peso conforme item 3.3.2.

Com o objetivo de atestar a sanidade dos animais antes do início do experimento, foi realizada a avaliação coproparasitológica, conforme descrito no item 3.3.1 e dosagem de enzimas, componentes sanguíneos e hemograma (item 3.3.4).

Após estes procedimentos, os animais receberam a ivermectina 1%, conforme descrito no item 3.2. Ainda, coletou-se o sangue dos bovinos (item 3.3.3) para obtenção do plasma para dosagem dos níveis de ivermectina conforme o item 3.3.5. A Figura 10 ilustra o procedimento experimental realizado.

3.4.3 Experimento 3: Determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre concentração do medicamento (1% e 3,15%)

Foram selecionadas 19 novilhas *Bos indicus*, PO, da raça Nelore, separadas em dois grupos, considerando-se a concentração do medicamento. Essas fêmeas foram mantidas conforme apresentado no item 3.1. No dia da administração da IVM e no final do experimento, os animais foram submetidos a avaliação clínica e do ganho de peso conforme item 3.3.2.

Com o objetivo de atestar a sanidade dos animais antes do início do experimento, foi realizada a avaliação coproparasitológica, conforme descrito no item 3.3.1 e a retirada de sangue para a dosagem de enzimas, componentes sanguíneos e hemograma (item 3.3.4).

Após estes procedimentos, os animais receberam a IVM 1% e 3,15%, conforme descrito no item 3.2. O sangue dos bovinos foi coletado (item 3.3.3), em diferentes períodos, para obtenção do plasma para realizar a dosagem dos níveis de IVM conforme o item 3.3.5. A Figura 11 ilustra o procedimento experimental realizado.

Figura 9. Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre raças Fonte: (FONSECA, 2019).

1ª etapa : **Machos Tabapuã n=09**
Machos Angus n=07
Machos Mestiços n= 05

LEGENDA

- Pesagem, coleta de fezes, coleta de sangue para análise bioquímica e hematológica seguida de administração de ivermectina.
- Coleta de sangue para obtenção do plasma.
- Coleta de sangue para análise bioquímica e hematológica, obtenção do plasma e pesagem.

Figura 10. Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre gêneros (machos castrados, machos inteiros e fêmeas). Fonte: (FONSECA, 2019).

2ª etapa : **Fêmeas ½ sangue n=10**
Machos castrado ½ sangue n=7
Machos inteiros ½ sangue n=5

LEGENDA

- Pesagem, coleta de fezes, coleta de sangue para análise bioquímica e hematológica seguida de administração de ivermectina.
- Coleta de sangue para obtenção do plasma.
- Coleta de sangue para análise bioquímica e hematológica, obtenção do plasma e pesagem.

Figura 11. Ilustração do procedimento experimental para determinação da farmacocinética da IVM: comparação entre concentração do medicamento. Fonte: (FONSECA, 2019).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados estão apresentados na forma de médias seguidas por seus respectivos erros-padrão da média. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SAS (*Version 9.2, SAS Institute, Cary, NC*). A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada capaz de revelar diferenças significantes entre os grupos.

Os dados referentes níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a foram analisados por um modelo linear misto por procedimento *MIXED* (*PROC MIXED*), sendo cada animal determinado como uma unidade fixa, e os demais fatores como variáveis (WOLFINGER; CHANG, 1996). Foi aplicado um teste de variância ANOVA para verificar se havia interação significativa ($P < 0,05$) entre tratamento e tempo. A opção PDIFF foi utilizada para localizar as interações significantes (SAS, 2004).

Para análise dos dados referentes às avaliações farmacocinéticas, comparação entre raças e comparação entre gêneros, foi realizado o teste de Bartlett, com o objetivo de verificar a homocedasticidade dos dados (GAD; WEIL, 1989). Após comprovar que todos os dados eram paramétricos foi empregada a análise de variância ANOVA (SNEDCOR, 1946) para a comparação das médias entre os vários grupos. Para a detecção de diferenças significantes entre os grupos, foi utilizado como teste posterior à ANOVA o teste *post hoc* de Tukey. Para análise dos dados referentes às avaliações farmacocinéticas, comparação entre concentrações, foi empregado o teste t de *Student*.

4 REULTADOS

Os resultados de cada variável estudada, pertinente aos animais, serão apresentados em forma de tabelas. Caso o resultado tenha efeito estatístico significativo, o mesmo será também apresentado em forma de gráfico, a fim de proporcionar uma melhor visualização do comportamento do fenômeno observado.

4.1 EXPERIMENTO 1: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE RAÇAS

4.1.1 Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso

O exame clínico realizado no início do experimento não revelou nenhuma alteração digna de nota na frequência cardíaca e respiratória, temperatura corpórea, movimentos ruminais e coloração de mucosas nos bovinos. A Tabela 1 mostra os dados relativos ao peso médio inicial, final e ganho de peso total no período experimental dos animais: Tabapuã, Angus e meio-sangue, tratados com IVM 1% e avaliados durante 42 dias.

Tabela 1 - Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso total (kg) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Grupos	Peso Inicial	Peso Final	Ganho de peso total
Tabapuã (9)ⁿ	490,2 ± 12,2	557,5 ± 13,6	2,1 ± 0,4
Angus (7)	280,7 ± 13,8	289,8 ± 14,1	0,2 ± 0,1
Meio-sangue(5)	463,0 ± 13,5	488,5 ± 42,7	0,6 ± 0,2

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019).

O exame coproparasitológico, realizado antes do início do delineamento experimental, evidenciou infecção de grau leve nos bovinos Tabapuã e meio sangue Angus x Nelore, e de grau moderado nos bovinos Angus (Tabela 2). No que se refere à avaliação bioquímica e hematológica, verificou-se flutuações de alguns parâmetros, mas os valores mantiveram-se dentro da normalidade para a espécie (Tabelas 3 e 4).

Tabela 2 – Média e erro padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes de serem submetidos ao tratamento com ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg.

Grupos	OPG
Tabapuã (9)ⁿ	94,44 ± 25,61
Angus (7)	407,14 ± 159,77
Meio sangue (5)	70,00 ± 33,91

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável.
Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 3 – Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Parâmetros	Tabapuã (9) ⁿ		Angus (7)		Meio-sangue (5)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Proteína	7,2 ± 0,2	7,0 ± 0,2	6,9 ± 0,2	6,9 ± 0,2	5,3 ± 0,2	5,7 ± 0,2
Albumina	1,4 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Colesterol	132,2 ± 10,2	88,7 ± 13,2	155,0 ± 12,6	150,1 ± 10,2	121,6 ± 12,5	125,2 ± 21,3
Glicose	45,0 ± 2,0	43,2 ± 2,5	44,0 ± 4,0	46,7 ± 1,5	61,0 ± 4,1	61,4 ± 8,2
AST	88,1 ± 4,8	100,7 ± 20,8	77,9 ± 4,9	70,0 ± 5,9	136,0 ± 37,5	85,2 ± 4,7
GGT	10,4 ± 0,7	10,4 ± 0,7	10,9 ± 0,6	12,3 ± 0,6	22,4 ± 3,4	25,8 ± 4,7
FA	113,3 ± 17,8	90,0 ± 15,7	261,0 ± 17,3	207,9 ± 6,3	316,6 ± 44,8	303,0 ± 44,8
Ureia	8,9 ± 1,1	9,0 ± 1,8	19,9 ± 2,1	29,5 ± 2,2	44,7 ± 2,6	37,4 ± 3,4
Creatinina	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,2	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,2 ± 0,3	2,2 ± 0,6

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 4 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Parâmetros	Tabapuã (9) ⁿ		Angus (7)		Meio-sangue (5)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Hematócrito (%)	38,5 ± 0,6	34,1 ± 1,3	28,8 ± 1,1	26,5 ± 1,0	42,3 ± 1,5	42,3 ± 2,1
Eritrócitos (x10 ⁶ /mm ³)	9,5 ± 0,2	8,2 ± 0,2	8,0 ± 0,4	7,0 ± 0,3	10,2 ± 0,5	10,0 ± 0,9
Hemoglobina (g/dL)	10,9 ± 0,1	10,1 ± 0,3	8,7 ± 0,3	8,4 ± 0,2	12,3 ± 0,5	12,7 ± 0,6
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	353,7 ± 18,7	266,8 ± 21,3	297,3 ± 32,4	358,6 ± 16,4	288,0 ± 50,9	310,8±40,1
VCM (µm ³)	40,8 ± 1,0	41,3 ± 1,3	36,3 ± 0,6	37,7 ± 0,7	41,6 ± 1,9	42,4 ± 1,9
HCM (pg)	11,6 ± 0,3	12,3 ± 0,3	10,9 ± 0,2	12,0 ± 0,2	12,2 ± 0,8	12,8 ± 0,6
CHCM (g/dL)	28,5 ± 0,3	29,8 ± 0,2	30,4 ± 0,3	31,9 ± 0,3	29,1 ± 0,9	29,9 ± 0,2
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	14,4 ± 0,9	9,9 ± 0,5	9,8 ± 0,8	9,9 ± 0,7	11,9 ± 0,7	8,3 ± 0,4
Linfócito (mm ³)	7492,4 ± 564,8	7177,2 ± 571,5	6931,3 ± 511,1	6441,3 ± 475,5	8052,2 ± 684,0	5150,2 ± 390,2
Eosinófilo (mm ³)	463,4 ± 241,6	176,4 ± 28,6	892,1 ± 204,8	371,9 ± 116,6	484,4 ± 41,8	362,2 ± 115,5
Monócito (mm ³)	237,3 ± 39,5	120,3 ± 15,4	230,9 ± 42,7	164,1 ± 29,6	456,0 ± 60,8	297,8 ± 41,7
Segmentado (mm ³)	2984,6 ± 786,6	2381,6 ± 410,6	6002,9 ± 708,4	3008,4 ± 323,7	2887,4 ± 274,8	2509,8 ± 364,9

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. VCM = Volume corpuscular médio, HCM = Hemoglobina corpuscular média, CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média. Fonte: (FONSECA, 2019).

4.1.2 Avaliação farmacocinética

A Tabela 5 mostra e a Figura 12 ilustra os níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos animais Tabapuã, Angus e meio-sangue, tratados com ivermectina 1%. Assim, a análise de variância revelou efeito significativo da interação tratamento x tempo nos dados obtidos entre os diferentes grupos ($F=2,26$; $df=2/18$ e $p<0,05$). A aplicação do teste PDIFF detectou um aumento significativo ($p<0,05$) neste parâmetro nas coletas dos dias 1, 3, 7, 11, 14 e 18 nos animais Angus, quando comparados com os animais Tabapuã. Ainda, os animais Angus apresentaram níveis significativamente maiores ($p<0,05$) que os animais meio sangue nas coletas dos dias 1, 7 e 11. Já os bovinos Tabapuã apresentaram níveis significativamente menores ($p<0,05$) que os animais meio sangue nos dias 7, 14 e 18.

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, as análises de variância revelaram não haver diferenças significantes ($p>0,05$) para as variáveis T_{max} , K_{el} , Cl e volume de distribuição (V_d) deste composto, em todos os bovinos avaliados (Tabela 6). Por outro lado, considerando-se a C_{max} , ASC e meia-vida de eliminação ($T_{1/2\beta}$), as análises de variância aplicadas revelaram diferenças significantes entre os grupos ($F=5,9$, $F=3,5$ e $F=3,8$ respectivamente; $df=2/18$ e $p<0,05$). A aplicação subsequente do teste de Tukey detectou aumento significativo ($p<0,05$) na C_{max} , ASC e $T_{1/2\beta}$ dos animais Tabapuã quando comparados com os animais Angus (Figura 13).

Tabela 5 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário.

Dias	Tabapuã (9) ⁿ	Angus (7)	Meio-sangue (5)
0	0,23 ± 0,09	0,36 ± 0,07	1,92 ± 1,09
1	25,91 ± 4,50 ^a	18,74 ± 3,02 ^b	18,50 ± 2,96 ^b
3	32,95 ± 4,94 ^a	25,08 ± 3,34 ^b	30,77 ± 3,81 ^{ab}
7	38,92 ± 3,69 ^a	18,59 ± 2,25 ^b	27,89 ± 4,34 ^c
11	33,28 ± 4,77 ^a	13,23 ± 1,01 ^b	17,80 ± 3,55 ^b
14	18,41 ± 1,30 ^a	5,81 ± 0,33 ^b	13,84 ± 1,66 ^a
18	9,95 ± 1,26 ^a	3,18 ± 0,43 ^b	8,31 ± 1,69 ^{ab}
21	7,18 ± 1,16	2,32 ± 0,27	5,29 ± 1,23
25	5,40 ± 0,69	1,22 ± 0,38	3,25 ± 0,88
28	2,60 ± 0,36	0,75 ± 0,23	2,15 ± 0,48
32	3,47 ± 0,44	0,73 ± 0,21	1,74 ± 0,51
35	2,45 ± 0,33	0,31 ± 0,12	1,43 ± 0,56
39	1,44 ± 0,24	0,35 ± 0,14	1,23 ± 0,40
42	1,39 ± 0,32	0,20 ± 0,07	0,97 ± 0,29

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. ^{a,b,c} Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; ANOVA seguida de PDIFF). Fonte: (FONSECA, 2019).

Figura 12 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos machos Tabapuã, Angus e meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário. ^{a,b,c} Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si ($P>0,05$; ANOVA seguida de PDIFF). Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 6 – Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de bovinos machos, Tabapuã, Angus e Meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. Fonte: (FONSECA, 2019).

Parâmetros	Angus (7) ⁿ	Tabapuã (9)	Meio sangue (5)
Cmax (ng/mL)	25,84 ± 3,18 ^a	44,49 ± 4,03 ^b	30,99 ± 3,99 ^{ab}
Tmax (d)	4,71 ± 0,81	6,25 ± 1,31	3,80 ± 0,80
ASC (ng/mL)	276,1 ± 14,7 ^a	590,3 ± 45,4 ^b	426,6 ± 63,7 ^{ab}
Kel (h⁻¹)	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Cl (L/h)	360,70 ± 44,52	266,08 ± 21,13	362,23 ± 56,76
t1/2β (d)	4,61 ± 0,45 ^a	6,17 ± 0,36 ^b	5,9 ± 0,54 ^{ab}
Vd (L)	2329,43 ± 261,41	2386,44 ± 266,41	3116,28 ± 360,46

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Cmax = concentração máxima, Tmax = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, Kel = constante da velocidade de eliminação, Cl = depuração ou *clearance*, t1/2β = meia-vida de eliminação, Vd = volume de distribuição. ^{a,b} Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; ANOVA seguida de Tukey)

Figura 13 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de bovinos machos, Tabapuã, Angus e Meio-sangue Angus x Nelore, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. ^{a,b} Médias e erros seguidos por letras diferentes, se diferem entre si ($P < 0,05$). Cmax = concentração máxima, Tmax = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, $t_{1/2\beta}$ = meia-vida de eliminação. Fonte: (FONSECA, 2019; ANOVA seguida de Tukey).

4.2 EXPERIMENTO 2: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE GÊNEROS

4.2.1 Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso

O exame clínico realizado no início do experimento não revelou nenhuma alteração digna de nota na frequência cardíaca e respiratória, temperatura corpórea, movimentos ruminais e coloração de mucosas nos bovinos. A Tabela 7 mostra os dados relativos ao peso médio inicial, final e ganho de peso de bovinos meio-sangue *Angus x Nelore*, fêmeas, machos castrados e machos inteiros avaliados durante 42 dias.

Tabela 7- Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso total (kg) dos bovinos meio-sangue *Angus x Nelore*, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Grupos	Peso Inicial	Peso Final	Ganho de peso total
Fêmeas(10)ⁿ	353,2 ± 12,2	380,4 ± 12,9	0,6 ± 0,1
Machos castrados (7)	370,7 ± 13,5	387,6 ± 13,3	0,4 ± 0,1
Machos inteiros (5)	463,0 ± 13,5	488,5 ± 42,7	0,6 ± 0,2

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019)

O exame coproparasitológico evidenciou grau de infecção leve em todos animais (Tabela 8). No que se refere à avaliação bioquímica e hematológica, verificou-se flutuações de alguns parâmetros, mas os valores mantiveram-se dentro da normalidade para a espécie (Tabelas 9, e 10).

Tabela 8 – Média e erro padrão do numero de ovos por grama de fezes (OPG) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg.

Grupos	OPG
Fêmeas (10)ⁿ	90,0 ± 14,5
Machos castrados (7)	50,0 ± 26,7
Machos inteiros (5)	70,00 ± 33,91

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável.
Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 9 – Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Parâmetros	Fêmeas (10) ⁿ		Machos castrados (7)		Machos inteiros (5)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Proteína	5,4 ± 0,1	5,5 ± 0,2	5,0 ± 0,1	5,6 ± 0,4	5,3 ± 0,2	5,7 ± 0,2
Albumina	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Colesterol	143,6 ± 12,0	142,2 ± 11,3	131,4 ± 8,1	146,0 ± 17,5	121,6 ± 12,5	125,2 ± 21,3
Glicose	46,0 ± 4,6	56,4 ± 2,0	50,3 ± 6,6	60,4 ± 8,7	61,0 ± 4,1	61,4 ± 8,2
AST	89,6 ± 3,4	68,8 ± 6,0	85,0 ± 3,2	70,4 ± 2,7	136,0 ± 37,5	85,2 ± 4,7
GGT	28,3 ± 1,6	29,2 ± 1,3	27,4 ± 1,8	29,0 ± 1,4	22,4 ± 3,4	25,8 ± 4,7
FA	333,8 ± 31,5	296,8 ± 29,7	308,6 ± 19,7	272,7 ± 27,4	316,6 ± 44,8	303,0 ± 44,8
Uréia	49,6 ± 2,0	37,7 ± 2,1	57,0 ± 2,3	24,3 ± 6,5	44,7 ± 2,6	37,4 ± 3,4
Creatinina	2,7 ± 0,0	2,9 ± 0,0	2,7 ± 0,1	3,0 ± 0,0	2,2 ± 0,3	2,2 ± 0,6

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 10 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, antes e 42 dias após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. Período experimental de 42 dias.

Parâmetros	Fêmeas (10) ⁿ		Machos castrados (7)		Machos inteiros(5)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Hematócrito (%)	41,6 ± 1,0	40,9 ± 1,1	36,8 ± 2,2	41,7 ± 2,1	42,3 ± 1,5	42,3 ± 2,1
Eritrócitos (x10⁶/mm³)	10,4 ± 0,2	9,9 ± 0,2	9,4 ± 0,5	10,1 ± 0,4	10,2 ± 0,5	10,0 ± 0,9
Hemoglobina (g/dL)	12,7 ± 0,3	12,5 ± 0,3	10,6 ± 0,5	12,6 ± 0,6	12,3 ± 0,5	12,7 ± 0,6
Plaquetas (x10³/mm³)	41,6 ± 1,0	40,9 ± 1,1	36,8 ± 2,2	41,7 ± 2,1	42,3 ± 1,5	42,3 ± 2,1
VCM (µm³)	324,1 ± 21,9	316,7 ± 40,6	329,3 ± 40,5	344,3 ± 47,0	288,0 ± 50,9	310,8 ± 40,1
HCM (pg)	12,2 ± 0,3	12,7 ± 0,3	11,4 ± 0,6	12,5 ± 0,5	12,2 ± 0,8	12,8 ± 0,6
CHCM (g/dL)	30,4 ± 0,2	30,5 ± 0,1	29,1 ± 1,1	30,2 ± 0,2	29,1 ± 0,9	29,9 ± 0,2
Leucócitos (x10³/mm³)	10,2 ± 0,6	9,8 ± 0,6	9,8 ± 0,7	10,3 ± 1,2	11,9 ± 0,7	8,3 ± 0,4
Linfócito (mm³)	7760,7 ± 402,8	7067,9 ± 413,5	6945,9 ± 797,1	6693,6 ± 630,0	8052,2 ± 684,0	5150,2 ± 390,2
Eosinófilo (mm³)	364,7 ± 112,1	436,9 ± 93,4	210,1 ± 54,1	758,3 ± 265,1	484,4 ± 41,8	362,2 ± 115,5
Monócito (mm³)	109,7 ± 34,4	323,6 ± 41,4	250,9 ± 83,4	284,6 ± 43,5	456,0 ± 60,8	297,8 ± 41,7
Segmentado (mm³)	1944,9 ± 316,4	2021,6 ± 138,6	2402,6 ± 419,5	2563,6 ± 338,3	2887,4 ± 274,8	2509,8 ± 364,9

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. VCM = Volume corpuscular médio, HCM = Hemoglobina corpuscular média, CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média. Fonte: (FONSECA, 2019).

4.2.2 Avaliação farmacocinética

A Tabela 11 mostra e a Figura 14 ilustra os níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a. A análise de variância revelou efeito significativo da interação tratamento x tempo nos dados obtidos entre os diferentes grupos ($F=4,1$; $df=2/20$ e $p<0,05$). A aplicação do teste PDIFF detectou um aumento significativo ($p<0,05$) neste parâmetro nas coletas dos dias 7 e 11 nas fêmeas quando comparados com os animais macho. Ainda, as Fêmeas apresentaram níveis significativamente maiores ($p<0,05$) que aqueles machos nas coletas dos dias 7 e 11.

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, as análises de variância revelaram não haver diferenças significantes ($p>0,05$) para as variáveis C_{max} , T_{max} , ASC e $T_{1/2\beta}$, deste composto, em todos os bovinos avaliados (Tabela 12 e Figura 15).

Tabela 11 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, após a administração de ivermectina 1%, por via subcutânea (SC), na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário.

Dias	Fêmeas (10) ⁿ	Machos castrados (7)	Machos inteiros(5)
0	0,47 ± 0,13	0,44 ± 0,29	1,92 ± 1,09
1	16,07 ± 1,46	15,91 ± 2,36	18,50 ± 2,96
3	33,25 ± 5,47	32,99 ± 4,40	30,77 ± 3,81
7	36,02 ± 3,85 ^a	29,42 ± 2,47 ^b	27,89 ± 4,34 ^b
11	24,44 ± 1,82 ^a	16,43 ± 2,53 ^b	17,80 ± 3,55 ^b
14	13,77 ± 1,30	9,01 ± 1,65	13,84 ± 1,66
18	6,81 ± 0,91	4,14 ± 0,75	8,31 ± 1,69
21	5,59 ± 0,61	3,32 ± 0,51	5,29 ± 1,23
25	2,94 ± 0,30	1,93 ± 0,47	3,25 ± 0,88
28	2,21 ± 0,29	1,63 ± 0,39	2,15 ± 0,48
32	1,23 ± 0,17	0,75 ± 0,19	1,74 ± 0,51
35	0,63 ± 0,11	0,42 ± 0,09	1,43 ± 0,56
39	0,43 ± 0,08	0,41 ± 0,17	1,23 ± 0,40
42	0,40 ± 0,08	0,27 ± 0,09	0,97 ± 0,29

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. ^{a,b} Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; Anova seguido de PDIFF). Fonte: (FONSECA, 2019).

Figura 14 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas (MSF), machos castrados (MSC) e machos inteiros (MSM), que receberam ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário ^{a,b} Médias e erros seguidos por letras iguais na mesma linha, não diferem entre si (P>0,05; ANOVA seguido de PDIFF). Fonte: (FONSECA, 2019).

22,23 Dihidroavermectina-B 1a

Tabela 12 – Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. Fonte: (FONSECA, 2019).

Parâmetros	MSF (10) ⁿ	MSC (7)	MSM (5)
C_{max} (ng/mL)	40,73 ± 5,03	38,50 ± 1,88	30,99 ± 3,99
T_{max} (d)	6,20 ± 0,80	4,14 ± 0,74	3,80 ± 0,80
ASC (ng/mL)	471,8 ± 39,0	374,0 ± 20,3	426,4 ± 63,7
K_{el} (h⁻¹)	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Cl (L/h)	282,19 ± 42,85	280,20 ± 17,96	362,23 ± 56,76
T_{1/2β} (d)	5,01 ± 0,23	4,88 ± 0,28	6,28 ± 0,81
V_d (L)	1943,94 ± 220,43	1963,58 ± 143,40	3116,28 ± 360,46

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. C_{max} = concentração máxima, T_{max} = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, K_{el} = constante da velocidade de eliminação, Cl = depuração ou *clearance*, t_{1/2β} = meia-vida de eliminação, V_d = volume de distribuição.

Figura 15 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos bovinos meio-sangue Angus x Nelore, fêmeas, machos castrados e machos inteiros, que receberam, ivermectina 1%, por via SC, na dose de 200 µg/kg. As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2,3,7,11,14,18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 dias após a administração do antiparasitário. Cmax = concentração máxima, Tmax = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, t1/2β = meia-vida de eliminação. Fonte: (FONSECA, 2019).

4.3 EXPERIMENTO 3: DETERMINAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DA IVM, COMPARAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DO MEDICAMENTO (1% E 3,15%)

4.3.1 Avaliação clínica, coproparasitológica, bioquímica, hematológica e do peso

O exame clínico realizado no início do experimento não revelou nenhuma alteração digna de nota na frequência cardíaca e respiratória, temperatura corpórea, movimentos ruminais e coloração de mucosas nos bovinos. A Tabela 13 mostra os dados relativos ao peso inicial, peso final e ganho de peso diário de bovinos da raça Nelore fêmeas que receberam IVM na concentração de 1% ou 3,15%, avaliadas durante 42 ou 147 dias.

Tabela 13- Média e erro padrão do peso inicial, peso final e ganho de peso diário (kg) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), Período experimental de 42 dias para o grupo IVM 1% e 147 dias para o grupo IVM 3,15%.

Grupos	Peso Inicial	Peso Final	Ganho de peso diário
IVM 1% (10)ⁿ	331,5 ± 8,10	361,5 ± 9,0	0,7 ± 0,2
IVM 3,15% (9)	325,67 ± 6,6	386,67 ± 8,4	0,4 ± 0,03

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019).

O exame coproparasitológico evidenciou grau de infecção leve em todos animais (Tabela 14). No que se refere à avaliação bioquímica e hematológica, verificou-se flutuações de alguns parâmetros, mas os valores mantiveram-se dentro da normalidade para a espécie (Tabelas 15 e 16).

Tabela 14 – Média e erro padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) de fêmeas Nelore, antes de serem submetidos ao tratamento com ivermectina (IVM) 1% ou 3,15%, por via subcutânea (SC).

Grupos	OPG
IVM 1% (10)ⁿ	125 ± 35,16
IVM 3,15% (9)	93,75 ± 15,96

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável.
Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 15 – Média e erro padrão dos níveis séricos de proteína (g/L), albumina (g/L), colesterol (mg/dL), glicose (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST; u/L), gama glutamil transferase (GGT; u/L), fosfatase alcalina (FA; u/L), ureia (mg/dL) e creatinina (mg/dL), de fêmeas Nelore, antes e 42 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg); antes e 147 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg).

Parâmetros	IVM 1% (10) ⁿ		IVM 3,15% (9)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Proteína	6,3 ± 0,1	6,9 ± 0,3	6,8 ± 0,2	5,4 ± 3,4
ALB	1,4 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,48 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Colesterol	184,4 ± 14,8	178,7 ± 10,2	208,4 ± 16,5	158,0 ± 5,9
Glicose	61,4 ± 5,1	79,1 ± 9,1	102,9 ± 8,8	63,4 ± 5,6
AST	123,7 ± 3,2	97,1 ± 4,8	118,3 ± 8,2	85,1 ± 3,4
GGT	8,7 ± 0,4	9,0 ± 0,3	10 ± 0,5	26,4 ± 1,9
FA	260,7 ± 25,3	307,2 ± 23,0	212 ± 12,7	331,8 ± 24,0
Uréia	27,8 ± 1,7	15,9 ± 0,9	26,7 ± 1,3	14,3 ± 4,2
Creatinina	1,4 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2	3,5 ± 0,1

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. Fonte: (FONSECA, 2019).

Tabela 16 - Média e erro padrão dos parâmetros hematológicos dos bovinos fêmeas Nelore, antes e 42 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg); antes e 147 dias após a administração, por via subcutânea, de ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg).

Parâmetros	IVM 1% (10) ⁿ		IVM 3,15% (9)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Hematócrito (%)	42,7 ± 1,2	42,8 ± 1,7	43,4 ± 1,3	43,2 ± 1,6
Eritrócitos (x10 ⁶ /mm ³)	10,7 ± 0,2	10,7 ± 0,3	10,8 ± 0,3	10,5 ± 0,3
Hemoglobina (g/dL)	12,5 ± 0,3	12,5 ± 0,5	12,6 ± 0,4	12,9 ± 0,4
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	337,3 ± 19,3	306,2 ± 27,9	427,7 ± 1,2	269,4 ± 28,5
VCM (µm ³)	39,9 ± 0,9	40,1 ± 0,9	40,3 ± 1,2	40,9 ± 1,2
HCM (pg)	11,7 ± 0,2	11,7 ± 0,2	11,7 ± 0,4	12,2 ± 0,3
CHCM (g/dL)	29,3 ± 0,2	29,3 ± 0,2	29,0 ± 0,2	29,9 ± 0,4
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	13,7 ± 0,7	10,3 ± 0,6	12,3 ± 0,8	10,3 ± 0,7
Linfócito (mm ³)	4874,9 ± 483,2	5263,2 ± 477,6	3560,3 ± 178,7	6019,9 ± 457,9
Eosinófilo (mm ³)	938,0 ± 208,3	652,1 ± 92,2	1348,0 ± 151,7	724,3 ± 101,1
Monócito (mm ³)	436,6 ± 35,3	229,8 ± 34,2	334,3 ± 50,1	188,3 ± 37,8
Segmentado (mm ³)	7450,5 ± 737,2	4174,9 ± 536,6	7070,9 ± 799,1	3345,2 ± 209,9

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. VCM = Volume corpuscular médio, HCM = Hemoglobina corpuscular média, CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média. Fonte: (FONSECA, 2019).

4.3.2 Avaliação farmacocinética

A Tabela 17 mostra e a Figura 16 ilustra os níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a dos bovinos tratados com as diferentes concentrações de ivermectina (1% e 3,15%). Assim, a análise de variância revelou efeito significativo da interação tratamento x tempo nos dados obtidos entre os diferentes grupos ($F=7,8$; $df= 1/17$ $p<0,05$). A aplicação do teste PDIFF detectou um aumento significativo ($p<0,05$) neste parâmetro nas coletas dos dias 1 e 3 nos animais que receberam IVM 1%. Já os animais tratados com IVM 3,15% apresentaram aumento significativo ($p<0,05$) neste parâmetro nas coletas realizadas entre os dias 11 e 42.

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, a aplicação do teste t de Student revelou não haver diferenças significantes ($p>0,05$) para a variável C_{max} deste composto, em todos os bovinos avaliados (Tabela 18). Por outro lado, o teste t de Student revelou aumento significativo ($p<0,05$) na C_{max} , ASC e $T_{1/2\beta}$ dos animais IVM 3,15% quando comparados com os animais IVM 1% ($p<0,05$) (Figura 17).

Tabela 17 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg). As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 1% e 0, 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 49, 56, 63, 70, 77, 84, 98, 105, 112, 119, 126, 133, 140, 144 e 147 dias após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 3,15%.

Dias	IVM 1%	IVM 3,15%
0	5,45 ± 0,63	4,63 ± 0,60
1	70,98 ± 4,52	24,35 ± 2,60*
3	68,94 ± 4,64	35,34 ± 3,99*
7	27,43 ± 3,89	31,79 ± 6,00
11	17,82 ± 2,82	47,11 ± 5,42*
14	13,07 ± 2,20	66,01 ± 7,05*
18	5,19 ± 0,99	39,25 ± 3,75*
21	3,48 ± 0,84	32,70 ± 2,06*
25	3,31 ± 0,71	34,74 ± 2,63*
28	3,05 ± 0,61	32,16 ± 3,86*
32	3,00 ± 0,66	30,98 ± 3,61*
35	1,77 ± 0,30	19,54 ± 2,14*
39	1,70 ± 0,41	14,75 ± 2,01*
42	1,57 ± 0,35	12,77 ± 1,70*
49	-	9,13 ± 2,07
56	-	9,44 ± 1,55
63	-	9,21 ± 1,40
70	-	6,75 ± 1,31
77	-	4,21 ± 0,95
84	-	4,13 ± 1,08
91	-	3,72 ± 0,90
98	-	3,71 ± 0,72
105	-	2,58 ± 0,69
112	-	2,74 ± 0,71
119	-	1,56 ± 0,42
126	-	3,07 ± 0,80
133	-	2,34 ± 0,66
140	-	2,51 ± 0,54
144	-	1,25 ± 0,32
147	-	0,80 ± 0,30

ⁿ Entre parênteses o número de animais estudados. ^{a,b} Médias e erros seguidos por letras diferentes, se diferem entre si (P<0,05; ANOVA seguido de PDIFF). Fonte: (FONSECA, 2019).

Figura 16 – Média e erro padrão dos níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a (ng/mL) de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina, por via subcutânea, na concentração de 1% (IVM1%; dose de 200 µg/kg) ou 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg). As avaliações foram realizadas antes da administração da ivermectina (t=0) em 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 1% e 0, 1, 2, 3, 7, 11, 14, 18, 21, 25, 28, 32, 35, 39 e 42 49, 56, 63, 70, 77, 84, 98, 105, 112, 119, 126, 133, 140, 144 e 147 dias após a administração do antiparasitário para o grupo IVM 3,15%. Fonte: (FONSECA, 2019).

22,23 Dihidroavermectina-B 1a

Tabela 18 – Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg) ou ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), por via subcutânea. Fonte: (FONSECA, 2019).

Parametros	IVM 1% (10) ⁿ	IVM 3,15% (9)
C_{max} (ng/mL)	75,57 ± 4,31	66,22 ± 6,96
T_{max} (d)	1,80 ± 0,33	15,22 ± 1,22*
ASC (ng/mL)	661,4 ± 42,5	1904,0 ± 128,3*
K_{el} (h⁻¹)	0,10 ± 0,01	0,03 ± 0,00
Cl (L/h)	89,97 ± 8,00	105,60 ± 12,98
T_{1/2β} (d)	7,19 ± 0,42	22,84 ± 1,67*
V_d (L)	900,37 ± 49,83	3351,70 ± 331,37

ⁿ Entre parênteses o número de amostras analisadas por variável. C_{max} = concentração máxima, T_{max} = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, K_{el} = constante da velocidade de eliminação, Cl = depuração ou *clearance*, t_{1/2β} = meia-vida de eliminação, V_d = volume de distribuição. *P<0,05 (t de Student).

Figura 17 - Média e erro padrão dos dados farmacocinéticos do 22,23 Dihidroavermectina-B1a de fêmeas Nelore, tratadas com ivermectina 1% (IVM 1%; dose de 200 µg/kg) ou ivermectina 3,15% (IVM 3,15%; dose de 630 µg/kg), por via subcutânea. C_{max} = concentração máxima, T_{max} = tempo de concentração máxima, ASC = área sob a curva, t_{1/2β} = meia-vida de eliminação. *P<0,05 (t de Student). Fonte: (FONSECA, 2019).

5 DISCUSSÃO

O emprego de medicamentos em medicina veterinária enfrenta um grande desafio que é o de tratar uma multiplicidade de animais, muitas vezes de Filos diferentes como, por exemplo, bovinos e abelhas, empregando-se o mesmo princípio ativo. Nesse sentido, a grande e principal dificuldade nesta área não está relacionada à escolha de um determinado medicamento e sim o de se determinar o uso correto dessa substância, no que se refere ao regime de dose (dose, intervalo entre doses, duração do tratamento e modalidade de administração). Acrescente-se a isso que, para aqueles animais de produção, deve-se ainda considerar o período de carência ou de retirada do medicamento, ou seja, tempo necessário para que o resíduo metabólico e/ou o próprio ativo de relevância toxicológica para o ser humano, nos produtos de origem animal, esteja em nível seguro à saúde do consumidor.

Tendo em vista que a administração do medicamento para uma determinada espécie de animal (e muitas vezes raça) depende de sua anatomia, bioquímica, fisiologia, comportamento, bem como a natureza e causa pela qual há a necessidade desse tratamento, é necessário ponderar sobre alguns fatores. Assim, embora os mecanismos de ação farmacológica (isto é, a farmacodinâmica) seja, de maneira geral, similar na maioria dos seres vivos, a intensidade e a duração de seus efeitos normalmente variam, de acordo com a espécie animal considerada. Essas variações estão, de maneira geral, relacionadas ao movimento da substância (medicamento) no interior do organismo vivo, que é denominado de farmacocinética, e que se refere ao estudo de alguns processos que possibilitam que o medicamento atinja seu alvo e promova seu efeito farmacológico (FLÓRIO; SOUSA, GÓRNIK, 2017).

A IVM, um antiparasitário, pertencente ao grupo denominado de lactonas macrocíclicas, é o antiparasitário mais amplamente empregado no Brasil (SINDAN, 2014). Um estudo, objetivando-se verificar os resíduos de avermectinas em carne bovina no nosso país, no período compreendido entre 2002 a 2013, mostrou que a IVM foi, de longe, a base que mais apresentou detecções e violações, quando comparada com outras avermectinas empregadas no Brasil (DINIZ, 2015). Esse mesmo antiparasitário foi o responsável por grandes prejuízos para o agronegócio nacional, uma vez que foram vários os embargos à carne bovina importada de nosso país, por essa apresentar níveis elevados de IVM. De fato, somente em 2011, os frigoríficos brasileiros exportadores de carne bovina tiveram um prejuízo de 104 milhões de dólares, decorrentes da rejeição de vários lotes de carne bovina, para ser exportada para os Estados Unidos, já que apresentavam níveis bem acima daqueles limites de IVM tolerados por autoridades americanas (GLOBO RURAL, 2011).

Devido a esses fatos, entre as várias ações tomadas pelo MAPA, uma foi procurar o nosso laboratório, solicitando-nos desenvolver um protocolo para a comparação entre a farmacocinética da IVM nas duas raças de bovinos, o *Bos taurus*, espécie animal, na qual foram conduzidos os estudos para registro desse medicamento, e o *Bos indicus*, raça que representa cerca de 80% do rebanho bovino do Brasil (CFMV, 2011) e, posteriormente, fossem realizados estudos para o estabelecimento do período de carência. Entretanto, embora finalizado todo o projeto de pesquisa, esse não foi concretizado pelo período de conturbação vivido pelo país e as sucessivas alterações no comando do MAPA; de fato, entre os anos de 2013 e 2014 foram empossados três ministros da agricultura.

Embora não termos logrado êxito junto ao MAPA para que efetivamente executássemos essa pesquisa, acreditamos ser de enorme relevância para o país a

realização do estudo, pois pode colocar em foco importantes diferenças entre esses dois tipos de gado bovino, não só em relação à farmacocinética da IVM, mas também outros medicamentos empregados na produção bovina, o que pode levar a discrepâncias, por exemplo, no período de carência. Em outras palavras, a presente pesquisa abre caminho para a importante investigação, a partir da avaliação com a IVM, se as extrapolações de estudos de farmacocinética e de depleção de bovinos europeus para indianos com os diferentes produtos de uso veterinário possam levar a equívocos fazendo com que as concentrações de resíduos dos animais tratados possam se encontrar acima dos limites máximos de resíduos (LMR), colocando em risco a saúde do consumidor dos produtos.

Está muito bem determinado que o comportamento farmacocinético da IVM varia devido a vários fatores, sendo os principais, a via de administração, a formulação e a espécie animal estudada (FINK; PORRAS, 1989). Assim, com o objetivo de minorar ao máximo, qualquer outra variável, que não os três objetivos dessa pesquisa: a comparação entre as raças, a comparação entre gêneros e a comparação entre as duas diferentes concentrações de IVM, em todos os experimentos, foi empregada sempre a administração por via SC e o produto do mesmo fabricante. Essa IVM (Ivomec®), foi inicialmente comercializada pela indústria farmacêutica Merck, como produto inovador (OMURA; CRUMP, 2014), e hoje pertence à empresa Merial (LAING et al, 2017).

Além destes fatores que têm implicação direta no perfil farmacocinético da IVM, outros também foram considerados: condição corporal, estado fisiológico e tipo de alimentação consumida pelo animal, já que estudos também vêm mostrando variação entre resultados na farmacocinética da IVM, considerando-se essas variáveis

(MCKELLAR; BENCHAOU, 1996; LANUSSE et al., 1997; LIFSCHITZ et al., 2004; CANGA et al., 2007).

Assim, na primeira parte desse estudo, cujo objetivo foi o de comparar os três cruzamentos: Angus, Tabapuã e meio-sangue Angus-Nelore, foram empregados animais, todos machos, não castrados, jovens, com pouca variação de idade (18-24 meses). Além disso, as três propriedades onde estavam os animais participantes do experimento, equidistam ao redor de 90 km entre elas. Portanto, todos os bovinos envolvidos nessa parte da pesquisa estavam expostos às mesmas condições climáticas. Também, deve-se considerar que os experimentos, nos bovinos, oriundos dos três tipos diferentes de cruzamentos, foram realizados no mesmo ano e época do ano, entre o meio do verão e início do outono.

Outro ponto que foi considerado nessa pesquisa como possível fator que comprometeria a homogeneidade do estudo se refere à alimentação dos animais. Dessa maneira, embora os animais Tabapuã tivessem sido mantidos no sistema de confinamento durante o período experimental, ao contrário do que ocorreu com aqueles bovinos Angus e meio-sangue Angus-Nelore, os quais foram mantidos no sistema de semiconfinamento, todos os animais envolvidos nessa parte do estudo, incluindo aqueles Tabapuã, tiveram como base o mesmo tipo de alimentação, que foi a silagem de milho.

Uma pesquisa conduzida por Echeverría et. al. (2002), em ovinos, tratados com IVM por via SC, mostrou que animais com alta infestação de parasitas apresentaram diferenças significantes em vários parâmetros farmacocinéticos. Reforça esse achado, outros estudos conduzidos por Lespine et al.(2004) e Perez (2006), que verificaram que ovinos parasitados por nematódeos gastrintestinais apresentaram parâmetros farmacológicos diferentes das avermectinas; assim, claramente foi

evidenciado que a biodisponibilidade das avermectinas se encontrava diminuída, quando comparado aos animais sadios, e esses autores atribuíram essas alterações devido às mudanças fisiológicas provocadas por parasitoses. Portanto, antes de dar início aos experimentos, foi realizada, na presente pesquisa, a avaliação coproparasitológica, em todos os animais, que revelou que nenhum dos animais apresentaram carga parasitária que pudesse comprometer os dados farmacocinéticos aqui obtidos.

Rohrer e Evans (1990), verificaram, a partir de um estudo em cães, que a IVM se liga extensivamente à albumina plasmática e lipoproteínas e, naquele estudo, os autores ponderaram que os animais desnutridos, ou em uma situação na qual propiciaria a queda de proteínas plasmáticas e, conseqüentemente, haveria maior concentração de IVM o que poderia promover a modificação nos parâmetros farmacocinéticos. Portanto, antes do início desse estudo, todos os animais foram submetidos à avaliação clínica, bem como a coleta de sangue, para avaliação do hemograma e leucograma completo. Nenhum dos animais apresentaram sinais de desnutrição, o exame de sangue também mostrou que esses animais estavam com os parâmetros sanguíneos dentro daqueles valores de normalidade para a espécie bovina (JAIN, 1993).

Está muito bem estabelecido que a disfunção hepática e renal tem um impacto direto no perfil farmacocinético de um medicamento (RODIGHIERO, 1999; LEA-HENRY et al., 2018). Assim, antes do início dos experimentos, foram avaliadas as funções hepática e renal de todos os animais, verificando-se que os bovinos, aqui empregados, dos diferentes cruzamentos, apresentavam todos os parâmetros das substâncias avaliadas dentro da normalidade (KANEKO et al., 1997), não indicando, portanto, sinais de doença hepática ou renal.

Vários são os trabalhos encontrados na literatura que procuram comparar o perfil farmacocinético da IVM entre as diferentes espécies como bovinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos e cães (LO et al., 1985; MARRINER et al., 1987; ALVINERIE et al., 1993; ATTA; ABO-SHIHADA, 2000; CRAVEN et al., 2001, ECHEVERRIA et al., 2002; PEREZ et al., 2002). De maneira geral, esses estudos mostram diferenças muito acentuadas nos parâmetros farmacocinéticos da IVM. Entretanto, comparações entre as diferentes espécies animais, apenas tomando-se como base os dados disponíveis da literatura, são difíceis de serem adequadamente interpretadas, haja vista que são inúmeras as variáveis no delineamento experimental, quando da realização destes diferentes estudos. De fato, na grande maioria destas pesquisas, os pesos dos animais são díspares, bem como a idade e a condição corporal. Ainda e, talvez, principalmente, deve-se considerar que houve diferença de formulações farmacêuticas empregadas nestes estudos, bem como as vias de administração foram distintas, já que nesses estudos verifica-se que a administração da IVM ocorreu, não somente pela via SC, mas também pelas vias (IM), intravenosa, transdérmica e intraruminal (CANGA et al., 2009).

Da mesma maneira que foram encontrados muitos estudos que se propuseram a realizar a comparação da farmacocinética entre as diferentes espécies animais, uma busca na literatura também revela que há trabalhos que buscaram comparar o perfil farmacocinético da IVM entre raças de bovinos. Assim, um estudo realizado com uma raça de bovinos, que habitam as montanhas da República Popular da China, denominado de “yak” (*Bos grunniens*), mostrou, quando comparou-se com dados de literatura, com o *Bos taurus*, diferenças bastantes significantes, apresentando, uma meia-vida de eliminação com aproximadamente um quinto daqueles valores obtidos no gado europeu, isto é 4,82 dias, versus 17,20 dias (DUPUY et al., 2003).

Outro estudo, comparando a farmacocinética da IVM em gado zebu, denominado Gobra (*Bos indicus*), oriundo do Oeste Africano, com a do gado europeu, revelou que os animais africanos apresentaram marcadas diferenças nos parâmetros farmacocinéticos, sendo que a ASC se mostrou muito menor que aqueles valores obtidos no gado europeu (NDONG et al, 2005).

Embora estes dois estudos, com o gado Yak e o Gobra tenham sido conduzidos, empregando-se a mesma formulação comercial (Ivomec®), via (a SC) e dosagem (0,2 mg/kg) que aquela empregada nos estudos com *Bos taurus*, com os quais os resultados foram comparados, ainda assim, deve-se considerar que as condições ambientais e de alimentação foram dispares. Além disso, o número de amostras coletadas e os métodos de quantificação foram diferentes. Assim, essas variáveis não permitiriam concluir sobre as possíveis diferenças na farmacocinética da IVM entre as diferentes raças de bovinos. Portanto, o presente estudo procurou isolar as variáveis que comprometeriam a adequada interpretação, quando da comparação da farmacocinética da IVM, entre os três cruzamentos: *Bos tarurus*, *Bos indicus* e o cruzamento entre os dois, o meio-sangue, proveniente do cruzamento entre o gado europeu e indiano (Angus-Nelore).

Na primeira etapa desse estudo procurou-se verificar os níveis plasmáticos da 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a}, resíduo marcador da IVM. Assim, a IVM, é uma mistura de duas avermectinas modificadas, contendo no mínimo, 80% de 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a} e menos de 20% de 22,23-dihydroavermectin-B_{1b} (CANGA et al., 2009).

São várias as metodologias para a detecção de IVM descritas na literatura (CAMPBELL, 1989), dentre estas metodologias está a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *Tandem* (LC-MS/MS), descrita por

RÜBENSAM et al., 2011. Esta metodologia é aquela empregada no Plano de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal do MAPA, já que todas as análises foram realizadas no Laboratório Nacional Agropecuário em Porto Alegre, LANAGRO/RS. A validação da metodologia neste laboratório já foi descrita anteriormente (RÜBENSAM et al., 2013)

Interessante verificar que os resultados obtidos neste estudo mostraram que os níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a} no tempo inicial de avaliação, isto é, sem haver sido administrado a IVM, mostrou que nos três cruzamentos de bovinos estudados: TM, AM e MSM, foram detectados níveis plasmáticos dessa substância. Vale aqui ressaltar que os animais dos três cruzamentos que entraram no experimento não receberam nenhuma avermectina, por no mínimo, 60 dias antes do início desse estudo. Portanto, embora a avaliação na presente pesquisa tenha sido até os 42 dias após a administração de IVM, este dado permite indicar que a IVM pode persistir por mais de dois meses no organismo de bovinos, independentemente da raça de bovino considerada.

Os resultados obtidos nesse experimento mostraram ainda que os níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a} nos animais Tabapuã macho foram significativamente maiores que os bovinos Angus macho, desde o primeiro dia de avaliação, até o 18º dia. Um dado relevante de se apontar é que os níveis da 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a} daqueles animais MSM sempre se apresentaram com valores intermediários, entre os bovinos europeus e zebuínos.

À análise dos parâmetros farmacocinéticos da IVM, verifica-se que houve marcada diferença entre bovinos europeus e zebuínos. Assim, embora o T_{max} tenha sido semelhante entre os animais dos três grupos, o C_{max} e a ASC foram significativamente maiores nos animais zebuínos. O parâmetro C_{max} está diretamente

relacionado à absorção do medicamento e, portanto, à biodisponibilidade dessa substância. Define-se biodisponibilidade, como sendo a extensão com a qual uma substância administrada em uma forma farmacêutica penetra intacta na circulação sistêmica (SILVA, 2002). Assim, à análise dos valores de C_{max} entre os três cruzamentos de bovinos, verifica-se que aquele apresentado pelos zebuínos foi muito superior ao do gado europeu, que não apresentou diferença com o C_{max} dos bovinos meio-sangue. Dessa maneira, pode-se inferir que nos animais Tabapuã machos a IVM se apresentou com maior biodisponibilidade.

Vale ressaltar que, em relação ao C_{max} , os dados aqui obtidos diferiram daqueles estudos realizados nos animais Yak (DUPUY et al., 2003) e Gobra (NDONG et al, 2005), já que em ambos estudos, os autores concluíram que não foram detectadas diferenças nesse parâmetro nesses cruzamentos, quando comparado aos valores de gado europeu, a partir de dados disponíveis na literatura (TOUTAIN et al., 1988; LANUSSE et al., 1997; LIFSCHITZ et al., 1999).

Corroborando os dados do C_{max} dos animais da presente pesquisa, aqueles achados referentes à ASC, obtidos dos animais dos três diferentes cruzamentos. A ASC refere-se à fração do medicamento absorvida sistemicamente e está, portanto, disponível para produzir o efeito biológico (FLÓRIO et al., 2017).

No presente estudo, verificou-se que os animais indianos apresentaram os valores de ASC significativamente maiores que os animais europeus. Novamente, a conclusão aqui obtida, em relação a esse parâmetro, foi completamente díspar daquela asseverada pelos autores dos estudos farmacocinético com os animais Yak (DUPUY et al., 2003) e Gobra (NDONG et al, 2005), já que a comparação da ASC a partir de dados disponíveis na literatura com o gado europeu, levou esses autores à conclusão de que esse parâmetro foi bem superior no gado europeu.

É importante considerar que embora os animais provenientes do grupo MSM apresentaram valor de ASC que não diferiu significativamente daquele dos animais *Bos taurus*, o valor desse parâmetro daqueles bovinos meio-sangue foi superior àquele do gado europeu. Pode-se supor que não ter sido detectada a diferença estatística entre esses dois grupos esteja relacionada ao pequeno número de animais meio-sangue machos (MSM) usado nesse experimento (n=5). De fato, se fizemos um exercício inserindo os valores de todos os bovinos; ou seja, aqueles machos inteiros, os castrados e as fêmeas (n=22), para a obtenção da ASC para esse cruzamento, e depois compararmos com os valores de ASC obtido dos bovinos zebuínos e europeus, verifica-se que estatisticamente há diferença entre os valores entre os três grupos. Portanto, pode-se assumir que os animais zebuínos ficaram mais expostos à IVM que os bovinos dos outros dois cruzamentos; no entanto, deve-se considerar ainda que os animais meio-sangue apresentaram maior exposição à IVM que aqueles europeus.

A IVM sofre muito pouca biotransformação, particularmente em bovinos, que se sabe ser bastante limitada; portanto, a imensa maioria do produto de excreção, que se faz pelas fezes, é o próprio composto parental (HALLEY et al., 1989), ou seja, o próprio 22,23 Dihidroavermectina-B_{1a}. Deve-se ainda considerar que a IVM, devido à sua alta lipofilicidade, é amplamente distribuída com largo volume de distribuição em todas as espécies animais (MCKELLER & BENCHAOUI, 1996). A IVM se acumula no tecido gorduroso, que funciona como um reservatório dessa avermectina. Portanto, a IVM persiste no organismo, basicamente, devido ao acúmulo no tecido adiposo (CANGA et al., 2009).

A meia-vida de eliminação é definido como um parâmetro farmacocinético que está relacionado ao tempo em que os níveis plasmáticos de um medicamento decaem

pela metade (FLÓRIO et al., 2017). Esse parâmetro é essencial quando se compara a eliminação de medicamentos entre espécies (JERZSELE, 2012).

É amplamente sabido que o gado de origem europeia, apresenta, comparativamente ao zebuíno, maior concentração de “marmoreio” da carne (HUFFMAN et al., 1990); ou seja, estes animais apresentam, caracteristicamente, maior acúmulo de gordura intramuscular. Levando-se em consideração que a meia-vida de eliminação da IVM está fundamentalmente atrelada à quantidade de gordura corporal (CANGA et al., 2009), seria esperado que os valores desse parâmetro seriam maiores naqueles animais Angus, do que nos bovinos da raça Tabapuã no presente estudo, haja vista que não houve diferença no Vd entre os diferentes cruzamentos. No entanto, os dados claramente mostraram que a meia-vida de eliminação foi maior nos animais zebuínos seguido por aqueles animais meio-sangue.

Pouco poderia ser especulado a respeito dos dados aqui obtidos; no entanto, uma provável explicação, que deverá ser verificada, em estudos futuros, é a possibilidade de que o cupim, que se sabe ter um alto teor de tecido gorduroso (PEDRÃO et al., 2009), presente naqueles animais de origem zebuína, poderia funcionar como um local de sequestro da IVM. Reforça essa hipótese, um estudo conduzido por Brossi (2018), o qual evidenciou que, depois do fígado, foi a gordura aquele tecido no qual havia os maiores níveis de IVM. De fato, ainda, neste mesmo estudo, a pesquisadora verificou que os tecidos bucho e tendões, os quais apresentaram as menores concentrações de IVM, são aqueles que contêm baixas porcentagens de gordura.

Os resíduos de produtos veterinários podem estar presentes em produtos comestíveis de origem animal, tais como carne, leite, ovos e mel. Para assegurar que a concentração dessas substâncias não exceda um limite de resíduo seguro, deve ser

estabelecido o período de carência, o qual é definido como o tempo que deve ser respeitado para que um animal possa ser enviado para o abate, sem que os tecidos não apresentem LMR acima do estabelecido para o(s) princípio(s) ativo(s) deste produto (FAO/WHO, 2007). Por outro lado, sabe-se que diferenças na farmacocinética, particularmente no que se refere à meia-vida de eliminação de uma substância, está diretamente relacionada à depleção de resíduos (PALERMO-NETO, 2014). Portanto, uma importante consideração, obtida a partir dos dados aqui verificados, é a possibilidade de que o período de carência para a IVM para aqueles animais de origem zebuína deva ser provavelmente maior que daqueles de origem europeia. Assim, será objetivo em um futuro estudo, dando continuidade a essa pesquisa, verificar, se, de fato, será confirmada essa suposição. Como dito anteriormente, considerando-se que o rebanho nacional é de, aproximadamente, 80% constituído por animais azebuados, esse achado será importante, no sentido de se considerar, para a avaliação dos vários produtos veterinários em nosso país, que os estudos de depleção de resíduos seriam mais corretamente calculados se fossem conduzidos em animais de origem indiana e não europeia.

É amplamente conhecido que muitos fatores influenciam as concentrações do fármaco na circulação, bem como as concentrações nos locais de ação. A diferença de gênero pode influenciar diretamente na farmacocinética (SOLDIN, et al., 2011), pois há sensíveis diferenças em todas as etapas na farmacocinética do medicamento: absorção, distribuição, biotransformação e eliminação (HARDMAN et al., 2001). Portanto, é necessário avaliar a disponibilidade do fármaco, já que pode afetar a eficácia e segurança quando do uso do medicamento.

Assim, foi objetivo da outra etapa deste estudo verificar se haveria diferenças entre os sexos, bem como com os machos castrados. Entretanto, embora tivesse sido

detectado maiores níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B1a nas fêmeas, quando comparados àqueles de machos, castrados ou não, em nenhum dos parâmetros farmacocinéticos considerados, foi identificada qualquer diferença significativa entre os valores obtidos destes três grupos de animais.

Alguns autores sugerem que um dos principais parâmetros farmacocinéticos, que pode influenciar diretamente na diferença entre gêneros é a biotransformação (metabolização) do fármaco, a qual está diretamente relacionada sobretudo à diferente expressão dos genes, do que propriamente ao efeito das hormônios sexuais (MEIBOHM; BEIERLE; DERENDORF, 2002; SPOLETINI, VITALE, MALORNI; ROSANO, 2012;). De fato, há vários estudos que mostram consideráveis diferenças no que se refere à concentração de enzimas hepáticas, responsáveis por essa biotransformação, entre fêmeas e machos (CARRASCO-PORTUGAL, 2011). Considerando-se que a IVM é, na sua quase totalidade, excretada de maneira íntegra; portanto, sem sofrer biotransformação, pode-se assumir que esta homogeneidade nos parâmetros farmacocinéticos da IVM, encontrada na presente pesquisa, deva-se à ausência dessa etapa, no processo de eliminação do fármaco.

Com a crise gerada pelos vários embargos da carne bovina brasileira no mercado externo, o MAPA decidiu, proibir, por meio da Instrução Normativa no 13, em maio de 2014, o emprego das avermectina de longa ação (BRASIL, 2014). Essa decisão gerou uma série de problemas para a pecuária nacional e um grande prejuízo para o produtor, haja vista que o uso das avermectina de longa ação, entre outras vantagens, permite que os animais não sejam retidos com tanta frequência, evitando o estresse da contenção e, conseqüentemente, queda no ganho de peso (MARQUES et al., 2012). Assim, nesta outra parte da presente pesquisa, procurou-se comparar os perfis farmacocinéticos da IVM, nas duas concentrações: 1% e 3,15%, com o

propósito de, se fosse o caso, encontrar uma justificativa da proibição intempestiva do uso das avermectinas de maior concentração, já que na época, não foi apresentado nenhum estudo técnico, ou muito menos científico para tal. Nesse sentido, um possível fundamento seria de que os parâmetros farmacocinéticos da IVM nos animais zebuínos seriam tão dispares daqueles de bovinos europeus, raça com a qual foram feitos os estudos de depleção de depleção e, conseqüentemente os cálculos para obtenção do período de carência, que justificaria os altos níveis de resíduo desse medicamento naquelas carnes exportadas.

Assim, seguindo os mesmos procedimentos que nos dois estudos anteriores, avaliou-se os parâmetros hematológicos, coproparasitológicos e bioquímicos, os quais mostraram que os animais não apresentavam qualquer alteração que pudesse interferir na interpretação dos resultados.

Os dados provenientes do estudo com novilhas nelores, empregando-se a IVM nas duas concentrações mostrou, como o esperado, que os níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B1 apresentavam níveis plasmáticos mais elevados naquelas fêmeas tratadas com a IVM de menor concentração, no 1º e 3º dia após a administração do antiparasitário. Na avaliação sete dias após a administração de IVM, não havia diferenças entre os níveis plasmáticos do marcador, entre os animais dos dois grupos e já na avaliação posterior (11º dia do estudo), aqueles animais tratados com a IVM 3,15% mostravam significativamente maiores níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B1, sendo que esta alteração se manteve até o 42º dia.

Da mesma maneira, o Tmax e a ASC naquelas fêmeas expostas à IVM de maior concentração foram superiores que o daquelas tratadas com o antiparasitário a 1%. Interessante foram os dados de Cmax, pois, seria esperado que esses valores seriam significativamente maiores naqueles animais tratados com a maior

concentração da IVM. De fato, estudos comparando-se concentrações de alguns medicamentos, mostram que, de maneira geral, o Cmax é superior naqueles cuja concentração é maior (ANADÓN et al., 1995; SUMANO; GUTIERREZ; ZAMORA, 2003). Por outro lado, deve-se considerar que a formulação farmacêutica tem uma influência direta nos parâmetros farmacocinéticos. Nesse sentido, diversos estudos, conduzidos em várias espécies animais com diferentes medicamentos (SHARGEL, 1993), incluindo a IVM (LO et al., 1985; MILLER et al., 1998; LIFSCHITZ et al, 1999; ERASLAN et al., 2010), evidenciam que a formulação farmacêutica tem uma influência direta nos parâmetros farmacocinéticos. Portanto, além da concentração diferente, o fabricante provavelmente alterou a formulação farmacêutica, empregando outros veículos, o que pode justificar não ser verificada a diferença entre os valores de Cmax entre os dois grupos de animais avaliados.

Finalmente, considerando-se o período de carência proposto pelo fabricante da IVM 1% e 3,15%, respectivamente 35 dias e 122 dias e tomando-se os dados aqui obtidos, inicialmente, comparando-se os níveis do resíduo marcador, verifica-se que aos 35 dias, os níveis de 22,23 Dihidroavermectina-B1 nos animais tratados com a menor concentração de IVM foi de 1,77 ng/mL; enquanto que os níveis do resíduo marcador naqueles bovinos tratados com IVM 3,15% no 119º dia (a data mais próxima aos 122 dias) foi de 1,52 ng/mL. Ainda, comparando-se um parâmetro fundamental para o cálculo do período de carência, a meia-vida de eliminação, verifica-se que nos animais tratados com o antiparasitário a 1% esse valor foi de 7,19 dias e para aquelas fêmeas tratadas com a avermectina de maior concentração, a meia-vida de eliminação foi de 22,84 dias.

Assim, embora futuros estudos, considerando-se a depleção e os LMRs para a IVM nessas duas formulações, comparando-se as raças zebuína e europeia serão

realizadas, o que permitirá evidenciar os resíduos desse antiparasitário no músculo, fígado e gordura, pode-se propor, com os dados aqui obtidos que também para os animais zebuínos, o período de carência proposto pelos fabricantes estão adequados e não promoveriam risco ao consumidor.

6 CONCLUSÕES

O estudo do perfil farmacocinético da IVM, em bovinos, mostrou que:

- A comparação entre os três cruzamentos estudados (*Bos taurus*, *Bos indicus* e meio sangue Angus-Nelore), revelou grandes diferenças na farmacocinética, quando foram comparados os dados daqueles animais Angus e Tabapuã. Assim, verificou-se que os animais zebuínos apresentaram níveis plasmáticos significativamente elevados do resíduo marcador por até quase a 3ª semana da administração do antiparasitário. Foram detectadas diferenças significantes no Cmax, ASC e $t_{1/2\beta}$ nos animais Tabapuã; indicando, portanto, que esses foram muito mais expostos à IVM que os bovinos da raça Angus.
- Não foram detectadas nenhuma alteração, em todos os parâmetros farmacocinéticos aqui avaliados, quando comparou-se os três grupos: machos, castrados ou não, e fêmeas.
- Em relação à comparação entre concentração, exceto no 7º dia do estudo, os níveis plasmáticos de 22,23 Dihidroavermectina-B1a foram significativamente diferentes entre os grupos, desde o primeiro dia após a administração da IVM, até o último dia de comparação (42º dia), sendo que até o 3º dia esses níveis foram maiores nos bovinos tratados com a menor concentração de IVM e a partir do 11º houve uma inversão, constatando-se níveis plasmáticos mais elevados do marcador nos animais que receberam IVM 3,15%. Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, conforme o esperado, houve maiores valores de Tmax, ASC e $t_{1/2\beta}$ naqueles animais que receberam a maior concentração de IVM. Entretanto, pelos dados farmacocinéticos pode-se levantar a hipótese de

que os períodos de retirada propostos pelo fabricante para IVM 3,15% seria seguro, mesmo para animais de origem zebuína.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.A.; AYRES, M.C.C.; SANTARÉM, V.A.; LAMBERT, S.M. Agentes antinematódeos. *In*: SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, 6ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 571-572, 2017.
- ALVINERIE, M.; SUTRA, J.F.; GALTIER, P. Ivermectin in goat plasma and milk after subcutaneous injection. **Veterinary Research**, v. 24, p. 417–421, 1993.
- ANADON, A.; MARTINEZ-LARRANAGA, M.R.; DIAZ, M.J.; BRINGAS, P.; MARTINEZ, M.A.; FERNANDEZ-CRUZ, M.L.; FERNANDEZ, M.C.; FERNANDEZ, R. Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, p. 501-506, 1995.
- ATTA, A.H.; ABO-SHIHADA, M.N. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in sheep. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, p. 49–52, 2000.
- BALLWEBER, L.R.; BAETEN, L.A. Use of macrocyclic lactones in cattle in the USA. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, p. 1061-1069, 2012.
- BORMANN, J. The “ABC” of the GABA receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 21, p. 16-19, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 29 de maio de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 maio 2014. Seção 1.
- BROSSI, C. **Distribuição de resíduos de ivermectina e eprinomectina em diferentes tecidos bovinos e em produtos cárneos enlatados termicamente processados**. 17 de Maio de 2018. p. 82. Tese (Doutorado em ciências do programa de pós-graduação em zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo Universidade, Pirassununga, 2018.
- CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer Verlag, 1989.
- CANGA, A.G.; SAHAGUN, A.; DIEZ, M.J.; FERNANDEZ, N.; SIERRA, M.; VIEITEZ, J.J.G. Bioavailability of a commercial formulation of ivermectin after subcutaneous administration to sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 101-106, 2007.

CANGA, A.G.; PRIETO, A.M.S.; LIÉBANA, M.J.D.; MARTÍNEZ, N.F.; VEJA, M.S.; VIEITEZ, J.J.G. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. **The Veterinary Journal**, v. 179, p. 25-37, 2009.

CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária. **AgroLink**, 2011. Disponível em: <<http://cfmv.gov.br/portal/noticia.php?cod=1998>>. Acesso em: 10 de Dezembro de 2018.

CHIU, S.H.L.; GREEN, M.L.; BAYLIS, F.P.; ELINE, D.; ROSEGAY, A.; MERIWETHER, H.; JACOB, T.A. Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep, and rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 2072-2078, 1990.

CRAVEN, J.; BJØRN, H.; HENNESY, D.; FRIIS, C.; NANSEN, P. Pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin following intravenous injection in pigs with different body compositions. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, p. 99–104, 2001.

CARRASCO-PORTUGAL, M.D.C.; FLORES-MURRIETA, F.J. Gender Differences in the Pharmacokinetics of Oral Drugs. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 2, p. 31-41, 2011.

CULLY, D.F.; VASSILATIS, D. K.; PARESS, P. S.; VAN DER PLOEG, L. H.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 371, p. 707-711, 1994.

DANAHER, M.; HOWELLS, L. C.; CROOKS, S. R. H.; CERKVENIK-FLAJS, V. O.; KEEFFE, M. Review of methodology for determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **J.Chromat. B**, v. 844, p. 175 – 203, 2006.

DELGADO, F. E. F.; LIMA, W. S.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.; DOMINGUES, L. N.; WANDERLEY, R. P. B.; LEITE, R. C. Cattle helminthiasis: farmers perception in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, 2009.

DINIZ, S.A. **Avaliação de risco à presença de resíduos de avermectinas na carne bovina sob Inspeção Federal associada às práticas de produção pecuária no Brasil entre 2002-2013**. 27 de Fevereiro de 2015, p. 81. Tese (Doutorado em ciência animal) – Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, Belo Horizonte, 2015.

DUPUY, J.; YIN, H.; LUO, JX.; YANG, DY.; GUAN, GQ.; MA, ML.; SUTRA, JF.; LESPINE, A.; BOULARD, C.; ALVINERIE, M. Pharmacokinetics of ivermectin in the yak (*Bos grunniens*). **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 153-157, 2003.

ECHEVERRÍA, J.; MESTORINO, N.; ERRECALDE, J.O. Comparative pharmacokinetics of ivermectin after its subcutaneous administration in healthy sheep and sheep infected with mange. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 25, p. 159–160, 2002.

EMBRAPA. Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. **Março**, 2017. Disponível em:
<<https://www.embrapa.br/documents/10180/21470602/EvolucaoQualidadePecuaria.pdf/64e8985a-5c7c-b83e-ba2d-168ffaa762ad>>. Acesso em: 25 de Setembro de 2018.

ERASLAN, G.; KANBUR, M.; LIMAN, B.C.; CAM, Y.; KARABACAK, M.; ALTINORDULU, S. Comparative pharmacokinetics of some injectable preparations containing ivermectin in dogs. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2181-2185, 2010.

FAO/WHO. Food and agriculture organization of the united nations/ World health organization. **Working Principles for risk analysis for food safety for application by governments**. 1ed. Roma, 2007.

FINK, D.; PORRAS, A. Pharmacokinetics of ivermectin in animals and humans. In: Campbell, W. **Ivermectin and Abamectin**, Springer-Verlag, New York, USA, 1989. p. 90–113.

FLÓRIO, J.C.; SOUSA, A.B.; GÓRNIK, S.L. Farmacocinética. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 37-61, 2017.

FOX, L.M. Ivermectin: uses and impact 20 years on. **Curr. Opin. Infect. Dis**, v. 19, p.588 – 593, 2006.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. **Trends in Parasitology**, v. 21 n. 11, p. 530-532, 2005.

GLOBO RURAL. **Exportação perde US\$ 104 mi por causa da ivermectina na carne**. 2011. Disponível em:
<<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2011/11/exportacao-perde-us-104-mi-por-causa-da-ivermectina-na-carne.html>>. Acesso em: 25 de Abril de 2018.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; PEREZE DE LEON, A. A.; PEREIRA, J. B.; VILELA, H. S. Reassessment of potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz.J.Vet. Parasitol.** v. 23, p.150 – 156, 2013.

GUPTA, R. C. Ivermectin and selamectin. In: GUPTA, R. C. **Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles**, San Diego: Academic Press Inc, p. 508-513, 2007.

HALLEY, B.A.; JACOB, T.A.; LU, A.Y.H. **The environmental impact of the use of ivermectin** : environmental effects and fate, v. 18, p. 1543-1563, 1989.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. In: Goodman & Gilman's. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10. Ed. McGraw-Hill, New York, NY, USA, 2001.

HUFFMAN, R.D.; WILLIAMS, S.E.; HARGROVE, D.D.; JOHNSON, D.D.; MARSHALL, T.T. Effects of percentage Brahman and Angus breeding, age-season of feeding and slaughter point on feedlot performance and carcass characteristics. **Journal of animal science**, v. 68, p. 2243-2252, 1990.

JAIN, N.C. In: Philadelphia, **Essentials of veterinary hematology** Lea & Febiger, p. 417, 1993.

JECFA- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, **Who Food Additives Series: 72**, Roma. Italy, p. 50, 2016.

JERZSELE, A. Comparative Veterinary Pharmacokinetics. In: Noreddin, A. **Readings in Advanced Pharmacokinetics - Theory, Methods and Applications**. 1ed. Rijeka. InTech, 2012.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. In: New York, **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. Academic Press, p. 932, 1997.

LAFFONT, C. M.; TOUTAIN, P. L.; ALVINERIE, M.; BOUSQUET-MELOU, A. Intestinal secretion is a major route for parent ivermectin elimination in the rat, **Drug Metabolism and Disposition**, v. 30, p. 626-630, 2002.

LAING, R.; GILLAN, V.; DEVANEY, E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? **Trends in Parasitology**, v. 33, p. 463-472, 2017.

LANUSSE, C.; LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; ALVAREZ, L.; SÁNCHEZ, S.; SUTRA, J.F.; GALTIER, P.; ALVINERIE, M. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, p. 91-99, 1997.

- LEA-HENRY, T.N.; CARLAND, J.E.; STOCKER, S.L.; SEVASTOS, J.; ROBERTS, D.M. Clinical pharmacokinetics in kidney disease: Fundamental principles. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, p. 1085-1095, 2018.
- LESPINE, A.; SUTRA, J.F.; DUPUY, J.; ALVINEIRE, M.; AUMONT, G. The influence of parasitism on the pharmacokinetics of moxidectin in lambs. **Parasitology Research**, v. 93, p. 121-126, 2004.
- LIFSCHITZ, A.; MURNO, G.; PIS, A.; SALLOVITZ, J.; VIRKEL, G.; LANUSSE, C. Malnutrition modifies the disposition kinetics of ivermectin in calves. **J. Vet. Pharmacol. Therapeut**, v. 20, p. 71-72, 1997.
- LIFSCHITZ, A.; PIS, A.; ALVARES, L.; VIRKEL, G.; SANCHES, S.; SALLOVITZ, J.; KUJANEK, R.; LANUSSE, C. Bioequivalence of ivermectin formulations in pigs and cattle. **J. Vet. Pharmacol. Therapeut**, v. 22, p. 27-34, 1999.
- LIFSCHITZ, A.L.; VIRKEL, G.L.; SALLOVITZ, J.M.; PIS, A.; IMPERIALE, F. A.; LANUSSE, C. E. Loperamide modifies the tissue disposition kinetics of ivermectin in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, p. 61-67, 2004.
- LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J. Anti-helmínticos utilizados em Medicina Veterinária. In: Spinosa, H.S.; Palermo-Neto, J.; Górniak, S.L. **Medicamentos em animais de produção**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2014. P. 504.
- LO, P.K.A.; FINK, D.W.; WILLIAMS, J.B.; BLODINGER, J. Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation. **Veterinary Research Communications**, v. 9, p. 251-258, 1985.
- MARQUES, R.S.; COOKE, R.F.; FRANCISCO, C.L.; BOHNERT, D.W. Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 5040-5046, 2012.
- MARRINER, S. E.; MCKINNON, I.; BOGAN, J. A. The pharmacokinetics of ivermectina after oral and subcutaneous administration to sheep and horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 10, p. 175-179, 1987.
- MEIBOHM, B.; BEIERLE, I.; DERENDORF, H. How important are gender differences in pharmacokinetics? **Clinical Pharmacokinetics**, v. 41, p. 329-342, 2002.
- MCKELLAR, Q. A.; BENCHAOUI, H. A. Avermectins and milbemycins. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, p. 331-351, 1996.

- MCKELLAR, Q. A.; GOKBULUT, C. Pharmacokinetic Features of the Antiparasitic Macrocyclic Lactones. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.13, p. 888-911, 2012.
- MEALEY, K. L. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. **J. vet. Pharmacol. Therap**, v. 27, p. 257–264, 2004.
- MILLER, J.A.; OEHLER, D.D.; POUND, J.M. Delivery of Ivermectin by Injectable Microspheres. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, p. 655-659, 1998.
- MOREIRA, N.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Ivermectin reduces sexual behavior in female rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 43, p. 33-38, 2014.
- MUGFORD, C. A.; KEDDERIS, G. L. Sex-dependent metabolism of xenobiotics. **Drug Metabolism Reviews**, v. 30, p. 441-498, 1998.
- NDONG, T. B.; BA, K. Y.; SANE, M. A. Pharmacokinetics of ivermectina in zebu Gobra (Bos indicus). **Vet. Parasitol**, v. 128, p. 169-173, 2005.
- OMURA, S.; CRUMP, A. Ivermectin: Panacea for resource-poor communities? **Trends in Parasitology**, v. 30, p. 445-455, 2014.
- PALERMO-NETO, J.; RIGHI, D. A. Avaliação de risco: Resíduos de medicamentos veterinários em produtos de origem animal In: SPINOSA, H.S.; PALEMO-NETO, J.; GÓRNIK, S. L. **Medicamentos em Animais de Produção**. 1ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2014.
- PAREDES, R.G; AGMO, A. GABA and behavior: The role of receptor subtypes. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.16, p. 145-170, 1992.
- PEDRÃO, M. R.; LASSANCE, F.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; TELLES, P.; SHIMOKOMAKI, M. Comparison of proximate chemical composition and texture of cupim, Rhomboideus m. and lombo, Longissimus dorsi m. of Nelore (Bos indicus). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol.52, n.3, p. 715-720, 2009.
- PEREZ, R.; CABEZAS, I.; SUTRA, J.F.; GALTIER, P.; ALVINERIE, M. Fecal excretion profile of moxidectin and ivermectin after oral administration in horses. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 85–92, 2001.
- PEREZ, R.; PALMA, C.; CABEZAS, I.; ARANEDA, M.; RUBILAR, L.; ALVINERIE, M. Effect of parasitism on the pharmacokinetics disposition of ivermectin in lambs. **Journal Veterinary Medical**, v. 53, p. 43-48, 2006.
- RODIGHERO, V. Effects of liver disease on pharmacokinetics. An update. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 37, p. 399-431, 1999.

ROHRER, S.P.; EVANS, D.V. Binding characteristics of ivermectin in plasma from Collie dogs. **Veterinary Research Communications**, v. 14, p. 157–165, 1990.

RÜBENSAM, G.; BARRETO, F.; HOFF, R.B.; KIST, T.L.; PIZZOLATO, T.M. A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 705, p. 24-29, 2011.

RÜBENSAM, G.; BARRETO, F.; HOFF, R. B.; PIZZOLATO, T. M. Determination of avermectin and milbemycin residues in bovine muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection using solvent extraction and low temperature cleanup. **Food Control**, v. 29, p. 55-60, 2013.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C. **Applied biopharmaceuticals and pharmacokinetics**. 3rd ed. New York: Prentice-Hall, 1993. 768 p.

SILVA, P. Absorção das drogas. In: Silva, P. **Farmacologia**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002.

SINDAN - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos Para Saúde Animal. Disponível em <<http://www.cpvvs.com.br/cpvvs/pesquisar.aspx>> Acesso em: 25 de Setembro de 2013.

SINDAN - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos Para Saúde Animal. Disponível em <<http://www.cpvvs.com.br/cpvvs/pesquisar.aspx>> Acesso em: 03 de março de 2014.

SIVILOTTI, L.; NISTRI, A. GABA Receptor mechanism in the central nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 36, p. 35-92, 1991.

SOLDIN, O.P.; CHUNG, S.H.; MATTISON, D.R. Sex differences in drug disposition. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2011, 2011.

SPOLETINI, I.; VITALE, C.; MALORNI, W.; ROSANO, G.M.C. Sex differences in drug effects: Interaction with sex hormones in adult life. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 214, p. 91-105, 2012.

SUMANO, L.H.; GUTIERREZ, O.L.; ZAMORA, Q.M. Strategic administration of enrofloxacin in poultry to achieve higher maximal serum concentrations. **Veterinary Journal**, v.165, p. 143-148, 2003.

TAYLOR, S. M.; KENNY, J.; EDGAR, H. W.; ELLISON, S.; FERGUSON, L. Efficacy of moxidectin, ivermectin and albendazole oral drenches for suppression of periparturient rise in ewe worm egg output and reduction of anthelmintic treatment for lambs. **Veterinary Record**, v. 141, p. 357-360, 1997.

THE ECONOMIST. Brazilian agriculture: **The miracle of the cerrado**, 2010. Disponível em: <<https://www.economist.com/briefing/2010/08/26/the-miracle-of-the-cerrado>>. Acesso em: 25 de Abril de 2018.

TOUTAIN, P.L.; CAMPAN, M.; GALTIER, P.; ALVINIERI, M. Kinectic and insecticidal properties of iveremctin residues in the milk of dairy cows. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 11, p. 288-291, 1988.

TOUTAIN, P. L.; UPSON, D. W.; TERHUNE, T. N.; MCKENZIE, M. E. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectina in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 3-8, 1997.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminante. 4. ed. Tóquio: **Japan International Cooperation Agency**, p. 14-15, 1998.

VERCRUYSSSE, J.; HOLDSWORTH, P.; LETONJA, T.; CONDER, G.; HAMAMOTO, K.; OKANO, K.; REHBEIN, S. International harmonisation of anthelmintic efficacy guidelines (Part 2). **Veterinary Parasitology**, v. 103, p. 277–297, 2002.

YATES, D. M.; PORTILLO, V.; WOLSTENHOLME, A. J. The avermectin receptors of *Haemonchus contortus* and *Caenorhabditis elegans*. **International Journal for Parasitology**, v. 33, p. 1183-1193, 2003.