



**MODELAGEM FARMACOCINÉTICA E SIMULAÇÃO DE
PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS DA IVERMECTINA A 1 %
EM BOVINOS TABAPUÃ E GIR**

JOÃO VITOR FERNANDES COTRIM DE ALMEIDA

LAVRAS - MG

2024

JOÃO VITOR FERNANDES COTRIM DE ALMEIDA

**MODELAGEM FARMACOCINÉTICA E SIMULAÇÃO DE PROTOCOLOS
TERAPÊUTICOS DA IVERMECTINA A 1 % EM BOVINOS TABAPUÃ E GIR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de Doutor.

Dr. Humberto de Mello Brandão

Orientador

Prof. Dr. Marcos Ferrante

Co-orientador

LAVRAS - MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Almeida, João Vitor Fernandes Cotrim de.

Modelagem farmacocinética e simulação de protocolos
terapêuticos da ivermectina a 1 % embovinos Tabapuã e Gir / João
Vitor Fernandes Cotrim de Almeida. - 2024.

85 p. : il.

Orientador(a): Humberto de Mello Brandão.

Coorientador(a): Marcos Ferrante.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Farmacocinética. 2. Farmacométrie. 3. Antiparasitário. I.
Brandão, Humberto de Mello. II. Ferrante, Marcos. III. Título.

JOÃO VITOR FERNANDES COTRIM DE ALMEIDA

**MODELAGEM FARMACOCINÉTICA E SIMULAÇÃO DE PROTOCOLOS
TERAPÊUTICOS DA IVERMECTINA A 1 % EM BOVINOS TABAPUÃ E GIR
PHARMACOKINETIC MODELING AND SIMULATION OF THERAPEUTIC
PROTOCOLS OF IVERMECTIN 1% IN TABAPUÃ AND GIR CATTLES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de Doutor.

APROVADO em 28 de março de 2024.

Dr. Mauricio Deschk - Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Gonzalo Suárez Veirano - Universidad de la República

Profa. Dra. Gláucia Guimarães Amaral - Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Humberto de Mello Brandão (orientador) - Embrapa Gado de Leite

Prof. Dr. Marcos Ferrante (co-orientador) - Universidade Federal de Lavras

LAVRAS - MG

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço à educação pública brasileira, à universidade pública, aos educadores, professores, técnicos administrativos, funcionários terceirizados, especialmente da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e a todos e todas que fizeram parte desses quase 15 anos de vida universitária.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro durante o doutorado.

RESUMO

A ivermectina (IVM) é um dos antiparasitários mais utilizados em todo o mundo, e já se estabeleceu, na bovinocultura, como o fármaco de escolha para tratamento de helmintos e carrapatos (Ballweber & Baeten, 2012; Gotardo et al., 2020). A maior parte da IVM administrada em bovinos é excretada inalterada, e eliminada principalmente nas fezes (Canga et al., 2009). Tem-se, destarte, uma importante via de introdução de resíduos no meio ambiente, produzindo impactos negativos sobre organismos vivos e impulsionando a seleção de parasitos resistentes (Klatte et al., 2017). Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: 1 - elaborar uma revisão de literatura a respeito do uso da IVM na Medicina Veterinária, e sobre as aplicações da farmacometria na saúde animal; 2 - avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de IVM a 1 %, em bovinos da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*), e simular diferentes protocolos para o tratamento de endo e ectoparasitos; 3 - avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de IVM a 1 %, em bezerros e bezerras da raça Gir (*Bos taurus indicus*), e simular protocolos para o tratamento de nematoides.

Palavras-chave: farmacocinética; farmacometria; antiparasitário; bovinocultura; otimização de doses.

ABSTRACT

Ivermectin (IVM) is one of the most used antiparasitics worldwide, and has already established itself, in cattle farming, as the drug of choice for treating helminths and ticks (Ballweber & Baeten, 2012; Gotardo et al., 2020). Most of the IVM administered to cattle is excreted unchanged, and eliminated mainly in feces (Canga et al., 2009). This is an important route for introducing waste into the environment, producing negative impacts on living organisms and driving the selection of resistant parasites (Klatte et al., 2017). In view of the above, the objectives of this work were: 1 - to prepare a literature review regarding the use of IVM in Veterinary Medicine, and on the applications of pharmacometrics in animal health; 2 - evaluate the pharmacokinetic profile of a 1% IVM formulation, in Tabapuã cattle (*Bos taurus indicus*), and simulate different protocols for the treatment of endo and ectoparasites; 3 - evaluate the pharmacokinetic profile of a 1% IVM formulation in Gir calves and heifers (*Bos taurus indicus*), and simulate protocols for the treatment of nematodes.

Keywords: pharmacokinetics; pharmacometry; antiparasitic; cattle farming; dose optimization.

INDICADORES DE IMPACTO

As cadeias produtivas de corte e leite são gravemente impactadas por doenças parasitárias; estas, além de reduzirem o desempenho produtivo dos animais, provocam danos à carcaça e aos órgãos do hospedeiro, sendo, destarte, responsáveis por grandes perdas econômicas na comercialização de produtos e subprodutos da bovinocultura. Do ponto de vista da segurança alimentar, a administração de ivermectina em espécies animais produtoras de alimentos acarreta potenciais riscos relacionados à presença de resíduos em vísceras, músculo, leite e demais produtos e subprodutos de origem bovina consumidos pelo homem. No tocante ao meio ambiente, sabe-se que resíduos desse fármaco produzem graves consequências em organismos terrestres e aquáticos. Técnicas de modelagem farmacocinética podem ser incorporadas a estudos que visam determinar a concentração da ivermectina em tecidos animais comestíveis, os respectivos períodos de carência e o volume de resíduos eliminados no meio ambiente. Este estudo tem o potencial de produzir impactos tecnológicos e econômicos significativos, demonstrando a capacidade que modelos farmacocinéticos e simulações têm de determinar e otimizar protocolos extra-bula de ivermectina. O trabalho atende às seguintes temáticas de extensão: meio ambiente, saúde e tecnologia e produção; e o uso racional deste fármaco está totalmente alinhado aos objetivos de desenvolvimento sustentável da ONU, especialmente no tocante à saúde e bem-estar, e ao consumo e produção responsáveis.

Este trabalho é dedicado ao meu eterno amigo Bebeto e à minha vizinha Elídia.

Que a eternidade lhes seja leve e gentil, como o desabrochar de uma rosa.

Eu amo vocês!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. FARMACOCINÉTICA.....	13
3. FARMACOTÉCNICA	18
4. FARMACODINÂMICA (MECANISMO DE AÇÃO)	22
REFERÊNCIAS.....	32
CAPÍTULO 2	40
1. DEFINIÇÃO.....	41
2. APLICAÇÕES	42
REFERÊNCIAS.....	47
CAPÍTULO 3	50
CAPÍTULO 4	69

CAPÍTULO 1

A IVERMECTINA NA MEDICINA VETERINÁRIA - REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A caracterização da relação farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) é de notória importância para a otimização do uso de medicamentos, tanto no controle de endo quanto ectoparasitas (MIRÓ et al., 2022). Para se alcançar níveis elevados de eficácia contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, a manutenção de uma concentração plasmática mínima de 8 ng/mL, durante todo o período de desenvolvimento do carrapato (21 dias), é considerada ideal (DAVEY et al., 2010). Diante do exposto, Lifschitz e colaboradores (2016) afirmam peremptoriamente que, além da quantidade de fármaco no plasma sanguíneo, a duração das concentrações terapêuticas mínimas também é fundamental à garantia de eficácia da IVM.

Na mesma linha de raciocínio, Lifschitz e colaboradores (2000) destacaram que a caracterização dos padrões de distribuição tecidual das avermectinas contribui para uma maior compreensão da atividade endectocida destas moléculas. Vercruysse e colaboradores (2008), por sua vez, ressaltam que a eficácia clínica da IVM - e de outras lactonas macrocíclicas - está intimamente relacionada ao comportamento farmacocinético da molécula.

Em consonância com as informações expostas acima, Alvinerie e colaboradores (1999) apontaram que o período durante o qual parasitos são expostos a determinadas concentrações de fármacos ativos é importante para se determinar a atividade antiparasitária destes. Portanto, a caracterização dos padrões de distribuição tecidual das avermectinas contribui para uma maior compreensão da atividade endectocida dessas moléculas (LIFSCHITZ et al., 2000).

Candela e colaboradores (2018) avaliaram a eficácia da IVM contra nematóides suscetíveis e resistentes, administrado o fármaco, em bovinos, por duas vias diferentes: oral e subcutânea - ambas com formulação injetável (Ivomec®, solução a 1 %, Merial, Argentina). No tocante aos resultados do estudo, observaram-se eficácias anti-helmínticas de 93 %, na via subcutânea, e, na oral, de 91 a 92 %, confirmando que ambas as vias de administração alcançaram eficácia semelhante contra nematóides gastrointestinais suscetíveis. Ballent e colaboradores (2020), por sua vez, investigaram a interação PK/PD após administração subcutânea, em bovinos, de IVM (Ivomec®, Merial), abamectina (Necaverm®, Rosenbusch) ou ambos os fármacos. A abordagem PK/PD, neste trabalho, apontou para os seguintes resultados: o padrão de eliminação da abamectina foi moderadamente reduzido após coadministração com IVM, potencialmente devido à inibição do processo ativo de secreção

intestinal/biliar. Enquanto o comportamento cinético da IVM não se alterou após coadministração com abamectina, a meia-vida de eliminação deste fármaco foi prolongada, e a exposição sistêmica durante a fase de eliminação se mostrou elevada; o tratamento combinado alcançou uma eficácia superior à obtida após administração individual dos antiparasitários.

Nava e colaboradores (2019) sustentam os dados supramencionados, haja vista que reforçam existir forte relação entre a farmacocinética (que determina a exposição ao fármaco no sítio de localização do parasita) e a farmacodinâmica, ou seja, o efeito da molécula; ademais, esclarecem que variações na concentração plasmática da IVM estão associadas a inúmeros fatores, como espécie-alvo, peso, condição corporal, estado fisiológico e nutricional, tecido (sítio de localização), via de administração e formulação comercial.

Egerton e colaboradores (1981) demonstraram que a IVM é um anti-helmíntico extremamente potente e eficiente, atuando contra larvas (de L₃ em diante) e estágios adultos de muitos nematóides comuns de bovinos, tanto após administração oral quanto parenteral. Pela via parenteral (0.2 mg/kg de IVM), a eficácia contra o estágio L4 de *Haemonchus placei*, *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Cooperia oncophora*, *C. punctata*, *Oesophagostomum radiatum* e *Dictyocaulus viviparus* superou 99 %; quanto aos parasitos adultos, a administração parenteral resultou em pelo menos 98 % de redução da carga parasitária, exceto para *T. colubriformis* (aproximadamente 90 % de redução). Já o tratamento oral (0.2 mg/kg de IVM) resultou em pelo menos 95 % de redução da carga parasitária (estágio L4) de cada uma das oito espécies. Candela e colaboradores (2018), por sua vez, constataram que o acúmulo do fármaco, em parasitos-alvo, está diretamente relacionado à concentração da molécula no sítio de localização dos nematoides (por exemplo, o trato gastrointestinal). Nesse sentido, a ação anti-helmíntica dependeria da capacidade do princípio ativo atingir receptores específicos no organismo dos endoparasitos.

De acordo com Campbell e colaboradores (1983), concentrações de IVM no tecido pulmonar são elevadas em relação à concentração plasmática, de modo que a quantidade de fármaco a qual nematoides pulmonares estão expostos é consideravelmente mais alta que a do trato gastrointestinal, o que poderia explicar a atividade excepcional da IVM contra *Dictyocaulus* spp. Já no estudo de Bogan e McKellar (1988) foi demonstrado que, após tratamento com IVM em ovelhas infestadas por *Cooperia curticei*, os parasitos que permaneceram no intestino delgado estavam localizados mais distalmente que aqueles de

ovelhas não tratadas. Diante disso, os autores concluíram que os parasitos do intestino delgado paralisados pelo fármaco puderam se recuperar o suficiente para se restabelecerem distalmente no órgão.

Relativamente aos efeitos da IVM a 1 % (IVOMECA®, Merial) contra ectoparasitos, Rehbein e colaboradores (2002) verificaram que uma única aplicação do fármaco, de bovinos, eliminou efetivamente ácaros do gênero *Sarcoptes*, e a rápida redução da contagem destes parasitos foi correlacionada à melhora clínica dos animais. Além disso, todos os indivíduos tratados ficaram livres de *Sarcoptes* spp. pelo menos 4 semanas após a administração do medicamento. Já Lifschitz e colaboradores (2018) analisaram, também em bovinos, a relação entre o comportamento farmacocinético da IVM e a eficácia contra *Psoroptes ovis* (sarna psoróptica), após administração subcutânea de duas formulações comerciais. Devido à lipofilicidade elevada, o fármaco apresentou longa persistência e ampla distribuição (do plasma aos diferentes sítios de localização do parasito), o que é essencial à atividade contra diferentes parasitos. Contudo, a IVM não conseguiu promover cura parasitológica, em contraste com inúmeros ensaios anteriores - são necessárias, em alguns casos, administrações repetidas, a fim de se obter maior eficácia. A farmacocinética foi descartada como possível causa do insucesso terapêutico, haja vista que foram observados níveis elevados de IVM na pele dos animais, e os autores sugeriram que pode ter havido desenvolvimento de resistência.

Doherty e colaboradores (2018), em conformidade com a hipótese supracitada, associaram a falha no tratamento da sarna ovina, no Reino Unido, à resistência adquirida por *P. ovis* contra lactonas macrocíclicas - neste trabalho, a falta de suscetibilidade dos ácaros foi corroborada por ensaio *in vitro*. Vercruyssen e colaboradores (2008), por sua vez, observaram que bovinos da raça Belga Azul aparentam ser muito sensíveis a *Psoroptes ovis*, e, portanto, são animais nos quais tratamentos únicos com IVM nem sempre resultam na eliminação completa do parasito. Diante disso, uma possível explicação pode ter sido levantada por Losson e colaboradores (1999): diferenças na disponibilidade sistêmica de IVM podem acarretar uma menor exposição de parasitos ao fármaco, e, conseqüentemente, produzir menores índices de eficácia.

Para Davey e colaboradores (2010), ter conhecimento do tempo durante o qual a IVM se encontra em níveis acima da concentração plasmática mínima pode ser extremamente útil para se estabelecer uma relação PK/PD, por exemplo, contra *R. (B.) microplus*; os autores propuseram um limite de 8 ng/ml após a administração, em bovinos, de uma formulação de

ação prolongada. Já Nava e colaboradores (2019) evidenciaram que tratamentos sucessivos com IVM a 3.15 % podem aumentar o acúmulo do fármaco em tecidos bovinos, ampliando o período de carência indicado para a formulação. Este fato, segundo os autores, é relevante não só do ponto de vista da saúde pública, mas também da comercialização de carne bovina.

No tocante aos equídeos, Klei e colaboradores (2001) reavaliaram a eficácia da IVM contra parasitos gastrintestinais. Para tanto, 20 pôneis foram tratados com pasta oral, na dose de 200 µg/kg; os autores concluíram que o fármaco permanecia altamente eficaz para uma ampla gama de espécies de estrongilídeos, e 24 espécies de ciatostomíneos. Teare e Bush (1984), por sua vez, investigaram a toxicidade e a eficácia da IVM após cinco quelônios (*Geochelone carbonaria*) receberem injeção intramuscular do fármaco, na dose de 0.4 mg/kg, e serem encontrados em estado de paresia extrema ou paralisia flácida. Observou-se que doses seguras - induzindo pouca ou nenhuma paresia - foram até 10 vezes menores que aquela recomendada para cavalos. Segundo os autores, a intoxicação de quelônios pode ser evitada com tratamentos semanais de baixa dosagem de IVM, o que também garantiria a eficácia contra nematoides intestinais.

Partindo-se da premissa que a eficácia das lactonas macrocíclicas depende, dentre outros fatores, da presença do fármaco em tecidos-alvo, tanto em termos de quantidade como de duração, e que a concentração plasmática está intimamente relacionada com a concentração no sítio de localização do parasito (LIFSCHITZ et al., 2000), Lespine e colaboradores (2005) compararam a disposição e eficácia da IVM em cabras, após administração oral ou subcutânea. A eficácia contra *T. colubriformis* foi de 98.7 e 99.9 % para as vias subcutânea e oral, respectivamente. Por outro lado, os autores sugerem, com base nos níveis inferiores de IVM em tecidos-alvo após administração oral, que a duração da eficácia pode estar encurtada em animais com baixo escore de condição corporal. De acordo com Alvinerie e colaboradores (1999), inúmeras situações ligadas ao jejum, como baixo escore de condição corporal associado à carga parasitária elevada, podem afetar a biodisponibilidade de um medicamento; de modo semelhante, a ingestão de grandes quantidades de ração ou forragem pode reduzir a absorção e a biodisponibilidade da IVM administrada, por via oral, em ovelhas (ALI e HENNESSY, 1996; TAYLOR et al., 1997).

2. FARMACOCINÉTICA

Já está bastante estabelecido que o comportamento cinético da IVM é amplamente influenciado por inúmeros fatores, e que o conhecimento dos parâmetros farmacocinéticos de determinado medicamento é base não apenas para predição e otimização da eficácia deste, como também para determinação da concentração residual e do período de carência em tecidos destinados ao consumo humano (GOTARDO et al., 2020).

Desde a introdução da IVM no mercado de produtos farmacêuticos veterinários, em 1981, já foram realizados numerosos estudos farmacocinéticos, em diferentes espécies e sob condições experimentais diversas. Em bovinos, os valores mais baixos da área sob a curva de concentração plasmática pelo tempo são obtidos após administração tópica, seja na dose de 500 ou 200 µg/kg. A administração parenteral retarda o pico da concentração plasmática, em comparação com a via oral, mas promove maior disponibilidade geral no plasma sanguíneo, maior duração da atividade e, por conseguinte, maior eficácia (CANGA et al., 2009). Molento e colaboradores (2004), por sua vez, apontaram que a menor absorção do princípio ativo, após administração oral, seria decorrente da atividade da glicoproteína P, que está presente no epitélio intestinal; quando a IVM é coadministrada com verapamil (bloqueador da glicoproteína P), a concentração plasmática máxima e a biodisponibilidade do fármaco em questão aumentam, culminando na ampliação da eficácia antiparasitária.

Por outro lado, a administração intrarruminal produz baixa disponibilidade sistêmica, o que poderia explicar a menor eficácia contra ectoparasitas e menor duração da atividade contra nematóides gastrintestinais (MCKELLAR et al., 2012).

Quanto a diferenças farmacocinéticas decorrentes de alterações, por exemplo, fisiológicas e metabólicas, entre diferentes raças bovinas, um estudo conduzido por Ndong e colaboradores (2005) comparou as variações na farmacocinética da IVM a 1 % entre bovinos da raça zebuína Gobra e animais de outras raças, constatando que esses apresentaram absorção e eliminação do fármaco mais rápidas. Tal diferença farmacocinética pode ser explicada por uma maior metabolização hepática, bem como por uma menor porcentagem de gordura corporal de indivíduos da raça Gobra. Considerando-se a lipofilicidade da IVM, a farmacocinética pode ser afetada pela proporção de tecido adiposo do animal, tendo em vista que esse atua como um “reservatório” (CANGA et al., 2009). Por outro lado, um estudo realizado em suínos apontou que o escore de gordura corporal não influenciou na farmacocinética da IVM nesta espécie (CRAVEN et al., 2002).

Vercruyse e colaboradores (2008), por sua vez, avaliaram diferenças farmacocinéticas após aplicação subcutânea de IVM em bovinos das raças Holandês e Belgian Blue, e observaram concentrações mais baixas do fármaco nos tecidos-alvo de animais Holandeses. Segundo os autores, isso pode ser explicado pelas diferenças fisiológicas na pele (local de aplicação) das raças estudadas. Já no estudo de Gotardo e colaboradores (2020) foram utilizadas formulações de IVM a 1 e 3.5 %, administradas por via subcutânea, em bovinos *Bos taurus indicus*, *Bos taurus taurus* e híbridos, e características que poderiam influenciar na concentração plasmática do fármaco, como gênero e raça, foram consideradas covariáveis. Observou-se que a concentração plasmática, área sob a curva de concentração-tempo, concentração máxima e meia-vida de eliminação da IVM foram significativamente maiores em *B. indicus* em comparação com *B. taurus*, e não foi detectada influência do gênero. Os animais mestiços apresentaram perfil farmacocinético intermediário entre bovinos europeus e indianos.

Ao se contrastar os perfis farmacocinéticos da IVM e da doramectina, administradas, em bovinos, pela via subcutânea, Toutain e colaboradores (1997) observaram que a maior diferença ocorreu na área sob a curva de concentração-tempo, que é cerca de 40 % maior para doramectina. Tal discrepância é consistente com a hipótese de maior disponibilidade deste fármaco, no organismo do indivíduo, por um período de tempo mais longo. Além disso, a doramectina apresentou taxa de excreção mais lenta que a IVM, o que também aumenta o tempo de exposição dos animais a concentrações terapêuticas de doramectina. Em sintonia com esses achados, Gayrard e colaboradores (1999) demonstraram que, após administração tópica, a exposição sistêmica, mensurada a partir da área sob a curva de concentração-tempo, foi 45 % maior para doramectina que para IVM. Ademais, estes autores enfatizaram que alterações individuais na cinética plasmática das avermectinas podem ser responsáveis pela variabilidade interindividual na persistência da eficácia destas moléculas; tal conclusão é apoiada por Yazwinski e colaboradores (1995), que afirmaram ser a manutenção do efeito anti-helmíntico da IVM uma propriedade da variação individual do animal, da formulação, do momento do tratamento e da espécie de nematoide que se deseja combater.

Já a distribuição de IVM e doramectina foi cotejada, em diferentes tecidos nos quais parasitos podem ser encontrados, por Lifschitz e colaboradores (2000), após administração subcutânea dos fármacos em bezerros. Observou-se uma forte correlação entre os perfis de concentração plasmática e tecidual para ambas as substâncias; os elevados coeficientes de

correlação, segundo os autores, demonstram o alto grau de associação entre as concentrações plasmáticas e nos tecidos-alvo de bovinos. Coop e colaboradores (2002), por sua vez, reforçam que a duração de concentrações eficazes de endectocidas, no plasma sanguíneo, é importante no tratamento de infestações por carrapatos, haja vista que estes parasitos acumulam níveis letais de substâncias por meio da alimentação. Assim sendo, a menor eficácia da IVM ou da doramectina contra espécies de piolhos que se alimentam de resíduos epiteliais, pode ser atribuída à menor exposição destes ectoparasitas a fluidos corporais contendo esses fármacos (GONZALES et al., 1993).

No mesmo sentido de estudos supramencionados, a cinética plasmática de IVM, moxidectina e doramectina foi investigada por Lanusse e colaboradores (1997), após administração subcutânea de formulações comercialmente disponíveis para bovinos. A absorção da moxidectina, no local de aplicação, foi significativamente mais rápida que da IVM e doramectina; o pico de concentração plasmática da moxidectina foi alcançado em menor tempo que os da IVM e doramectina; o tempo médio de permanência no plasma sanguíneo foi maior para moxidectina em comparação com IVM e doramectina. Como a atividade antiparasitária dessas moléculas depende da concentração do princípio ativo e do tempo de exposição do parasito ao fármaco, a avaliação dos perfis farmacocinéticos comparativos pode ajudar a estimar com maior acurácia a eficácia de determinado medicamento. Gayrard e colaboradores (1999), corroborando a conclusão exposta acima, sugeriram que animais com menor exposição à IVM têm maior probabilidade de não obterem a cura parasitológica para parasitos mais resistentes.

Variações do perfil farmacocinético da IVM, entre diferentes raças bovinas, podem estar ligadas, por exemplo, a alterações fisiológicas, e reforçam a importância da farmacocinética descritiva para que se evite o uso indevido de endectocidas, o que pode acarretar o surgimento de resistência parasitária (NDONG et al., 2005). A ligação de fármacos a componentes plasmáticos, de acordo com Vercruyse e colaboradores (2008), também é um determinante de interesse em estudos farmacocinéticos. No plasma sanguíneo, a IVM e demais lactonas macrocíclicas se associam principalmente a lipoproteínas de alta densidade, enquanto a ligação à albumina é de menor importância.

No tocante a estudos farmacocinéticos em outras espécies, Scott e McKellar (1992) analisaram a farmacocinética da IVM, administrada pela via subcutânea (300 µg/kg), em seis porcos. Em determinado animal, a área sob a curva de concentração-tempo foi

particularmente elevada, o que pode refletir variação individual na absorção e excreção do fármaco. A meia-vida média de eliminação foi de 35.2 horas, sugerindo que a IVM é eliminada lentamente nessa espécie - a molécula foi detectável, no plasma sanguíneo, ao longo de 6 a 10 dias. Os autores concluíram que, em suínos, a administração por via parenteral produziu absorção mais lenta, e, por outro lado, maior disponibilidade geral do medicamento. Chittrakarn e colaboradores (2009), por sua vez, avaliaram a farmacocinética da IVM, administrada pela via subcutânea e na dose de 0.2 mg/kg, em oito gatos saudáveis. Segundo análise de um compartimento, a cinética de absorção pareceu diferir daquela de outros animais que receberam a mesma dose, pela mesma via de administração. A meia-vida de absorção da IVM, em gatos, foi de 0.27 dia, enquanto em ovelhas foi de 0.73 (CERKVENIK et al., 2002) ou 0.85 dia (ECHEVERRIA et al., 2002), e 4.32 dias em bovinos (TOUTAIN et al., 1997). Os dados indicaram uma absorção mais rápida em gatos que nos ruminantes, e esta mostrou ser semelhante à de outros monogástricos, como cães (GOKBULUT et al., 2006).

Em ovinos, os níveis plasmáticos de IVM são mais baixos que nos bovinos. A biodisponibilidade da via subcutânea é altamente variável, variando de 22 (LO et al., 1985) a 98,2 % (GONZÁLEZ et al., 2006). No estudo de Bogan e McKellar (1988), após administração oral, a concentração máxima e a área sob a curva de concentração-tempo foram maiores em cordeiros que ovelhas, provavelmente devido a diferenças na composição corporal. Já no trabalho de Cerkenik e colaboradores (2002) foi avaliada a concentração de IVM em seis ovelhas leiteiras, após administração subcutânea (0,2 mg/kg), tanto no plasma quanto no leite. As concentrações máximas, no leite, foram quase duas vezes mais altas em comparação com a administração oral, da mesma dose, também em ovelhas. Os valores de concentração máxima, para plasma e leite, foram semelhantes aos de cabras, após administração oral (SCOTT e MCKELLAR, 1992) e subcutânea (YUAN et al., 2019); por outro lado, a concentração máxima, no plasma e leite de bovinos, foi significativamente mais elevada (ALVINERIE et al., 1999; LANUSSE et al., 1997; LIFSCHITZ et al., 1999; TOUTAIN et al., 1988).

Quanto aos equinos, Canga e colaboradores (2009) ressaltam que, ao contrário dos ruminantes, o processo de absorção da IVM é mais rápido após a administração oral em comparação à subcutânea. Além disso, embora a segunda resulte em maior

biodisponibilidade, a via oral é mais indicada nessa espécie, haja vista que medicamentos injetáveis podem produzir edema local e outras reações adversas.

Estudos em caprinos são limitados, mas os níveis plasmáticos tendem a ser inferiores aos obtidos em bovinos e ovinos (GONZÁLEZ et al., 2006). Bassissi e colaboradores (2004) demonstraram que a IVM se associa, em cabras, a lipoproteínas, preferencialmente de alta densidade (88.1 %), com porcentagens de ligação de 7.3 % para lipoproteína de baixa densidade, 1.8 % para lipoproteína de muito baixa densidade, e 2.7 % para albumina e glicoproteína α -1. Tal característica pode afetar a entrega do fármaco ao tecido adiposo, e estar, por conseguinte, relacionada à permanência prolongada no organismo do animal.

3. FARMACOTÉCNICA

De acordo com os painéis de *business intelligence* do MAPA, há, registrados no Brasil para uso na espécie bovina, 91 produtos farmacêuticos veterinários ativos cujo princípio ativo é a IVM; são 78 nacionais e 16 importados, de administração injetável (por exemplo, subcutânea), oral ou tópica (por exemplo, *pour on*). Dentre as formulações injetáveis, a maioria (47 produtos) possui concentração de 1 %, seguida de produtos com 3.5 % (16) e, em terceiro lugar, fórmulas com 3.15 % (7) de IVM. Inúmeros estudos utilizaram diferentes formulações de IVM com concentração de 1 %, como pode ser observado nos trabalhos de Lo e colaboradores (1985), Toutain e colaboradores (1988), Lanusse e colaboradores (1997), Lifschitz e colaboradores (2004), Ndong e colaboradores (2005), Canton e colaboradores (2018), Ballent e colaboradores (2020), Gotardo e colaboradores (2020), e Leathwick e colaboradores (2020). Portanto, é de extrema importância que a farmacocinética de formulações de IVM a 1 % continue sendo objeto de estudo de experimentos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*.

Gotardo e colaboradores (2020) apontam que, sendo a IVM o antiparasitário mais utilizado no Brasil, faz-se essencial a compreensão dos fatores, como espécie, via de administração, formulação e peso corporal, que podem influenciar na concentração plasmática do fármaco. Segundo Lo e colaboradores (1985), estudos acerca da biodisponibilidade e farmacocinética da IVM, baseados na análise do plasma sanguíneo, são desenvolvidos em apoio a pesquisas de novas formulações, de dosagens fracionadas específicas ou aplicações únicas. O perfil farmacocinético da IVM é influenciado, dentre outros fatores, pela espécie-alvo, pelo sexo, idade, via de administração e pelas diferentes formulações disponíveis no

mercado (VERCRUYSSSE et al., 2008; CANGA et al., 2009). Para que se prolongue o efeito antiparasitário de uma única aplicação, por exemplo, foram desenvolvidas formulações de ação prolongada (GOTARDO et al., 2020). Nestas, segundo Miró e colaboradores (2022), o veículo retarda a absorção da IVM no tecido subcutâneo, de modo que o padrão de absorção no local da administração pode ser diferente entre animais tratados, interferindo na exposição sistêmica ao fármaco.

A estratégia de controle da população de endo e ectoparasitas baseada em somente uma aplicação de IVM propicia um manejo mais eficiente e menos laborioso dos animais, sejam de rebanho comercial ou experimental, tendo em vista a necessidade de contenção física de cada indivíduo. De acordo com Sarli e colaboradores (2022), formulações de longa duração com 3.15 % de IVM apresentam maior acúmulo do fármaco nos tecidos, e, por conseguinte, período de carência prolongado, além de elevado potencial de induzirem resistência parasitária. Sharun e colaboradores (2019), por outro lado, enfatizaram que, nos últimos anos, inúmeros esforços foram direcionados ao desenvolvimento de formulações de ação prolongada, visando especialmente a redução do número de doses necessárias para o tratamento de diferentes doenças parasitárias.

Lo e colaboradores (1985) assinalam que muitos estudos de biodisponibilidade podem servir como exemplos de modificação eficaz da formulação, com base nas propriedades de solubilidade da IVM, para que se prolongue a concentração sanguínea do fármaco, visando um possível incremento na atividade contra ectoparasitas.

Em conformidade com as informações expostas acima, Lifschitz e colaboradores (2004) enfatizaram que diferenças na formulação podem afetar significativamente a disposição farmacocinética de endectocidas em diferentes espécies animais. O veículo no qual estas moléculas são formuladas pode influenciar o processo de absorção e os perfis de concentração do fármaco. Além disso, Leathwick e colaboradores (2020) destacaram que a administração de IVM por diferentes vias pode resultar em alterações substanciais na concentração do princípio ativo no parasito-alvo, culminando em notáveis variações de eficácia. Nesse sentido, Bridi e colaboradores (2001) recordam que a IVM, em formulação injetável a 1 % e na dose de 200 µg/kg, foi empregada com sucesso para bovinos por muitos anos, embora alguns problemas no tratamento de sarna psorótica tenham sido relatados.

Após o desenvolvimento da primeira formulação de IVM de uso veterinário, diferentes modificações farmacêuticas foram testadas para que se estendesse a atividade endectocida do fármaco. Formulações de IVM a 1 % e de ação prolongada são majoritariamente preparações à base de óleo, com absorção lenta no tecido subcutâneo e persistência prolongada do fármaco no organismo (LIFSCHITZ et al., 2004). Objetivando-se estender ainda mais o período de persistência da ação antiparasitária, com uma única aplicação, foram introduzidas no mercado preparações de ação prolongada altamente concentradas, por exemplo, a 3.15 % (BRIDI et al., 2001). Estas, segundo Nava e colaboradores (2019), são amplamente utilizadas para controlar infestações por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos. Contudo, o período de carência das formulações comerciais de IVM a 3.15 %, desde o último tratamento até o abate dos animais, varia de 50 até mais de 100 dias. Sarli e colaboradores (2022) ressaltam que a utilização de esquemas de tratamento baseados em aplicações sucessivas desta formulação pode resultar no desenvolvimento de resistência em *R. microplus*, além da possibilidade de produzir efeito aditivo no acúmulo de resíduos, estendendo o período de carência do fármaco na espécie bovina.

O uso estratégico de formulações de longa duração (por exemplo, com 3.15 % de IVM) é direcionado à extensão do período de proteção do medicamento no hospedeiro, e à redução dos custos de mão de obra no manejo dos animais (LIFSCHITZ et al., 2007). A relação direta entre o tempo de permanência das moléculas de endectocidas e a eficácia estendida contra endo e ectoparasitas foi demonstrada em diferentes estudos, como o de Wicks e colaboradores (1993), Bridi e colaboradores (2001) e Rehbein e colaboradores (2002).

Conforme demonstrado por Lo e colaboradores (1985), Wicks e colaboradores (1993) e Lanusse e colaboradores (1997), a taxa de absorção de endectocidas, em bovinos, é consideravelmente influenciada pelas preparações farmacêuticas; após administração parenteral de IVM, por exemplo, a baixa solubilidade em água e a deposição do princípio ativo no tecido subcutâneo favorecem uma lenta absorção no local de aplicação, proporcionando maior tempo de permanência do fármaco na corrente sanguínea. Além disso, Lifschitz e colaboradores (2004) observaram uma grande diferença no processo de absorção entre quatro formulações de IVM a 1 % de uso veterinário, o que pode ser explicado pelas diferenças na composição/qualidade do veículo.

Em sintonia com os dados supramencionados, Lifschitz e colaboradores (2007) verificaram, no plasma sanguíneo de 28 novilhas, um tempo de permanência significativamente menor para uma formulação de IVM a 1 %, administrada a 630 µg/kg, em comparação com valores observados após tratamentos com duas preparações de ação prolongada, o que confirmou, para os autores, a vantagem farmacocinética da modificação na composição do veículo.

No tocante à via de administração dos anti-helmínticos de uso veterinário, Candela e colaboradores (2018) enfatizam que a escolha é influenciada por razões práticas de gestão ou motivos comerciais da indústria farmacêutica, de modo que ovinos e caprinos são geralmente tratados por via oral, enquanto, em bovinos, empregam-se vias parenterais (p. ex.: subcutânea) ou tópica (p. ex.: *pour on*).

A eficácia de uma única administração, em bovinos europeus, do mesmo produto comercial à base de IVM, nas concentrações de 1 e 3.15 %, durou menos de 15 (TOUTAIN et al., 1997) e 42 dias (DAVEY et al., 2010), respectivamente - concentrações plasmáticas superiores a 8 ng/ml. Já em animais da raça Nelore, Gotardo e colaboradores (2020) observaram que a concentração plasmática do antiparasitário persistiu por 17 dias, após administração da formulação a 1 %, e ao longo de 65 dias depois da aplicação da formulação a 3.15 %. No tocante às formulações *pour on*, embora sejam mais concentradas (por exemplo, 500 µg/kg) que as de administração subcutânea (200 µg/kg para a formulação com 1 % de IVM), Cruz e colaboradores (2015) ressaltaram que a biodisponibilidade do princípio ativo é notadamente inferior no sítio de ação do parasito. Além disso, formulações *pour on* estão suscetíveis à interferência de fatores ambientais, como a chuva, que podem diminuir a ação contra os ectoparasitas-alvo. Por tais razões, lactonas macrocíclicas administradas topicamente são consideradas, por autores como Lopes e colaboradores (2014), as principais responsáveis pelo surgimento de resistência parasitária.

Sharun e colaboradores (2019) afirmaram que a aplicação subcutânea de formulações de IVM é mais eficiente, em termos de biodisponibilidade, que a administração oral ou tópica; no caso da administração oral, a biodisponibilidade de IVM é menor devido à ligação do fármaco ao conteúdo orgânico do trato gastrointestinal. No mesmo sentido, Alvinerie e colaboradores (1999) verificaram que uma grande quantidade da IVM administrada oralmente foi eliminada junto às fezes de bovinos; Molento e colaboradores (2004), por sua vez,

apontaram que a menor absorção de IVM, após administração oral, pode ser explicada pela influência da glicoproteína-P presente no epitélio intestinal.

De acordo com Lo e colaboradores (1985), pequenas diferenças na formulação podem resultar em alterações substanciais na atividade antiparasitária da IVM. A absorção é maior e mais rápida com um veículo aquoso que com propilenoglicol:glicerol-formol (60:40 v/v), e a meia-vida biológica do fármaco também é mais longa, estendendo a eficácia clínica. Sarli e colaboradores (2022) realizaram um tratamento, em novilhas, baseado em aplicações sucessivas de uma formulação de ação prolongada (3.15 %), a fim de reduzirem a infestação por *R. microplus*. Os resultados do estudo mostraram que, embora o nível de eficácia do esquema terapêutico para controle de carrapatos tenha sido elevado, esse apresentou consideráveis desvantagens, como o acúmulo do fármaco no plasma sanguíneo e o potencial aumento da pressão de seleção na população de ectoparasitas. Lifschitz e colaboradores (1999) constataram que a absorção da IVM no tecido subcutâneo é retardada com um veículo à base de óleo, em comparação com propilenoglicol:glicerol-formol, devido à liberação mais lenta do princípio ativo.

Se, por um lado, estudos acerca da influência da formulação em parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos da IVM, tanto em animais de produção quanto de companhia, abundam, por outro há poucos trabalhos que avaliam formulações alternativas para o ser humano. Diante desse cenário, Ceballos e colaboradores (2023) compararam a disponibilidade sistêmica e a farmacocinética da IVM administrada por via oral, a partir de diferentes formulações farmacêuticas (comprimido, solução ou cápsula), a seres humanos adultos saudáveis. A dissolução se mostrou um fator importante na determinação da disponibilidade sistêmica do fármaco, e concentrações plasmáticas mais elevadas foram verificadas após administração da solução, em comparação com a de comprimidos ou cápsulas de IVM. Além disso, os autores relataram uma clara tendência, em mulheres, de concentrações máximas e de exposição sistêmica mais elevadas, em comparação aos homens testados.

4. FARMACODINÂMICA (MECANISMO DE AÇÃO)

As avermectinas são agentes antiparasitários com atividade nematocida, acaricida e inseticida (ASHOUR, 2019). Produzidas por *Streptomyces avermitilis*, bactéria naturalmente encontrada no solo, tratam-se de lactonas macrocíclicas estruturalmente semelhantes,

diferenciadas pela presença dos componentes A e B (JOHNSON-ARBOR, 2022). Quanto às naturais, são uma mistura de quatro compostos, avermectina A₁, A₂, B₁ e B₂, cada um dos quais com duas variantes, a e b - as designações 'A' e 'B' descrevem a presença de grupos metoxi ou hidroxí na posição C5, enquanto os sobrescritos 1 e 2 se referem à presença de ligação dupla entre C22 e C23, ou hidrogênio em C22 e grupo hidroxí em C23, respectivamente; as variantes 'a' têm secbutila em C25, ao passo que 'b' possuem isopropila (LAING et al., 2017). Oito estruturas diferentes já foram isoladas e divididas em quatro componentes principais (A1a, A2a, B1a e B2a), e quatro secundários (A1b, A2b, B1b e B2b); enquanto essas compartilham semelhanças estruturais com macrolídeos (antibacterianos) e determinados antifúngicos, diferem-se no mecanismo de ação (BATIHA et al., 2020).

A ivermectina (IVM) é um antiparasitário derivado da avermectina, composto por 80 % de 22,23-dihidroavermectina-B1a e 20 % de 22,23-dihidroavermectina-B1b (TANG et al., 2021). Trata-se de um dos fármacos mais importantes, na medicina veterinária e humana, para controle de infecções parasitárias. Contudo, ainda que a atividade em canais de cloreto controlados por glutamato, em parasitas nematóides, tenha sido largamente descrita, a compreensão do mecanismo de ação da IVM permanece incompleta (LAING et al., 2017). Segundo a teoria padrão acerca do mecanismo de ação anti-helmíntica e inseticida, o fármaco é um modulador alostérico positivo e seletivo dos canais de cloreto controlados por glutamato, os quais são encontrados em nematóides e insetos; já em altas concentrações, a IVM pode atuar como modulador alostérico de canais iônicos encontrados no sistema nervoso central do hospedeiro mamífero (MARTIN et al., 2021). O sítio de ligação da IVM em canais de cloreto controlados por glutamato é formado entre o primeiro (M1) e terceiro (M3) domínio transmembrana, e subunidades adjacentes. Além disso, devido à natureza lipofílica da IVM, acredita-se que esta consiga se difundir através da cutícula presente no organismo de nematoides, distribuindo-se nas membranas celulares de órgãos-alvo, nos quais atinge altas concentrações (ATIF et al., 2019).

De acordo com Ashour (2019), a IVM é um endectocida: fármaco que atua tanto contra endo quanto ectoparasitas; além dos nematóides filariais, mostra-se eficaz contra inúmeros helmintos transmitidos pelo solo, míases e sarnas. O antiparasitário foi inicialmente aprovado para uso, no ser humano, em 1987, pela *Food and Drug Administration* (FDA, Estados Unidos da América), para tratamento oral de oncocercose, também conhecida como “cegueira do(s) rio(s)” e causada pelo parasita *Onchocerca volvulus* (JUAREZ et al., 2018).

Segundo Laing e colaboradores (2017), formulações de IVM destinadas a diferentes espécies de produção e animais de companhia passaram a ser lançadas, no mercado veterinário, praticamente todos os anos a partir da década de 1980, tornando-se, ao final deste período, o farmoquímico (insumo farmacêutico ativo) de saúde animal mais vendido no mundo.

Já foram demonstrados efeitos terapêuticos da IVM contra inúmeras doenças parasitárias do homem, como malária, tripanossomíase, esquistossomose, triquinose e leishmaniose (TANG et al., 2021). Para que a eficácia deste fármaco seja, para cada uma das condições supramencionadas, comprovada, Batiha e colaboradores (2020) enfatizam que compreender o mecanismo pelo qual as avermectinas atuam contra diferentes espécies de insetos, artrópodes, nematoides e vermes imaturos, como trematódeos, tênias e filárias, requer isolamento do sítio de ligação, da molécula, no parasito.

Os primeiros trabalhos acerca dos efeitos letais da IVM mostraram que esta aumentava a condutância de íons cloreto em neurônios, e, portanto, diminuía a resposta destes a estímulos excitatórios (LYNAGH e LYNCH, 2012). De modo geral, as avermectinas impedem a transmissão dos impulsos elétricos em músculos e nervos de invertebrados, amplificando os efeitos do glutamato nos canais de cloreto destes animais. Assim, uma grande quantidade de íons Cl^- entra nas células, causando hiperpolarização e paralisia do sistema neuromuscular (BATIHA et al., 2020). De acordo com Martin e colaboradores (2021), a IVM e moléculas análogas são moduladores alostéricos positivos que abrem seletivamente canais inibitórios de cloreto controlados por glutamato, encontrados nas membranas de músculos faríngeos, nervos motores, do trato reprodutivo feminino e de poros excretores/secretores de nematoides, além de músculos e nervos de insetos e crustáceos. Segundo Zemkova e colaboradores (2014), moduladores alostéricos positivos de canais de cloreto controlados por glutamato, musculares ou neuronais, têm o potencial de interromper a transmissão rítmica necessária para o bombeamento faríngeo, causando paralisia da faringe e, eventualmente, a morte de parasitos pela fome. Laing e colaboradores (2017), por sua vez, salientam que tais canais não estão presentes em vertebrados, o que garantiria, destarte, ampla margem de segurança ao fármaco nestes indivíduos.

Em linha com as informações expostas acima, os efeitos já bastante estudados da IVM nos invertebrados, segundo Martin e colaboradores (2021), são: (i) inibição da motilidade do músculo faríngeo; (ii) inibição dos impulsos nervosos em nervos motores; (iii) inibição da

liberação de ovos ou microfilárias pelo trato reprodutivo feminino; (iv) inibição da abertura dos poros excretores/secretores, reduzindo a imunossupressão do hospedeiro.

Lynagh e Lynch (2012) relatam que a identificação de canais de cloreto controlados por glutamato como alvos da IVM foi confirmada, dentre outras formas, pela elevada sensibilidade destes ao fármaco em tecidos responsivos a baixas doses de IVM, e pelo desenvolvimento de resistência a esta molécula após mutação dos canais. Estes pertencem à família de receptores Cys-loop de canais controlados por ligantes, com 102 subunidades em *Caenorhabditis elegans* e 45 no ser humano - inúmeros receptores inibitórios desta família são ativados pela IVM, como os canais de cloro controlados por histamina, em artrópodes. Segundo Zemkova e colaboradores (2014), a IVM atua contra *C. elegans*, em concentrações terapêuticas, a partir da ativação de canais de cloreto controlados por glutamato que contenham subunidades do tipo α . De acordo com Martin e colaboradores (2021), os canais de cloreto controlados por glutamato consistem de um anel de cinco subunidades de proteínas, que podem se organizar em combinações homogêneas ou heterogêneas. A família de genes que codifica cada subunidade difere entre as espécies de nematoides, e mudanças na sequência de aminoácidos, de qualquer uma das subunidades, podem alterar significativamente a sensibilidade do canal à IVM.

Alguns estudos indicam que a atividade da IVM pode não se limitar à neurofisiologia dos parasitos, como também influenciar a resposta imune do hospedeiro. Verificou-se, por exemplo, que determinadas lactonas macrocíclicas induziram a diminuição da liberação de proteínas do aparelho excretor-secretor de microfilárias, de modo que estas pudessem ser reconhecidas como entidades estranhas, e, portanto, combatidas pelo sistema imunológico do vertebrado (ASHOUR, 2019). Para Johnson-Arbor (2022), vertebrados carecem de canais de cloreto controlados por glutamato, e a IVM possui menor afinidade por canais controlados pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e glicina, os quais estão presentes nestes animais. Lynagh e Lynch (2012), por sua vez, salientam que um fator decisivo na letalidade combinada em nematoides e artrópodes, e na segurança em hospedeiros mamíferos, é a potência diferencial com a qual a IVM ativa receptores da família Cys-loop; canais de cloreto controlados por glutamato costumam ser ativados por baixas concentrações nanomolares (< 20), enquanto receptores de glicina e inibitórios do tipo GABA A requerem concentrações micromolares (1 - 10) para serem ativados.

De acordo com Ōmura (2008), a IVM possui eficácia comprovada contra helmintos, aracnídeos e insetos, mas não contra platelmintos, protozoários, bactérias ou fungos. O fármaco interfere nas sinapses neuromusculares, haja vista que atua nos canais de cloreto controlados por glutamato - comuns em nematóides, insetos e carrapatos -, paralisando, assim, músculos faríngeos e somáticos. Em vertebrados, por outro lado, estimula a liberação de GABA nos neurônios; mas, como estes geralmente estão no cérebro – protegidos, portanto, pela barreira hematoencefálica -, a IVM é excepcionalmente segura para mamíferos. Segundo Geary (2005), os primeiros trabalhos a respeito do mecanismo de ação da IVM focaram na capacidade de abertura dos canais de Cl⁻ controlados pelo GABA. No entanto, estudos subsequentes identificaram canais de Cl⁻ controlados por glutamato como os alvos fisiológicos mais prováveis da IVM e moléculas análogas. Esta classe de canais está ausente em vertebrados, mas desempenha funções importantes em insetos e nematóides.

Em harmonia com os dados apresentados acima, Canton e colaboradores (2018) afirmaram que a IVM é o anti-helmíntico mais utilizado para tratar nematóides gastrintestinais de bovinos, além de ser altamente eficiente contra vermes pulmonares e muitas espécies de artrópodes. De acordo com Sharun e colaboradores (2019), este fármaco demonstra ter eficácia limitada contra trematódeos ou cestóides, entretanto, é bastante eficiente no controle de ectoparasitas, como pulgas, moscas, carrapatos e ácaros.

Nematóides

A IVM é ativa contra dois filos principais de parasitos animais: Nematoda, ou nematóides (lombrigas), e Arthropoda (insetos, carrapatos e ácaros). Estudos acerca do mecanismo de ação da IVM sugerem que é improvável que o fármaco seja ativo contra espécies do filo Platyhelminthes (vermes e tênias); na verdade, os platelmintos expostos à IVM não se mostraram susceptíveis (CAMPBELL et al., 1983).

A IVM é um fármaco antiparasitário de amplo espectro, comumente utilizado para tratar e prevenir múltiplas doenças causadas por parasitos nematóides. Apesar do uso extensivo, o mecanismo de ação desta molécula ainda não foi completamente elucidado (WOLSTENHOLME e ROGERS et al., 2005). A hipótese atualmente mais aceita compreende que a IVM funciona, pelo menos em parte, inibindo a secreção de proteínas excretoras-secretoras dos parasitos; isso prejudica a capacidade de modularem a resposta imunológica do hospedeiro, facilitando, assim, a eliminação do parasito (MORENO et al.,

2010). Dentro de uma mistura heterogênea de produtos excretadores-secretadores, já foram documentados efetores imunomoduladores do hospedeiro, incluindo o fator inibidor de macrófagos 1 (HARNETT et al., 1999). Além disso, a hipótese de que a IVM pode inibir a secreção de produtos excretadores-secretadores imunomoduladores é consistente com a rápida eliminação de microfilárias, observada após o tratamento em indivíduos infectados por nematóides; dados experimentais mostram que a IVM aumentou a ligação de leucócitos à microfilária de *Dirofilaria immitis* (BERRAFATO et al., 2019). Por fim, existe um grande suporte à tese de que produtos excretadores-secretadores de nematóides filariais modulam a resposta imune do hospedeiro. A infecção precoce causada por nematóides filariais provoca uma resposta imune do tipo Th2, caracterizada pelo aumento da produção das interleucinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13, dos anticorpos IgG1, IgG4 e IgE, e de células Th2, eosinófilos, macrófagos alternativamente ativados e células linfóides inatas 2 (CARITHERS, 2017).

Os dados obtidos por Loghry e colaboradores (2020) mostraram que a IVM inibiu consistentemente a secreção de vesículas extracelulares contra todas as espécies e a maioria dos estágios de vida dos nematóides investigados no respectivo estudo, com exceção de vermes machos; outros fármacos antifilariosos não apresentaram esses resultados. Tais descobertas fornecem novos *insights* sobre as vias específicas do estágio, do sexo e da espécie, e a regulação farmacológica da secreção de vesículas extracelulares em parasitos nematóides.

Cestóides

Existem poucos estudos sobre os efeitos da IVM em cestóides. Casado e colaboradores (2002) demonstraram, *in vitro*, uma rápida atividade protoscolicida (contra o protoescólex de *Echinococcus granulosus*) do fármaco, nas concentrações de 10 e 100 µg/mL. A partir disso, uma certa atividade cestocida foi proposta, mas a base molecular do mecanismo de ação permaneceu desconhecida até o estudo de Pérez-Serrano e colaboradores (2001). Investigou-se, neste, o efeito da IVM no estágio metacestoda de *Echinococcus granulosus*, por meio da análise de viabilidade, ultraestrutura e potencial da membrana tegumentar, em função da concentração do fármaco e do tempo de incubação. A concentração de 10 µg/ml provocou uma sequência de alterações, que tiveram início com aproximadamente 20 mV de despolarização da membrana tegumentar, seguida de desorganização do rostelo, paralisia rígida e, eventualmente, perda de viabilidade. Os autores sugeriram que a

despolarização do tegumento, induzida pela IVM, atua como um sinal que desencadeia a cascata de processos degenerativos que levam o parasito à morte - o que colocaria o tegumento como alvo primário da ação do fármaco em cestóides.

Por outro lado, a atividade cestocida demonstrada *in vitro* contrasta com a ineficácia da IVM, administrada por via oral, para tratamento da hidatidose em seres humanos. Isso ocorre possivelmente devido à concentração do fármaco, no fluido do cisto hidático, estar normalmente bastante abaixo de 10 µg/ml. Além disso, o efeito despolarizante da IVM no tegumento de *E. granulosus* diverge do efeito hiperpolarizante em neurônios e músculos de nematóides; enquanto um é explicado pelo aumento da permeabilidade aos íons Cl⁻, devido à ativação de canais de cloreto controlados por glutamato/IVM, o outro decorre de uma maior condutância tegumentar ao sódio, e menor ao potássio e/ou ao cloreto. Ahmadpour e colaboradores (2019), empregando transportadores nanolipídicos como um sistema de entrega direcionada e sustentada da IVM, confirmaram o efeito protoescolicida *in vitro* do fármaco - os autores salientaram que diferenças entre as metodologias de avaliação podem ser a causa de resultados conflitantes.

Trematóides

Shoop e colaboradores (1995) homogeneizaram *Fasciola hepatica* (verme adulto), incubaram as membranas na presença de 3H-ivermectina, e posteriormente mensuraram os locais de ligação com elevada afinidade a esta molécula; o mesmo procedimento foi realizado com o nematóide de vida livre *Caenorhabditis elegans*. Enquanto as membranas de *C. elegans* apresentaram locais de ligação de alta afinidade à molécula 3H-ivermectina, ao longo da faixa de concentrações de IVM testadas (5 - 100 nM), não foram detectados locais de ligação para 3H-ivermectina significativos nas membranas de *F. hepatica*. Com base nestes dados, os autores sugeriram ser improvável que qualquer avermectina ou milbemicina demonstrasse atividade contra *F. hepática* ou trematódeos em geral.

Em sentido oposto, a descoberta da sinalização mediada por glutamato, em *Schistosoma mansoni*, aumentou as esperanças de novos alvos farmacológicas nesta espécie (DUFOUR et al., 2013). As lactonas macrocíclicas têm como alvo o canal neuronal de cloreto controlado pelo glutamato, expresso por artrópodes, nematóides e trematódeos. Os esquistossomos expressam esses canais, mas a base de evidências para a eficácia da IVM contra *S. mansoni* é inconclusiva - o que pode ser explicado por uma afinidade relativamente

baixa, ao fármaco em questão, no canal deste parasito (TAMAN et al., 2014). No entanto, Vicente e colaboradores (2021) relataram redução acentuada na carga de vermes adultos após o tratamento de ratos com altas doses de IVM, o que foi atribuído ao dano tegumentar infligido aos vermes. A ligeira redução na carga de vermes adultos, segundo os autores, pode indicar um possível efeito dose-dependente. Em outras palavras, não obstante às inibições farmacológicas do citocromo P450 e da glicoproteína P, a IVM não apresentou efeito significativo no número de ovos ou de vermes adultos de *S. mansoni*.

Piolhos

A IVM, além de paralisar os músculos relacionados à motilidade de helmintos, também o faz na musculatura associada à bomba faríngea, inibindo o bombeamento necessário à alimentação e fixação do parasito; a concentração necessária para causar paralisia da bomba faríngea é de 10 a 100 vezes menor que a requerida para a morte do agente parasitário. Strycharz e colaboradores (2011) investigaram a atividade ovicida da IVM aplicada topicamente em ovos de *Pediculus humanus humanus*, e avaliaram, nos piolhos que eclodiram de ovos tratados, a capacidade de alimentação. O fármaco não foi diretamente ovicida, pois a eclodibilidade não foi diferente entre grupo tratado e controle. Contudo, todos os piolhos que, dos ovos tratados, eclodiram, morreram sem necessidade de um segundo tratamento. Houve também diminuição de 10 a 20 vezes na porcentagem de piolhos eclodidos que se alimentaram de sangue após o tratamento dos ovos, sugerindo que a IVM pode ter afetado o funcionamento do aparelho bucal sugador destes indivíduos.

Em invertebrados, a IVM se liga aos canais de cloreto controlados pelo glutamato, levando a uma redução da atividade motora, paralisia e morte; no entanto, a base molecular para a ação deste fármaco, em piolhos, ainda não é totalmente conhecida. O estudo de Lamassiaude e colaboradores (2021) abordou, pela primeira vez, o mecanismo de ação da IVM, a nível molecular, nos receptores controlados por glutamato e GABA de piolhos (*Pediculus humanus humanus*). Observou-se que o fármaco ativou preferencialmente os canais de cloreto controlados por glutamato; ademais, a IVM bloqueou, nestes, o receptor de dieldrina, com uma concentração necessária para inibir 50 % da resposta quatro vezes maior que a concentração necessária para produzir 50 % da resposta máxima da própria IVM. Esses achados, de acordo com os autores, sugerem que os canais de cloreto controlados por glutamato, em *P. humanus*, são o alvo preferencial da IVM.

Em contrapartida, Sanchezruiz e colaboradores (2018) discorreram brevemente sobre o mecanismo de ação da IVM, pontuando que o fármaco ativaria, em piolhos, canais de cloreto controlados por glutamato. Tal ativação, especificamente em células nervosas e musculares, provocaria um aumento intercelular de cloreto e subsequente hiperpolarização, resultando na paralisia do parasito.

Carrapatos

Batiha e colaboradores (2020) enfatizaram que a compreensão do mecanismo pelo qual as avermectinas atuam contra diferentes espécies de insetos, artrópodes, nematóides e vermes imaturos, como vermes, tênia e parasitos filariais, une-se à boa tolerância dessas moléculas pelos hospedeiros. Os autores ainda lembraram que é necessário isolar, em cada espécie, o sítio de ligação para determinada avermectina, e estudar como o fármaco age, considerando que o sítio de ligação é específico para cada molécula. Crump (2017), por sua vez, explica que as avermectinas potencializam a neurotransmissão ao interromperem os canais de cloreto controlados por glutamato, além de terem efeito menor nos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA). Essas substâncias perturbam a neurotransmissão em células nervosas e musculares, causando hiperpolarização da membrana neuronal e induzindo paralisia da musculatura somática, particularmente da bomba faríngea, matando o parasito. Os canais relacionados ao GABA são comuns em nematóides e insetos, entretanto, os receptores e neurônios gabaérgicos estão restritos ao sistema nervoso central de mamíferos.

O mecanismo de ação IVM, de acordo com Park e colaboradores (2019), parece variar entre os organismos: inibe a transmissão do sinal na junção neuromuscular de alguns artrópodes, estimulando a liberação do glutamato de terminais nervosos pré-sinápticos; além disso, suprime o ingurgitamento, a ecdise e a reprodução de inúmeras espécies de carrapatos, como *Amblyomma hebraeum*, *Boophilus microplus* e indivíduos do gênero *Ixodes*.

Embora a eficácia da IVM, no tratamento de um amplo espectro de infecções parasitárias, já esteja bem estabelecida, o mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado. Em concentrações nanomolares, a IVM afeta motilidade, alimentação e reprodução de nematoides, e atua por meio de canais de cloreto controlados por ligantes (especificamente aqueles controlados pelo glutamato); em concentrações micromolares, a IVM pode interagir com uma gama mais ampla de canais controlados por ligantes - encontrados tanto em

invertebrados quanto vertebrados -, incluindo GABA, glicina e histamina, além de atuar em receptores nicotínicos de acetilcolina (LAING et al., 2017).

Montasser e Amin (2010) relataram, após tratamento com IVM, as alterações ultraestruturais que ocorreram no tegumento e nos músculos dorsoventrais de *Argas persicus* (carrapato aviário). A partir da administração subcutânea de IVM, na dose de 400 µg/kg, em pombos, constatou-se que o fármaco inibiu a atividade de células epidérmicas do carrapato, conforme avaliado pelo bloqueio das secreções, pela extensa deterioração das organelas citoplasmáticas, vacuolização do citoplasma, aumento do núcleo e subsequente ruptura da membrana nuclear. Além disso, a IVM causou graves danos às glândulas dérmicas e aos músculos dorsoventrais, esgotou as vesículas secretoras destas glândulas, e provocou fragmentação de miofilamentos e corpos densos nos músculos de *A. persicus*.

Segundo Obaid e colaboradores (2022), invertebrados protostomados, incluindo carrapatos, expressam canais de cloreto controlados por glutamato em neurônios e músculos, os locais-alvo das lactonas macrocíclicas. O mecanismo de ação da IVM foi caracterizado pela alta afinidade de ligação aos receptores destes canais, que controlam o movimento dos íons Cl⁻ em células musculares e nervosas.

Larvas de Cochliomyia hominivorax

A IVM é empregada no tratamento de uma ampla gama de endoparasitas (*Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma braziliense*, *Cochliomyia hominivorax* e *Dermatobia hominis*), filárias com tropismo cutâneo (*Filaria bancrofti*, *Wuchereria malayi*, *Onchocerca volvulus* e *Loa loa*), e ectoparasitas (*Sarcoptes sarna*, *Pediculus humanus*, *Demodex follicularis* e *Cheyletiella* spp.), em animais e no ser humano. O fármaco tem, portanto, efeito endectocida (simultaneamente contra endo e ectoparasitas): causa paralisia ao suprimir a condução de impulsos nervosos em sinapses interneurônicas (neurônios intermediários), de nematoides, e em sinapses músculo-nervosas, de artrópodes e insetos (DOURMISHEV et al., 2004).

De acordo com Lopes e colaboradores (2014), a IVM é a lactona macrocíclica mais lucrativa utilizada no mundo; tem como alvo os membros da superfamília de canais iônicos controlados por ligantes, principalmente os canais de cloreto controlados por glutamato, os quais ocorrem pela co-montagem de cinco subunidades nas membranas celulares

neuromusculares de invertebrados. O fármaco se liga à interface das subunidades dos canais de cloreto controlados pelo glutamato, que se abrem irreversivelmente, causando a morte do parasito. Os membros desta superfamília de canais iônicos ampliam a diversidade por meio de alterações pós-transcricionais, como *splicing* alternativo e edição de RNA, em muitos artrópodes (p. ex.: *Drosophila melanogaster*, *Apis mellifera*, *Nasonia vitripennis*). Campbell e colaboradores (1983), por sua vez, apontaram que larvas de moscas parasitas pareciam ser particularmente suscetíveis à IVM.

No estudo de Sayeed e colaboradores (2019), descreveu-se o efeito da IVM sistêmica (oral) no tratamento de miíase nasal e nasofaríngea. O tempo médio de eliminação das larvas de *C. hominivorax*, no grupo I (sem IVM) do experimento, foi de 41.2 horas, e no grupo II (com IVM) de 24.6 horas (diferença significativa). Os autores atribuíram tais resultados ao efeito da IVM, que causa paralisia das larvas, as quais tendem a se desprender precocemente do hospedeiro.

Em conformidade com os dados expostos acima, Gholami e colaboradores (2022) pontuam que a IVM tem sido empregado como método não invasivo, por exemplo, para tratamento da miíase oral e orbital, no ser humano.

REFERÊNCIAS

- AHMADPOUR, E. et al. Nanostructured lipid carriers of ivermectin as a novel drug delivery system in hydatidosis. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2019
- ALI, D. N.; HENNESSY, D. R. The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition and efficacy of ivermectin in sheep. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 89-94, 1996
- ALVINERIE, M. et al. Persistence of ivermectin in plasma and faeces following administration of a sustained-release bolus to cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 66, n. 1, p. 57-61, 1999
- ASHOUR, D. S. Ivermectin: From theory to clinical application. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 54, n. 2, p. 134-142, 2019
- ATIF, M. et al. GluClR-mediated inhibitory postsynaptic currents reveal targets for ivermectin and potential mechanisms of ivermectin resistance. **PLoS Pathogens**, v. 15, n. 1, p. e1007570, 2019
- BALLENT, M.; CANTÓN, C.; DOMINGUEZ, P.; BERNAT, G.; LANUSSE, C.; VIRKEL, G.; LIFSCHITZ, A. Pharmacokinetic-pharmacodynamic assessment of the ivermectin and

abamectin nematocidal interaction in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 279, p. 109010, 2020

BASSISSI, M. F.; ALVINERIE, M.; LESPINE, A. Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 138, n. 4, p. 437-444, 2004

BATIHA, G. E. S. et al. Avermectin derivatives, pharmacokinetics, therapeutic and toxic dosages, mechanism of action, and their biological effects. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 8, p. 196, 2020

BERRAFATO, T. et al. Macrocyclic lactone anthelmintic-induced leukocyte binding to *Dirofilaria immitis* microfilariae: influence of the drug resistance status of the parasite. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 10, p. 45-50, 2019

BOGAN, T. L.; MCKELLAR, Q. A. The pharmacodynamics of ivermectin in sheep and cattle. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 11, n. 3, p. 260-268, 1988

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Painéis de BI do MAPA. [Brasília]: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, [2023]. Disponível em: <https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/single/?appid=a3e9ce67-d63b-43ff-a295-20123996ead7&sheet=4c2ec12f-be27-47f2-8136-e2fd18cbb54a&lang=pt-BR&opt=ctxmenu&select=clearall>. Acesso em: 12 de jun. 2023

BRIDI, A. A. et al. Efficacy of a long-acting formulation of ivermectin against *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) on cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 4, p. 277-283, 2001

CAMPBELL, W. C. et al. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. **Science**, v. 221, n. 4613, p. 823-828, 1983

CANTON, C.; CANTON, L.; DOMÍNGUEZ, M. P.; MORENO, L.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L.; CEBALLOS, L. Field trial assessment of ivermectin pharmacokinetics and efficacy against susceptible and resistant nematode populations in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 256, p. 43-49, 2018

CARITHERS, D. S. Examining the role of macrolides and host immunity in combatting filarial parasites. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2017

CASADO, N. et al. Could ivermectin have a synergic effect with albendazole in hydatidosis therapy? 1. In vitro studies. **Parasitology research**, v. 88, p. 153-159, 2002

CEBALLOS, L. et al. Ivermectin systemic availability in adult volunteers treated with different oral pharmaceutical formulations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 160, p. 114391, 2023

CERKVENIK, V. et al. Ivermectin pharmacokinetics in lactating sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 104, n. 2, p. 175-185, 2002

CHITTRAKARN, S. et al. Pharmacokinetics of ivermectin in cats receiving a single subcutaneous dose. **Research in Veterinary Science**, v. 86, n. 3, p. 503-507, 2009

COOP, R. L. et al. Ectoparasites: recent advances in control. **TRENDS in Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 55-56, 2002

CRAVEN, J. et al. The effects of body composition on the pharmacokinetics of subcutaneously injected ivermectin and moxidectin in pigs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 25, n. 3, p. 227-232, 2002

CRUMP, A. Ivermectin: enigmatic multifaceted 'wonder' drug continues to surprise and exceed expectations. **The Journal of antibiotics**, v. 70, n. 5, p. 495-505, 2017

DAVEY, R. B. et al. Therapeutic and persistent efficacy of a long-acting (LA) formulation of ivermectin against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and sera concentration through time in treated cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 1-2, p. 149-156, 2010

DOHERTY, E. et al. First evidence of resistance to macrocyclic lactones in *Psoroptes ovis* sheep scab mites in the UK. **Veterinary Record**, v. 182, n. 4, p. 106-106, 2018

DOURMISHEV, A. L.; DOURMISHEV, L. A.; SCHWARTZ, R. A. Ivermectin: pharmacology and application in dermatology. **International journal of dermatology**, v. 44, n. 12, p. 981-988, 2004

DUFOUR, V. et al. Molecular cloning and characterization of novel glutamate-gated chloride channel subunits from *Schistosoma mansoni*. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 8, p. e1003586, 2013

ECHEVERRIA, 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, n. 2, p. 159-160, 2002

EGERTON, J. R.; EARLY, C. H.; SUHAYDA, D. The anthelmintic efficacy of ivermectin in experimentally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 8, n. 1, p. 59-70, 1981

GAYRARD, V.; ALVINERIE, M.; TOUTAIN, P. L. Comparison of pharmacokinetic profiles of doramectin and ivermectin pour-on formulations in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 47-55, 1999

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

GHOLAMI, M. H.; HASHEMI, F.; ENTEZARI, M. Ivermectin: An Effective Remedy Against Various Diseases: A Literature Review. 2022

GOKBULUT, C. et al. Comparative plasma dispositions of ivermectin and doramectin following subcutaneous and oral administration in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 135, n. 3-4, p. 347-354, 2006

GONZALES, J. C. et al. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 1, p. 107-119, 1993

GONZÁLEZ, A. et al. Pharmacokinetics of a novel formulation of ivermectin after administration to goats. **American journal of veterinary research**, v. 67, n. 2, p. 323-328, 2006

GOTARDO, A. T. et al. The effect of breed, sex, and drug concentration on the pharmacokinetic profile of ivermectin in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 43, n. 5, p. 477-484, 2020

HARNETT, W. et al. Immunomodulatory properties of a phosphorylcholine-containing secreted filarial glycoprotein. **Parasite immunology**, v. 21, n. 12, p. 601-608, 1999

HUANG, Q.; RIVIERE, J. E. The application of allometric scaling principles to predict pharmacokinetic parameters across species. **Expert Opinion Drug Metabolism Toxicology**, v. 10, n. 9, p. 1241-1253, 2014

Ivomec: ivermectina [bula de medicamento]. Simone B. Zampieri - CRMV-SP 19.996. Paulínia: Boehringer Ingelheim Animal Health do Brasil Ltda.; Licenciado em 16/12/1980. Disponível em: https://www.boehringer-ingelheim.com.br/sites/br/files/ivomec_injetavel.pdf. Acesso em: 20 de jun. 2023

JOHNSON-ARBOR, K. Ivermectin: a mini-review. **Clinical Toxicology**, v. 60, n. 5, p. 571-575, 2022

JUAREZ, M.; SCHCOLNIK-CABRERA, A.; DUEÑAS-GONZALEZ, A. The multitargeted drug ivermectin: from an antiparasitic agent to a repositioned cancer drug. **American Journal of Cancer Research**, v. 8, n. 2, p. 317, 2018

KLEI, T. R. et al. Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 4, p. 315-320, 2001

LAING, R.; GILLAN, V.; DEVANEY, E. Ivermectin—old drug, new tricks? **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 6, p. 463-472, 2017

LAMASSIAUDE, N. et al. The molecular targets of ivermectin and lotilaner in the human louse *Pediculus humanus humanus*: new prospects for the treatment of pediculosis. **PLoS Pathogens**, v. 17, n. 2, p. e1008863, 2021

LANUSSE, C. et al. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 2, p. 91-99, 1997

LEATHWICK, D. M. et al. Route of administration influences the concentration of ivermectin reaching nematode parasites in the gastrointestinal tract of cattle. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 14, p. 152-158, 2020

LESPINE, A. et al. Influence of the route of administration on efficacy and tissue distribution of ivermectin in goat. **Veterinary parasitology**, v. 128, n. 3-4, p. 251-260, 2005

- LI, M.; GEHRING, R.; TELL, L.; BAYNES, R.; HUANG, Q.; RIVIERE, J. E. Interspecies mixed-effect pharmacokinetic modeling of penicillin G in cattle and swine. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4495-4503, 2014
- LIFSCHITZ, A. et al. Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 87, n. 4, p. 327-338, 2000
- LIFSCHITZ, A. et al. Eprinomectin accumulation in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Pharmacokinetic and efficacy assessment. **Veterinary parasitology**, v. 215, p. 11-16, 2016
- LIFSCHITZ, A. et al. Failure of ivermectin efficacy against *Psoroptes ovis* infestation in cattle: integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic evaluation of two commercial formulations. **Veterinary parasitology**, v. 263, p. 18-22, 2018
- LIFSCHITZ, A. et al. Ivermectin (3.15%) long-acting formulations in cattle: absorption pattern and pharmacokinetic considerations. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 3-4, p. 303-310, 2007
- LIFSCHITZ, A. et al. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 203-215, 1999
- LIFSCHITZ, A. et al. Pharmacokinetic evaluation of four ivermectin generic formulations in calves. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 2-3, p. 247-257, 2004
- LO, A. P. et al. Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation. **Veterinary Research Communications**, v. 9, p. 251-268, 1985
- LOGHRY, H. J. et al. Ivermectin inhibits extracellular vesicle secretion from parasitic nematodes. **Journal of extracellular vesicles**, v. 10, n. 2, p. e12036, 2020
- LOPES, A. M. M.; DE CARVALHO, R. A.; DE AZEREDO-ESPIN, A. M. L. Glutamate-gated chloride channel subunit cDNA sequencing of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): cDNA variants and polymorphisms. **Invertebrate Neuroscience**, v. 14, p. 137-146, 2014
- LOSSON, B. J.; LONNEUX, J. F.; LEKIMME, M. The pathology of *Psoroptes ovis* infestation in cattle with a special emphasis on breed difference. **Veterinary Parasitology**, v. 83, n. 3-4, p. 219-229, 1999
- LYNAGH, T.; LYNCH, J. W. Ivermectin binding sites in human and invertebrate Cys-loop receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 8, p. 432-441, 2012
- MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P.; CHOUDHARY, S. Ivermectin: an anthelmintic, an insecticide, and much more. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 1, p. 48-64, 2021
- MCKELLAR, Q.; GOKBULUT, C. Pharmacokinetic features of the antiparasitic macrocyclic lactones. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 888-911, 2012

- MIRÓ, M. V. et al. Influence of the cattle body weight estimation for drug dosing on the pharmacokinetic and efficacy of ivermectin against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Systematic and Applied Acarology**, v. 27, n. 9, p. 1800-1812, 2022
- MONTASSER, A. A.; AMIN, A. Effect of ivermectin on the integument and dorsoventral muscles of the tick *Argas (Persicargas) persicus* (Oken)(Ixodoidea: Argasidae). **Parasitology research**, v. 107, p. 975-982, 2010
- MORENO, Y. et al. Ivermectin disrupts the function of the excretory-secretory apparatus in microfilariae of *Brugia malayi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 46, p. 20120-20125, 2010
- NAVA, S. et al. Relationship between pharmacokinetics of ivermectin (3.15%) and its efficacy to control the infestation with the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 268, p. 81-86, 2019
- NDONG, T. Bengone et al. Pharmacokinetics of ivermectin in zebu Gobra (*Bos indicus*). **Veterinary parasitology**, v. 128, n. 1-2, p. 169-173, 2005
- OBAID, M. K. et al. Acaricides resistance in ticks: selection, diagnosis, mechanisms, and mitigation. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, p. 885, 2022
- ŌMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, no. 2, p. 91-98, 2008
- PARK, J. et al. Evaluation of the efficacy of ivermectin against *Theileria orientalis* infection in grazing cattle. **BMC veterinary research**, v. 15, p. 1-7, 2019
- PÉREZ-SERRANO, J. et al. Depolarization of the tegument precedes morphological alterations in *Echinococcus granulosus* protoscoleces incubated with ivermectin. **Parasitology research**, v. 87, p. 804-807, 2001
- REHBEIN, S. et al. Efficacy of a new long-acting formulation of ivermectin and other injectable avermectins against induced *Psoroptes ovis* infestations in cattle. **Parasitology Research**, v. 88, n. 12, p. 1061-1065, 2002
- SANCHEZRUIZ, W. L.; NUZUM, D. S.; KOUZI, S. A. Oral ivermectin for the treatment of head lice infestation. **The Bulletin of the American Society of Hospital Pharmacists**, v. 75, n. 13, p. 937-943, 2018
- SARLI, M. et al. Successive treatments with ivermectin (3.15%) to control the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle: Pharmacokinetic and efficacy assessment. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 13, n. 1, p. 101848, 2022
- SAYEED, A. et al. Ivermectin: A novel method of treatment of nasal and nasopharyngeal myiasis. **Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery**, v. 71, p. 2019-2024, 2019
- SCOTT, E. W.; MCKELLAR, Q. A. The distribution and some pharmacokinetic parameters of ivermectin in pigs. **Veterinary research communications**, v. 16, p. 139-146, 1992

- SHARUN, K. et al. Current therapeutic applications and pharmacokinetic modulations of ivermectin. **Veterinary World**, v. 12, n. 8, p. 1204, 2019
- SHOOP, W. L. et al. Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: in vivo drug efficacy and in vitro receptor binding. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 8, p. 923-927, 1995
- STRYCHARZ, J. P. et al. Ivermectin acts as a posteclosion nymphicide by reducing blood feeding of human head lice (*Anoplura: Pediculidae*) that hatched from treated eggs. **Journal of medical entomology**, v. 48, n. 6, p. 1174-1182, 2011
- TAMAN, A. et al. *Schistosoma mansoni* infection in a fishermen community, the Lake Manzala region-Egypt. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 6, p. 463-468, 2014
- TANG, M. et al. Ivermectin, a potential anticancer drug derived from an antiparasitic drug. **Pharmacological Research**, v. 163, p. 105207, 2021
- TAYLOR, S. M. et al. 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, n. 14, p. 357-360, 1997
- TEARE, J. A.; BUSH, R. M. Toxicity and efficacy of ivermectin in chelonians. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 1984
- TOUTAIN, P. L. et al. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 1, p. 3-8, 1997
- TOUTAIN, P. L. et al. Kinetic and insecticidal properties of ivermectin residues in the milk of dairy cows. **J Vet Pharmacol Ther**, v. 11, n. 3, p. 288-91, 1988
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA): Population Pharmacokinetics Guidance for Industry. [New Hampshire]: FDA, fev. 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/128793/download>. Acesso em: 14 ago. 2023
- VERCRUYSSSE, J. et al. Breed differences in the pharmacokinetics of ivermectin administered subcutaneously to Holstein and Belgian Blue calves. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 1-2, p. 136-140, 2008
- VICENTE, B. et al. The effect of ivermectin alone and in combination with cobicistat or elacridar in experimental *Schistosoma mansoni* infection in mice. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4476, 2021
- WICKS, S. R. et al. Effect of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 1, p. 17-26, 1993
- WOLSTENHOLME, A. J.; ROGERS, A. T. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. **Parasitology**, v. 131, n. S1, p. S85-S95, 2005

YAZWINSKI, T. A.; FEATHERSTON, H.; TUCKER, C. Effectiveness of the ivermectin sustained-release bolus in the control of bovine nematodosis. **American journal of veterinary research**, v. 56, n. 12, p. 1599-1602, 1995

YUAN, W. et al. Seasonal dynamics of gastrointestinal nematode infections of goats and emergence of ivermectin resistance in *Haemonchus contortus* in Hubei Province, China. **Acta parasitologica**, v. 64, p. 638-644, 2019

ZEMKOVA, H. et al. Allosteric modulation of ligand gated ion channels by ivermectin. **Physiological Research**, v. 63, 2014

CAPÍTULO 2

APLICAÇÃO DA FARMACOMETRIA NA MEDICINA VETERINÁRIA - REVISÃO DE LITERATURA

1. DEFINIÇÃO

A utilização de modelagem matemática a fim de se representar, analisar, fazer previsões ou fornecer informações sobre dados obtidos em pesquisa e desenvolvimento de medicamentos transformou a farmacometria em uma área de grande destaque e importância (BANDEIRA et al., 2022). Este ramo da ciência visa criar modelos e simulações que compreendem conceitos de biologia, farmacologia, fisiologia e patologia, e que sejam capazes de descrever e quantificar interações entre xenobióticos e pacientes, humanos ou não, considerando a partir de efeitos terapêuticos ou tóxicos (BARRETT et al., 2008).

De acordo com Usman e colaboradores (2023), a farmacometria pode ser considerada o amálgama da farmacologia, fisiologia, fisiopatologia, matemática, estatística e modelagem *in silico*, e que, por meio de *softwares*, busca atender aos requisitos regulatórios para o desenvolvimento de novos medicamentos, ou ajudar na tomada de decisões clínicas. Minimizando custos e tempo - considerados obstáculos em estudos clínicos convencionais -, e maximizando dados produzidos em estudos, Gieschke e Steimer (2000) ressaltam que a farmacometria se tornou uma poderosa aliada na pesquisa e no desenvolvimento de medicamentos.

Ao final da década de 1990, dois acontecimentos importantes definiram o valor científico da farmacometria: primeiro, análises farmacométricas começaram a ter influência sobre a aprovação e em decisões acerca do desenvolvimento de medicamentos; segundo, simulações foram introduzidas em ensaios clínicos de grande complexidade (GOBBURU, 2010). O passo evolutivo seguinte, segundo Neely e Jelliffe (2010), seria considerar o método pelo qual a modelagem e as simulações poderiam ajudar profissionais da saúde a definirem e ajustarem regimes de doses de acordo com as especificidades de cada paciente. Nesse sentido, Standing (2016) destacou que a compreensão da modelagem e da simulação farmacométrica, e como podem fornecer *insights* sobre a relação dose-concentração-efeito de um fármaco, é significativamente útil para farmacêuticos clínicos e farmacologistas.

Modelos e simulações implicam, genericamente, na quantificação de processos biológicos para que parâmetros experimentais possam ser comparados e testados, estudos *in vitro* e *in vivo* iniciados, o mecanismo de ação de um fármaco esclarecido, e as inferências populacionais adequadamente executadas. Tais análises viabilizam, portanto, a simulação de processos biológicos e farmacológicos, o que reduz significativamente a necessidade de

experimentos exploratórios *in vivo*, e fundamentam a definição de estudos mais específicos para validação de modelos propostos (RIVIERE et al., 2016).

Em sintonia com as informações supramencionadas, Staab e colaboradores (2013) afirmam que modelos matemáticos que promovam a integração de dados farmacocinéticos e/ou farmacodinâmicos, e que considerem os princípios farmacológicos subjacentes à cadeia causal da administração de um medicamento até a observação de uma resposta, são utilizados para se caracterizar a relação dose-exposição-resposta e prever regimes posológicos eficazes e seguros.

Ante o exposto, nota-se que a farmacometria visa não apenas estabelecer modelos que forneçam orientação e suporte a decisões sobre o desenvolvimento de medicamentos, como desenho de ensaios, comparações de eficácia e otimização de regimes posológicos, como também aprimorar o atendimento clínico em populações específicas de pacientes (TRIVEDI et al., 2013). Conclui-se, portanto, que o valor das abordagens de modelagem e simulação reside na capacidade de empregar modelos *in silico* para se ter melhores integração e compreensão da farmacologia quantitativa (PELLIGAND et al., 2016).

2. APLICAÇÕES

Segundo Woodward e colaboradores (2024), ferramentas matemáticas e computacionais sofisticadas têm se tornado cada vez mais importantes para a farmacologia veterinária. A título de exemplo, Bandeira e colaboradores (2022) destacam que, das fases de aprovação até a pós-comercialização de medicamentos veterinários, a farmacometria se faz presente, auxiliando sobremaneira nas respostas às questões regulatórias. Kinabo e McKellar (1989), por sua vez, salientam que a ideia subjacente ao uso de modelos na análise de dados, farmacocinéticos ou farmacodinâmicos, é a obtenção de estimativas de parâmetros que possam ser empregadas na interpolação ou extrapolação de doses. Desse modo, regimes de doses podem ser adaptados de acordo com o estado fisiológico ou patológico de um animal, e períodos de carência podem ser estimados a partir de uma base racional.

No desenvolvimento de medicamentos veterinários, a seleção do regime de doses é comumente respaldada por estudos de variação/titulação da dosagem, os quais apresentam uma série de limitações, por exemplo, a dose selecionada como mais eficaz não é necessariamente a ideal, pois depende fortemente da potência do fármaco (PELLIGAND et

al., 2016). Por outro lado, a farmacometria viabiliza a concepção de modelos que podem facilmente ser extrapolados para diferentes medicamentos, espécies ou condições clínicas (OGUNGBENRO e AARONS, 2014). Quanto às estimativas de esquemas posológicos destinados a ensaios clínicos, geradas a partir de dados oriundos de estudos pré-clínicos, Toutain e Lees (2004) esclarecem que são baseadas na relação entre dados farmacocinéticos, farmacodinâmicos e, algumas vezes, toxicológicos.

A aplicação da farmacologia e toxicologia veterinárias não é uma tarefa fácil, especialmente pela multiplicidade de espécies animais, bem como de raças, idades e estados fisiopatológicos, que podem responder de diferentes formas a determinados medicamentos. As diferenças inter e intraespécies, além da variabilidade entre e dentro de populações animais, são, portanto, a essência da farmacologia e da toxicologia veterinária (ANADÓN, 2016). Essas variações também são endereçadas pela farmacometria veterinária, de modo que se possa compreender o impacto de fatores (covariáveis) como idade, sexo, raça e doença na relação dose-exposição-resposta. Sendo assim, identificar as variáveis que influenciam na disposição e resposta aos fármacos, e quantificar a magnitude dos efeitos destas nos animais, é tarefa imprescindível (LESS et al., 2004). Nesse sentido, Bon e colaboradores (2018) apontam que a própria natureza do tratamento coletivo de animais de produção pode ser uma fonte de variabilidade na relação dose-exposição-resposta, refletindo interações importantes entre as características dos animais e as práticas de manejo.

Antes da década de 1970, parâmetros populacionais eram estimados agrupando-se dados individuais em um único perfil de concentração-tempo, ignorando diferenças entre os indivíduos. Nos anos subsequentes, os dados individuais passaram a ser ajustados separadamente, e os valores médios dos parâmetros eram, então, determinados (MOULD e UPTON, 2012). Ambos os métodos estão sujeitos a potenciais vieses, principalmente devido a problemas com o cumprimento da dosagem ou à falta de dados. Por outro lado, modelos não lineares de efeitos mistos conseguem identificar e separar a variabilidade (inter e intraindividual) de eventuais erros de mensuração. Dessa forma, grande parte da variabilidade entre indivíduos pode ser explicada pela identificação de características populacionais (covariáveis), as quais influenciam profundamente a farmacocinética e farmacodinâmica (MARTINEZ et al., 2018). As vantagens de modelos não lineares de efeitos mistos, em comparação, por exemplo, à modelagem de efeitos fixos, incluem: análise de dados esparsos, que possuem muitas aplicações na Medicina Veterinária; estimativa da variabilidade entre e

dentro da população exposta a determinado medicamento, separando-a de erros de medição; capacidade de reunir informações de inúmeras fontes, permitindo a interpretação adequada de dados farmacocinéticos (PELLIGAND et al., 2016).

Corroborando as informações expostas acima, Bon e colaboradores (2017) enfatizam que modelos não lineares de efeitos mistos têm capacidade de aproveitar informações: utilizando dados de indivíduos “informativos” (ou seja, animais que apresentem curso de tempo farmacocinético rico e consistente, com apenas alguns dados “aberrantes”) para estimar parâmetros do modelo a partir de *outliers* aparentes; considerando simultaneamente o efeito do medicamento e a linha de base; identificando covariáveis que afetem significativamente a disposição e/ou resposta ao medicamento. Até o momento, todavia, os modelos não lineares de efeitos mistos ainda são subutilizados nas ciências veterinárias.

Pesquisas translacionais são o modelo consensual para o desenvolvimento de medicamentos de uso humano. Na estrutura translacional, farmacocinética e farmacodinâmica são primeiramente caracterizadas em modelos animais, e os resultados de estudos pré-clínicos são, então, extrapolados para seres humanos (WARING et al., 2015). A natureza inovadora da abordagem do modelo de tradução reversa, por sua vez, fundamenta-se na hipótese subjacente de que a utilização de modelos animais, os quais desenvolvem espontaneamente doenças semelhantes às do homem, melhorará a previsibilidade dos modelos pré-clínicos utilizados para fins de investigação biomédica. Dessa forma, informações quantitativas de farmacocinética e farmacodinâmica, obtidas a partir de estudos clínicos em seres humanos, ensejam uma oportunidade de estímulo ao desenvolvimento de medicamentos veterinários, otimizando, assim, a utilização dos recursos existentes e a aplicação do conhecimento disponível (SCHNEIDER et al., 2017).

Martinez e colaboradores (2018) reforçam que, ao se estudar a farmacologia de um medicamento, o tipo de modelagem deve ser escolhido com base nos objetivos da investigação e naquilo que já é sabido sobre determinado fármaco. À medida que o conhecimento aumenta, o desenvolvimento de modelos mecanísticos se torna possível, e estes podem, então, ser utilizados na extrapolação e previsão dos resultados de diferentes cenários.

A indústria da saúde animal vem se expandindo vertiginosamente, devido a dois principais fatores: o aumento do número de animais de estimação e a crescente necessidade, pela população humana, de produtos alimentícios, como carne e derivados do leite. Por outro

lado, as agências reguladoras *Food and Drug Administration* (FDA, Estados Unidos da América) e *European Medicines Agency* (EMA, União Europeia) exigem testes para garantirem que tecidos animais e o leite sejam seguros para consumo humano (BANDEIRA et al., 2022). Com o intuito de atender a tais exigências, modelos farmacométricos são incorporados ao mercado veterinário, das as etapas iniciais do projeto de desenvolvimento de medicamentos veterinários até as fases de aprovação e pós-comercialização, auxiliando, por exemplo, na evidenciação de respostas a questões regulatórias.

O uso de medicamentos, aprovados para espécies “principais”, em espécies “menores” exige que regimes posológicos e períodos de carência sejam extrapolados entre animais com diferenças anatômicas, fisiológicas e metabólicas significativas. Para tanto, podem ser empregados modelos alométricos de farmacocinética, com equações que relacionem parâmetros farmacocinéticos a fatores como peso corporal, peso cerebral ou expectativa de vida (RIVIERE et al., 1997). Martín-Jiménez e Riviere (2001; 2002), por outro lado, aplicaram modelos mistos não lineares para analisarem a disposição de gentamicina e oxitetraciclina em mamíferos. Nestes estudos, inúmeras covariáveis foram incorporadas aos modelos, e se observou que os parâmetros farmacocinéticos estavam intimamente relacionados ao peso corporal para ambos os fármacos. Uma vantagem dessa abordagem é que se maximizam as informações que podem ser obtidas a partir de dados limitados, facilitando a estimativa da variabilidade populacional por meio da combinação de dados de fontes diversas (BON et al., 2018).

Leavens e colaboradores (2014) desenvolveram um modelo farmacocinético baseado em fisiologia para estimarem as concentrações de flunixin meglumine no plasma sanguíneo, fígado e leite de bovinos, após administração intravenosa, intramuscular ou subcutânea (s.c.), visando investigar fatores que pudessem interferir no período de carência do fármaco. Yang e colaboradores (2019), por sua vez, construíram um modelo farmacocinético populacional baseado em fisiologia para preverem as concentrações de florfenicol, em bovinos, para quatro diferentes vias de administração, a fim de calcularem e compararem os períodos de carência estimados com aqueles estipulados por uma agência reguladora de referência. Já Laffont e colaboradores (2003) elaboraram um modelo farmacocinético para simularem a cinética da ivermectina sob diversas condições de exposição oral e/ou dérmica, em bovinos, de modo que abordassem a interação entre o comportamento social dos animais e a farmacocinética de um medicamento administrado por via parenteral.

Quanto à análise farmacocinética populacional, o uso, na Medicina Veterinária, vem sendo defendido há bastante tempo; essa abordagem permite que as relações entre fatores clínicos (como peso, idade, sexo, espécie, etc.) e a cinética dos fármacos sejam exploradas, o que facilita a determinação, por exemplo, da eficácia e segurança dos medicamentos (LI et al., 2014). De acordo com Deyrup e colaboradores (2012), a presença de determinada patologia pode ser a causa precípua de quantidades excessivas de resíduos em produtos de origem animal, devido a alterações provocadas na farmacocinética em quadros como insuficiência renal ou hepática. A fim de se identificar os parâmetros farmacocinéticos críticos associados a patologias, Wu e colaboradores (2013) desenvolveram um modelo farmacocinético populacional a partir de dados de bovinos saudáveis e doentes. Os autores investigaram como alterações nos parâmetros farmacocinéticos afetariam as concentrações estimadas de resíduos de flunixin meglumine no fígado dos animais, e identificaram fatores que poderiam contribuir para uma maior incidência de resíduos deste fármaco em indivíduos doentes.

Whittem e colaboradores (2011), buscando compreender a distribuição e a eliminação da cefuroxima no úbere bovino, propuseram uma nova abordagem para a modelagem farmacocinética nesse compartimento. O modelo foi utilizado para se estimar o movimento do fármaco dentro do úbere, além das concentrações alcançadas nos compartimentos fisiológicos do órgão, e conseguiu prever que mudanças na eficiência da ordenha, produção de leite e frequência da ordenha poderiam impactar tanto na persistência de resíduos no leite quanto no tempo necessário para que a concentração de cefuroxima excedesse as concentrações inibitórias mínimas para bactérias patogênicas do leite. Lin e colaboradores (2016) destacaram que uma grande preocupação envolvendo administrações repetidas de medicamentos veterinários, em animais produtores de alimentos, caracteriza-se pelo potencial acúmulo de fármacos nos tecidos destes indivíduos, resultando em períodos de carência prolongados. Diante de tal problema, os autores determinaram as características farmacocinéticas da tulatromicina, após duas administrações subcutâneas, em cabras lactantes, e desenvolveram um modelo farmacocinético que estimasse a depleção do fármaco em leite e plasma sanguíneo.

Verifica-se, diante do exposto, a crescente utilização da farmacometria na Medicina Veterinária, especialmente na área de desenvolvimento de produtos farmacêuticos veterinários. Além disso, é possível constatar um aumento significativo do uso de modelos e

simulações em estudos pré-clínicos e ensaios clínicos com animais, particularmente na otimização de doses de antimicrobianos utilizados na produção animal.

REFERÊNCIAS

- ANADÓN, A. Perspectives in Veterinary pharmacology and toxicology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, p. 82, 2016
- BANDEIRA, L. C.; PINTO, L.; CARNEIRO, C. M. Pharmacometrics: The Already-Present Future of Precision Pharmacology. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, v. 57, n. 1, p. 57-69, 2023
- BARRETT, J. S. et al. Pharmacometrics: a multidisciplinary field to facilitate critical thinking in drug development and translational research settings. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 5, p. 632-649, 2008
- BON, C. et al. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part III: Using nonlinear mixed-effects to characterize and quantify variability in drug pharmacokinetics. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 41, n. 2, p. 171-183, 2018
- DEYRUP, C. L. et al. Examining the occurrence of residues of flunixin meglumine in cull dairy cows by use of the flunixin cull cow survey. **Journal of the American veterinary medical association**, v. 241, n. 2, p. 249-253, 2012
- GIESCHKE, R.; STEIMER, J. L. Pharmacometrics: modelling and simulation tools to improve decision making in clinical drug development. **European journal of drug metabolism and pharmacokinetics**, v. 25, p. 49-58, 2000
- GOBBURU, J. V. S. Pharmacometrics 2020. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 50, n. S9, p. 151S-157S, 2010
- KINABO, L. D. B.; MCKELLAR, Q. A. Current models in pharmacokinetics: applications in veterinary pharmacology. **Veterinary Research Communications**, v. 13, p. 141-157, 1989
- LAFFONT, C. M. et al. A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. **Veterinary research**, v. 34, n. 4, p. 445-460, 2003
- LEAVENS, T. L. et al. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for flunixin in cattle (*Bos taurus*). **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 9, p. 1506-1521, 2014
- LEES, P. et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 479-490, 2004
- LI, M. et al. Interspecies mixed-effect pharmacokinetic modeling of penicillin G in cattle and swine. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4495-4503, 2014

- LIN, Z. et al. Estimation of tulathromycin depletion in plasma and milk after subcutaneous injection in lactating goats using a nonlinear mixed-effects pharmacokinetic modeling approach. **BMC veterinary research**, v. 12, p. 1-10, 2016
- MARTINEZ, M. N. et al. Population variability in animal health: Influence on dose-exposure-response relationships: Part II: Modelling and simulation. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 41, n. 4, p. E68-E76, 2018
- MARTIN-JIMÉNEZ, T.; RIVIERE, J. E. Mixed effects modeling of the disposition of gentamicin across domestic animal species. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, n. 5, p. 321-332, 2001
- MARTÍN-JIMÉNEZ, T.; RIVIERE, J. E. Mixed-effects modeling of the interspecies pharmacokinetic scaling of oxytetracycline. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 91, n. 2, p. 331-341, 2002
- NEELY, M.; JELLIFFE, R. Practical, individualized dosing: 21st century therapeutics and the clinical pharmacometrician. **Journal of clinical pharmacology**, v. 50, n. 7, p. 842, 2010
- OGUNGBENRO, K.; AARONS, L.; CRESIM & EPI-CRESIM PROJECT GROUPS. Physiologically based pharmacokinetic modelling of methotrexate and 6-mercaptopurine in adults and children. Part 1: methotrexate. **Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics**, v. 41, p. 159-171, 2014
- PELLIGAND, L. et al. Modeling of large pharmacokinetic data using nonlinear mixed-effects: a paradigm shift in veterinary pharmacology. A case study with robenacoxib in cats. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 5, n. 11, p. 625-635, 2016
- RIVIERE, J. E. et al. Interspecies allometric analysis of the comparative pharmacokinetics of 44 drugs across veterinary and laboratory animal species. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 20, n. 6, p. 453-463, 1997
- RIVIERE, J. E. et al. Mathematical modeling and simulation in animal health. Part I: moving beyond pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 39, n. 3, p. 213-223, 2016
- SCHNEIDER, B. et al. Model-based reverse translation between veterinary and human medicine: the one health initiative. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 65-68, 2018
- STAAB, A. et al. Modeling and simulation in clinical pharmacology and dose finding. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 1-3, 2013
- STANDING, J. F. Understanding and applying pharmacometric modelling and simulation in clinical practice and research. **British journal of clinical pharmacology**, v. 83, n. 2, p. 247-254, 2017
- TOUTAIN, P. L.; LEES, P. Integration and modelling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimize dosage regimens in veterinary medicine. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 467-477, 2004

TRIVEDI, A.; LEE, R. E.; MEIBOHM, B. Applications of pharmacometrics in the clinical development and pharmacotherapy of anti-infectives. **Expert review of clinical pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 159-170, 2013

USMAN, M. et al. Pharmacometrics: a new era of pharmacotherapy and drug development in low-and middle-income countries. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2023, 2023

WARING, M. J. et al. An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. **Nature reviews Drug discovery**, v. 14, n. 7, p. 475-486, 2015

WHITTEM, T.; WHITTEM, J. H.; CONSTABLE, P. D. Modelling the concentration–time relationship in milk from cattle administered an intramammary drug. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, n. 5, p. 460-471, 2012

WOODWARD, A. P. Bayesian estimation in veterinary pharmacology: A conceptual and practical introduction. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 2024

CAPÍTULO 3

ARTIGO 1 - “Modelagem farmacocinética e simulação de diferentes protocolos de ivermectina a 1 % para tratamento de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e nematoides em bovinos Tabapuã”

Título Original/Título Traduzido

Modelo farmacocinético e simulação de diferentes protocolos de ivermectina a 1 % para tratamento de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e nematoides em bovinos Tabapuã

Título resumido

Abordagem farmacométrica de IVM em bovinos Tabapuã

Abstract

The objective of the study was to evaluate the pharmacokinetic profile of a 1 % ivermectin (IVM) formulation in Tabapuã cattle to simulate different treatment protocols against endo- and ectoparasites. Nine animals received a dose (200 µg/kg) of Ivomec®, subcutaneously, and blood samples were collected 15 minutes before administration of the drug (day 0), and 1, 5 and 14 days later. All samples were subjected to analysis by Ultra Efficiency Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry. Pharmacokinetic modeling was performed using Monolix 2023 R1, and Monte Carlo simulations using Simulx (Lixoft SAS, a Simulations Plus company). For the treatment of Tabapuã cattle against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, a three-dose protocol sustained an efficacy greater than 95% over approximately 11 days. In the treatment of gastrointestinal nematodes, a three-dose protocol sustained an efficacy greater than 95% for around 26 days. In none of these protocols was there an accumulation of the drug in the animals' bodies. The pharmacokinetic model was able to estimate values very close to those observed, and the simulations showed significant differences in both the time of effectiveness and the possibility of IVM accumulation in treated individuals.

Keywords: pharmacometrics, endectocide, *Bos taurus indicus*, residues, dose optimization.

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de ivermectina (IVM) a 1%, em bovinos Tabapuã, para simular diferentes protocolos de tratamento contra endo- e ectoparasitos. Nove animais receberam uma dose (200 µg/kg) de Ivomec®, pela via subcutânea, e amostras de sangue foram coletadas 15 minutos antes da administração do medicamento (dia 0), e 1, 5 e 14 dias depois. Todas as amostras foram submetidas à análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas. A modelagem farmacocinética foi realizada por meio do Monolix 2023 R1, e simulações de

Monte Carlo pelo Simulx (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Para o tratamento de bovinos Tabapuã contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, um protocolo de três doses sustentou uma eficácia superior a 95 % ao longo de aproximadamente 11 dias. Já no tratamento de nematoides gastrintestinais, um protocolo de três doses sustentou uma eficácia superior a 95 % durante cerca de 26 dias. Em nenhum destes protocolos houve acúmulo do fármaco no organismo dos animais. O modelo farmacocinético foi capaz de estimar valores muito próximos aos observados, e as simulações apresentaram diferenças significativas tanto no tempo de eficácia quanto na possibilidade de acúmulo de IVM nos indivíduos tratados.

Palavras-chave: farmacometria, endectocida, *Bos taurus indicus*, resíduos, otimização de doses.

Introdução

A ivermectina (IVM) é um dos antiparasitários mais utilizados em todo o mundo, e, em inúmeros casos, estabeleceu-se como o fármaco de escolha para tratamento de helmintos e carrapatos na bovinocultura (BALLWEBER e BAETEN, 2012). O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo, e, desde 2004, figura como o maior exportador mundial de carne bovina (CFMV, 2019).

O impacto ambiental primário da IVM está associado à excreção da molécula, sob a forma ativa, nas fezes de animais tratados; estas fornecem um ambiente propício à alimentação e reprodução para um grande número de invertebrados, para os quais o fármaco possui toxicidade elevada. Impactos secundários, por sua vez, abrangem riscos ao solo e comunidades aquáticas (EDWARDS et al., 2001). De acordo com Canga e colaboradores (2009), a maior parte da IVM administrada em bovinos é excretada inalterada, e eliminada principalmente nas fezes (cerca de 90 % da dose). Tem-se, destarte, uma importante via de introdução de resíduos no meio ambiente, produzindo impactos negativos sobre organismos vivos e impulsionando a seleção de parasitos resistentes (KLATTE et al., 2017).

Nesse contexto, estudos farmacocinéticos são essenciais à racionalização do uso da IVM, e, por conseguinte, ao cálculo do volume de resíduos eliminados no meio ambiente (TOUTAIN et al., 1988). Ante o exposto, com o intuito de promover o uso mais ambientalmente racional da ivermectina, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de IVM a 1 %, em bovinos da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*), para simular diferentes protocolos destinados ao tratamento de carrapatos e parasitos

nematoides, de modo que se obtenha atividade terapêutica eficiente aliada à menor excreção ambiental do fármaco.

Material e Métodos

Fármaco

Foi utilizado o seguinte medicamento: ivermectina a 1 % (Ivomec® injetável; Merial Animal Health Ltda.). O medicamento foi administrado pela via subcutânea (SC), na região da “tábua do pescoço”, e na dose de 200 µg/kg, conforme indicado na bula do produto.

Animais, alimentação e sistema de produção

O estudo para avaliação da farmacocinética da IVM, em bovinos, foi realizado sob as seguintes circunstâncias: nove animais foram mantidos em condições de semi-confinamento, em sistema de produção a pasto (*Brachiaria* sp.), e receberam suplementação de concentrado comercial, com 18 % de proteína bruta (0.5 % do peso corporal), e silagem de milho (5 % do peso corporal). Suplemento mineral comercial (Tortuga) e água doce foram oferecidos *ad libitum*. Os animais passaram por um período de adaptação de 30 dias antes do início do estudo, e não foram tratados com IVM ou qualquer outra lactona macrocíclica por um período mínimo de 120 dias antes do experimento.

Tratamento e amostragem

Foram incluídos no experimento nove bovinos machos da raça Tabapuã, com idades entre 18 e 24 meses, peso médio de 485.77 ± 178.16 kg e escore de condição corporal médio de 2.66 ± 0.57 . O período experimental teve início em agosto de 2022 e término em outubro de 2022. Os animais estavam localizados no Setor de Bovinocultura de Corte da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, estado de Minas Gerais (MG), Brasil (S21°13', W44°57').

Amostras de sangue foram coletadas de todos os bovinos, por meio de punção venosa jugular, utilizando-se tubos heparinizados, 15 minutos antes da administração do medicamento (dia 0), e após todos os animais terem sido pesados e tratados com IVM, especificamente 1, 5 e 14 dias depois. As concentrações do fármaco foram determinadas em amostras de plasma sanguíneo, que foram congeladas a -80 °C até o momento da análise.

Procedimentos analíticos

Empregou-se método analítico previamente validado por Croubels et al. (2002). Foram utilizadas alíquotas de plasma sanguíneo de 100 μL . A extração foi realizada pelo método de precipitação com acetonitrila. A 100 μL de plasma foram adicionados 900 μL de acetonitrila (adição em uma única etapa). A mistura foi levada ao vórtex, e depois submetida à centrifugação (14000 rpm; 5 °C; 8 min). Em seguida, 700 μL do sobrenadante foi transferido para o *vial*, e submetido à análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UPLC-MS/MS).

O padrão de ivermectina (22,23 desidro-avermectina B1a) com pureza de 89.2 % foi utilizado. A concentração plasmática de IVM foi analisada por UPLC-MS/MS, empregando-se um sistema UPLC Waters Acquity acoplado a um sistema MS Waters Xevo TQ. A separação cromatográfica foi realizada em coluna C18 Acquity UPLC BEH (2.1 \times 50 mm, 1.7 μm). A eluição por gradiente ocorreu nas fases móveis de 10 mM de acetato de amônio e ácido fórmico a 0.1 % (A) e de acetonitrila (B). A vazão foi de 0.50 mL/min. O gradiente iniciou com 50 % de A e 50 % de B, diminuiu, em 1 min, para 0 % de A e 100 % de B, e assim foi mantido até 3 min. Em seguida, aos 3.01 min, a eluição retornou à condição inicial, e mantida dessa forma até 4 min. A temperatura da coluna foi mantida a 45 °C. O volume de injeção foi de 5 μL .

A resolução do espectrômetro de massas, no monitoramento de reações múltiplas, foi unitária, e o tempo de permanência aplicado foi de 200 ms para todas as transições. O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por eletrospray positivo. O argônio foi utilizado como gás de colisão (3.5×10^{-3} mbar). A temperatura de dessolvatação foi ajustada em 500 °C. A voltagem capilar de eletropulverização foi ajustada em 1.0 kV. O limite de detecção obtido foi de 0.1 ppb, e a equação da reta foi a seguinte: $y = 937.685x - 104.641$ ($R^2 = 0.992$).

Análise farmacocinética

As curvas de concentração plasmática-tempo da IVM foram analisadas por um modelo não linear de efeitos mistos, a partir do *software* Monolix 2023 R1 (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Os parâmetros farmacocinéticos da população foram estimados por máxima verossimilhança, empregando-se maximização de expectativa de aproximação estocástica. O modelo farmacocinético foi selecionado com base no critério de informação de Akaike e critério de informação Bayesiano; os gráficos de observações \times predição e de verificação preditiva visual, assim como as correlações entre efeitos aleatórios, foram

examinados para a seleção do modelo que melhor descrevesse os dados observados (MOULD e UPTON, 2013; TRAYNARD et al., 2020).

Simulações

O modelo farmacocinético que melhor se ajustou aos dados observados foi empregado na simulação de populações virtuais (1000 animais cada), por meio do *software* Simulx (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Desse modo, simulações de Monte Carlo foram executadas para cada um dos diferentes protocolos com IVM a 1 %, os quais foram divididos de acordo com a concentração e o tempo necessários para o fármaco ter mais de 95 % de eficácia contra carrapatos (*Rhipicephalus microplus*) ou nematoides gastrintestinais.

Protocolos contra carrapatos (Rhipicephalus microplus)

Foram simulados três protocolos voltados ao tratamento de bovinos contra *Rhipicephalus microplus*. Para tanto, utilizou-se o limite de 8 ng/mL como a concentração eficaz mínima de IVM, no plasma sanguíneo, contra essa espécie de parasito (DAVEY et al., 2010). Os tratamentos foram os seguintes: 1 - dose única de 200 µg/kg de IVM; 2 - duas doses (200 µg/kg cada), com intervalo de 3 dias; 3 - três doses (200, 100 e 100 µg/kg), com dois intervalos de 3 dias (entre a primeira e segunda dose, e entre a segunda e terceira dose). Estipulou-se um Índice de Eficiência Terapêutica (IET) para cada protocolo, calculado por meio da divisão entre o tempo durante o qual a concentração sérica de IVM permanecia acima de 8 ng/mL e a dose total do fármaco. A eliminação ambiental de IVM, por sua vez, foi estimada para 450 kg de peso vivo (1 unidade animal - AU), e em função de 90 % (CANGA et al., 2009) do total de fármaco utilizado em cada protocolo.

Protocolos contra nematoides gastrintestinais

Foram simulados três protocolos voltados ao tratamento de bovinos contra nematoides gastrintestinais. Para tanto, utilizou-se o limite de 2 ng/mL como a concentração eficaz mínima de IVM, no plasma sanguíneo, contra esses parasitos (LIFSCHITZ et al., 2004). Os tratamentos foram os seguintes: 1 - dose única de 200 µg/kg de IVM; 2 - duas doses (200 µg/kg cada), com intervalo de 10 dias; 3 - três doses (200, 100 e 100 µg/kg), com um intervalo de 10 dias, entre a primeira e segunda dose, e outro de 8 dias, entre a segunda e terceira dose. Estipulou-se um IET para cada protocolo, calculado por meio da divisão entre o tempo durante o qual a concentração sérica de IVM permanecia acima de 2 ng/mL e a dose total do fármaco. A eliminação ambiental de IVM, por sua vez, foi estimada para 450 kg de

peso vivo (1 unidade animal - AU), e em função de 90 % (CANGA et al., 2009) do total de fármaco utilizado em cada protocolo.

Resultados

Análise farmacocinética

As concentrações plasmáticas de IVM se ajustaram melhor a um modelo farmacocinético de administração oral/extravasular, sem atraso (*lag time*), com absorção de primeira ordem, distribuição em um compartimento e eliminação linear (taxa de eliminação k), além de erro proporcional e correlação entre o volume do compartimento (V) e as covariáveis peso e escore de condição corporal. Os valores dos parâmetros estimados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Estimativas de parâmetros do modelo farmacocinético final de nove bovinos Tabapuã, nos quais uma dose única (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de ivermectina foi administrada, pela via subcutânea, na região da “tábua do pescoço”.

Parâmetros populacionais estimados				
Parâmetro		Valor estimado	SE	RSE (%)
ka	h^{-1}	0.17	0.01	10.20
V	mL	268856.72	100724.80	37.46
k	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	2.25	0.55	24.56
ωka	h^{-1}	0.26	0.07	29.55
ωk	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	0.17	0.07	40.74
beta_V_ECC		-0.27	0.13	49.15

beta_V_peso	0.00	0.00	30.16
b	0.19	0.05	26.22

ka, constante de absorção; V, volume do compartimento; k, constante de eliminação; ω ka, variação interindividual na constante de absorção; ω k, variação interindividual na constante de eliminação; beta_V_ECC, correlação entre volume do compartimento e escore de condição corporal; beta_V_peso, correlação entre volume do compartimento e peso; b, variabilidade residual.

O modelo incluiu correlações entre o volume do compartimento e o escore de condição corporal (-0.27 ± 0.13), e entre o volume do compartimento e o peso dos animais (0.00 ± 0.00). O volume estimado do compartimento (V) foi de $659.90 \pm 116.31 \text{ mL.kg}^{-1}$.

O gráfico que representa a correlação entre os valores observados e as previsões individuais é exibido na Figura 1.

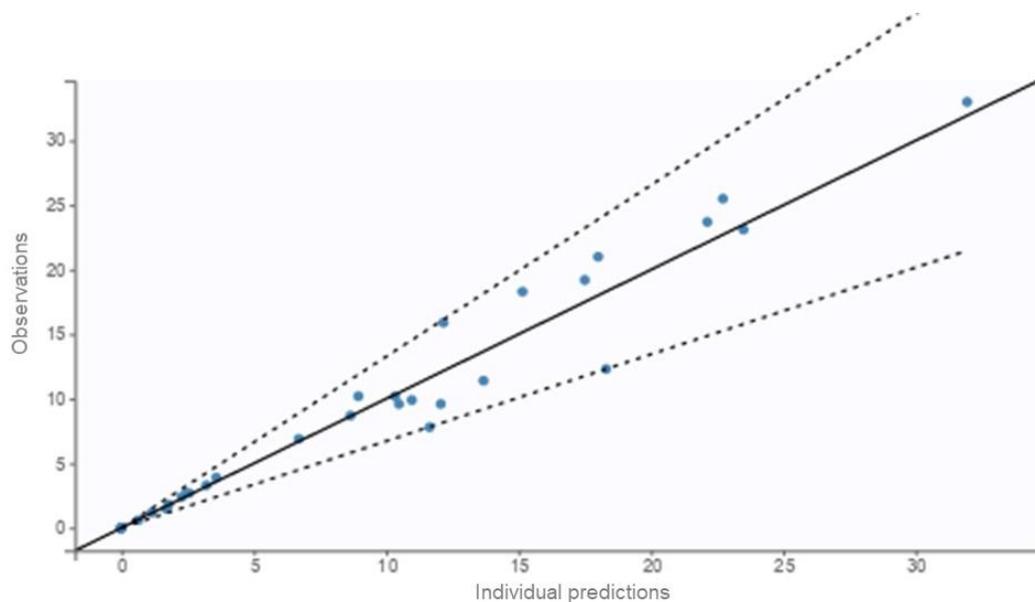


Figura 1. Gráfico de adequação do modelo final. A linha sólida representa a regressão linear, as linhas tracejadas ilustram os intervalos de confiança de 95 %, e os pontos representam os dados observados.

O gráfico de verificação preditiva visual sugeriu que a mediana, os percentis 5 e 95 das concentrações observadas foram adequadamente previstos pelos respectivos intervalos de confiança *bootstrap* de 95 %. O gráfico de verificação preditiva visual é exibido na Figura 2.

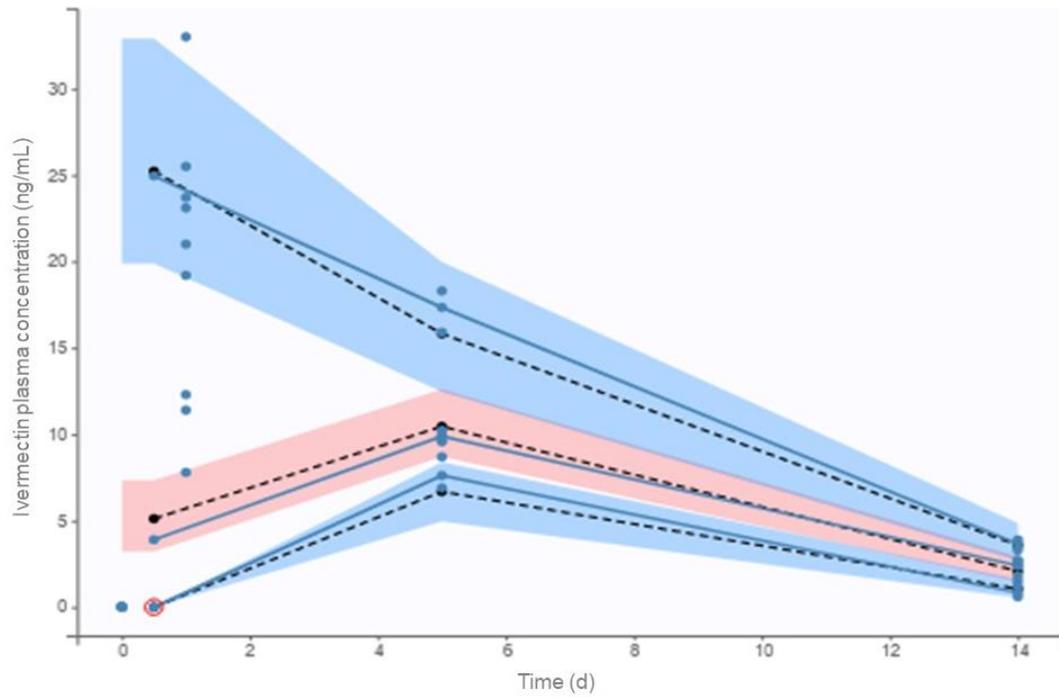


Figura 2. Gráfico de verificação preditiva visual (concentração plasmática de ivermectina versus tempo). As linhas sólidas azuis indicam os percentis 10, 50 e 90 dos dados observados. As linhas tracejadas pretas indicam os percentis 10, 50 e 90 dos dados simulados. As áreas sombreadas em azul e rosa representam intervalos de previsão de 90 % dos percentis correspondentes previstos pelo modelo farmacocinético.

Simulações

*Protocolos contra carrapatos (*Rhipicephalus microplus*)*

As simulações de protocolos com IVM voltados ao combate, em bovinos, de carrapatos da espécie *Rhipicephalus microplus*, são apresentadas na Figura 3.

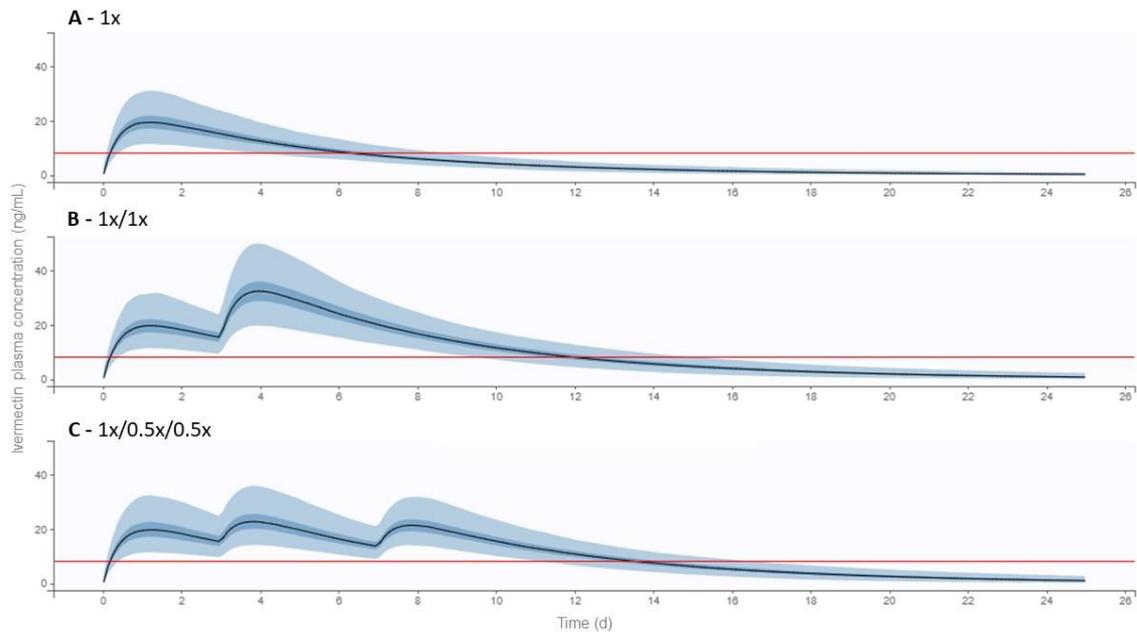


Figura 3. Simulações de protocolos com ivermectina para tratamento, em bovinos, de infestação por *Rhipicephalus microplus*. Os protocolos, de cima para baixo, são os seguintes: A - protocolo de dose única (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$); B - duas doses (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cada), com intervalo de 3 dias; C - três doses (200, 100 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), com dois intervalos de 3 dias. A linha horizontal vermelha indica a concentração eficaz mínima de IVM (8 ng/mL), no plasma sanguíneo, contra *Rhipicephalus microplus* (DAVEY et al., 2010). A linha central (preta) representa a mediana dos indivíduos ($n = 1000$), e os sombreados (azuis) representam os percentis de 5 a 35 % (azul claro), de 35 a 65 % (azul escuro), e de 65 a 95 % (azul claro) da população.

Os gráficos das simulações dos tratamentos destinados ao combate de *Rhipicephalus microplus*, em bovinos, mostram que, com uma dose de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de IVM, 95 % da população manteve concentrações séricas do fármaco acima de 8 ng/mL até o terceiro dia, e que o protocolo de duas doses de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, com intervalo de 3 dias, sustenta uma concentração de IVM acima de 8 ng/mL por menos tempo ($\cong 9.6$ dias) que o protocolo de três doses ($\cong 11.2$ dias).

Os valores calculados de IET para os protocolos destinados ao tratamento de carrapatos, e a respectiva eliminação ambiental de IVM, podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores do Índice de Eficiência Terapêutica (IET) dos protocolos de ivermectina destinados ao tratamento de *Rhipicephalus microplus*, e respectivas estimativas da eliminação ambiental do fármaco, em bovinos Tabapuã.

Protocolo	Dose total para 1 UA (mg)	Tempo acima de 8 ng/mL (d)	IET*	Eliminação ambiental (mg)**
200 µg/kg (dose única)	90	3	0.03	81
2 doses (200 µg/kg cada) entre 3 dias	180	9.6	0.05	162
1 dose de 200 µg/kg + 2 doses de 100 µg/kg (intervaladas de 3 dias)	180	11.2	0.06	162

*tempo em que a concentração de IVM permanece acima de 8 ng/mL ÷ dose total do fármaco para 1 UA (450 kg); **0.9 × dose total do fármaco para 1 UA

O IET foi desenvolvido para que se comparassem, unicamente quanto à eficiência terapêutica, diferentes protocolos com um mesmo fármaco; nesse sentido, quanto maior o valor do IET, mais eficiente é o protocolo. Portanto, IETs mais elevados indicam uso mais racional da IVM que IETs menores. Dentre os regimes propostos para o controle de carrapatos, o de três doses foi 20 % mais eficiente que o de duas.

Protocolos contra nematoides gastrintestinais

As simulações de protocolos com IVM voltados ao combate, em bovinos, de parasitos nematoides, são apresentadas na Figura 4.

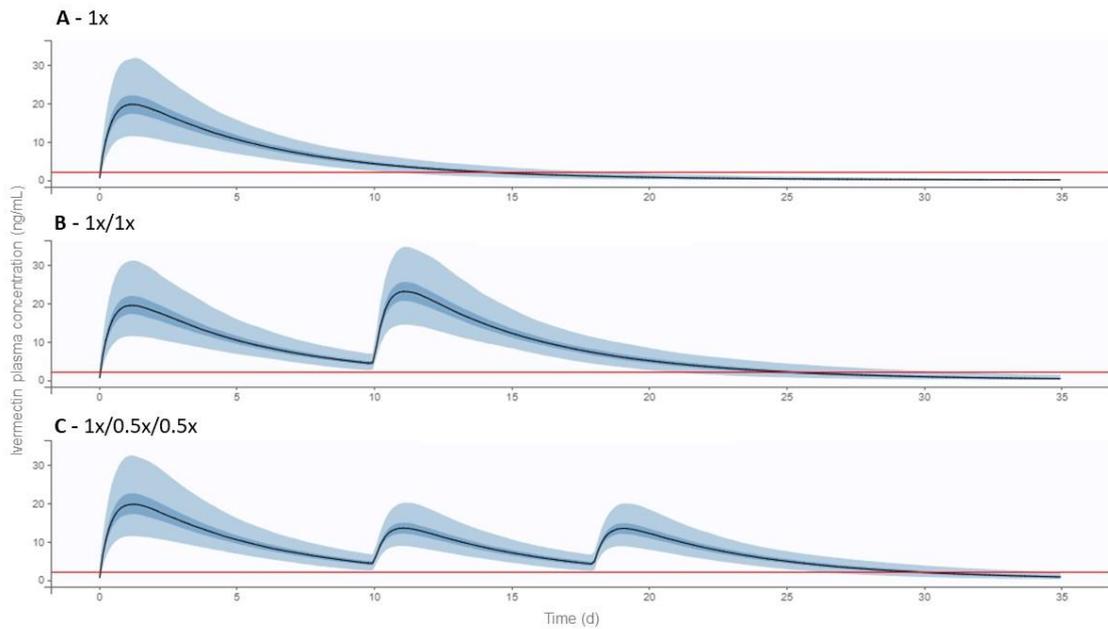


Figura 4. Simulações de protocolos com ivermectina para tratamento, em bovinos, contra nematoides gastrintestinais. Os protocolos, de cima para baixo, são os seguintes: A - protocolo de dose única de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$; B - duas doses (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cada), com intervalo de 10 dias; C - três doses (200, 100 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), com um intervalo de 10 e outro de 8 dias. A linha horizontal vermelha indica a concentração eficaz mínima de IVM (2 ng/mL), no plasma sanguíneo, contra parasitos nematoides (LIFSCHITZ et al., 2004). A linha central (preta) representa a mediana dos indivíduos ($n = 1000$), e os sombreados (azuis) representam os percentis de 5 a 35 % (azul claro), de 35 a 65 % (azul escuro), e de 65 a 95 % (azul claro) da população.

Os gráficos das simulações dos tratamentos destinados ao combate de nematoides gastrintestinais, em bovinos, mostram que, com uma dose de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de IVM, 95 % da população manteve concentrações séricas do fármaco acima de 2 ng/mL até o décimo dia, e que o protocolo de duas doses de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, com intervalo de 10 dias, sustenta uma concentração de IVM acima de 2 ng/mL por menos tempo ($\cong 21$ dias) que o protocolo de três doses ($\cong 26$ dias).

Os valores calculados de IET para os protocolos destinados ao tratamento de nematoides gastrintestinais, e a respectiva eliminação ambiental de IVM, podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores do Índice de Eficiência Terapêutica (IET) dos protocolos de ivermectina destinados ao tratamento de nematoides gastrintestinais, e respectivas estimativas da eliminação ambiental do fármaco, em bovinos Tabapuã.

Protocolo	Dose total para 1 UA (mg)	Tempo acima de 2 ng/mL (d)	IET*	Eliminação ambiental (mg)**
200 µg/kg (dose única)	90	10	0.11	81
2 doses (200 µg/kg cada) entre 3 dias	180	21	0.11	162
1 dose de 200 µg/kg + 2 doses de 100 µg/kg (intervaladas de 10 e 8 dias)	180	26	0.14	162

*tempo em que a concentração de IVM permanece acima de 2 ng/mL ÷ dose total do fármaco para 1 UA (450 kg); **0.9 × dose total do fármaco para 1 UA

Dentre os regimes de doses propostos para o controle de nematoides gastrintestinais, o de três doses foi 27.8 % mais eficiente que o de duas.

Discussão

Assumindo-se que o conhecimento dos parâmetros farmacocinéticos é base não apenas para se estimar e otimizar a eficácia da IVM (GOTARDO et al., 2020), como também para se avaliar os potenciais efeitos tóxicos deste fármaco em ecossistemas terrestres e aquáticos (FERNANDEZ et al., 2009), este trabalho objetivou avaliar o perfil farmacocinético da IVM em bovinos da raça Tabapuã, e simular diferentes protocolos para o tratamento de carrapatos (*Rhipicephalus microplus*) e parasitos nematoides.

O modelo foi validado com base nas recomendações de Mould e Upton (2013), e Traynard e colaboradores (2020); desse modo, a abordagem empregada conseguiu estimar adequadamente os perfis de concentração × tempo da IVM em bovinos Tabapuã. Além disso,

o modelo que melhor se ajustou aos dados do estudo teve um compartimento, assim como os modelos desenvolvidos por Lifschitz e colaboradores (1999), e Toutain e colaboradores (1988). Lanusse e colaboradores (1997), por sua vez, teve sucesso com um modelo de dois compartimentos. Modelos que descrevem a cinética da IVM variam, por exemplo, de acordo com a espécie animal e via de administração, e a escolha de um modelo em detrimento de outro envolve a consideração dos parâmetros farmacocinéticos e dos métodos pelos quais são calculados (CANGA et al., 2009). A concentração máxima (C_{max}) e o momento do pico da concentração plasmática (T_{max}) observados nos animais deste trabalho foram de 33 ng/mL e 5 dias, respectivamente, enquanto Gotardo e colaboradores (2020) observaram, em nove animais da raça Tabapuã, C_{max} de 44.49 ng/mL e T_{max} de 6.25 dias. Como a média dos pesos dos animais foi bastante similar em ambos os estudos (485.7 ± 178.1 kg vs. 490.2 ± 12.2 kg), acredita-se que a significativa diferença na C_{max} possa ter ocorrido devido a fatores que interferem fortemente na farmacocinética da IVM, como idade, condições ambientais, estado nutricional, infecção parasitária, sistema de produção e tempos de amostragem (CERKVENIK-FLAJS e GRABNAR, 2002).

Houve considerável dispersão dos dados observados, conforme se verifica na Figura 1, apesar de todos se encontrarem dentro do intervalo de 90 % de confiança. Um dos fatores que pode ter contribuído para isso é a grande variação dos escores corporais dos animais (de 2 a 4.5), definidos a partir da escala de Edmonson e colaboradores (1989). Moléculas altamente lipofílicas, como a IVM, normalmente apresentam absorção lenta, e podem permanecer no local de aplicação por bastante tempo, além de se acumularem no tecido adiposo (CANGA et al., 2009; ZHANG et al., 2019). Contudo, a constante de absorção (k_a) estimada foi de 0.17 ± 0.01 h⁻¹, provavelmente devido à menor quantidade de gordura corporal em comparação com animais de outros trabalhos.

Quanto ao gráfico de verificação preditiva visual (Figura 2), nota-se que há uma grande congruência entre a média dos percentis 10, 50 e 90 dos dados observados (linhas sólidas azuis) e a média dos percentis 10, 50 e 90 dos dados simulados (linhas tracejadas pretas). Em outras palavras, os valores estimados pelo modelo farmacocinético foram capazes de reproduzir tanto a tendência central quanto a variabilidade nos dados observados (TRAYNARD et al., 2020).

As Tabelas 2 e 3 mostram o cálculo do Índice de Eficiência Terapêutica (IET) de cada protocolo simulado, além dos respectivos valores da eliminação ambiental de IVM. É possível

notar que, tanto no combate a carrapatos quanto na prevenção de nematoides gastrintestinais, os protocolos de três doses (200, 100 e 100 µg/kg) obtiveram IETs maiores que aqueles dos protocolos de duas doses (200 µg/kg cada). Isso pode indicar que, a fim de se ter o regime de doses com melhor chance de sucesso terapêutico, para animais Tabapuã, o protocolo de três doses é melhor que o de duas.

De acordo com a Portaria nº 48/1997, de 12 de maio de 1997 (Ministério da Agricultura e Pecuária, Brasil), testes de eficácia para carrapaticidas devem possuir, a campo, resultados iguais ou superiores a 95 %. Sendo assim, a partir da concentração eficaz mínima de IVM (8 ng/mL), estipulada por Davey e colaboradores (2010), contra *Rhipicephalus microplus*, o estudo demonstrou que a eficácia do protocolo de três doses foi mantida por mais tempo (\cong 11.2 dias) que a do protocolo de duas doses (\cong 9.6 dias). Por outro lado, Toutain e colaboradores (1997) relataram que a concentração sérica de IVM atingiu níveis inferiores a 8 ppb no 15º dia após a administração do medicamento (dose única; 200 µg/kg; SC). Tais diferenças podem ser reflexo da taxa de excreção mais lenta, e da área sob a curva de concentração \times tempo (ASC) maior, presentes na média dos animais utilizados por estes autores.

Lifschitz e colaboradores (2004) propuseram uma concentração eficaz mínima de IVM (2 ng/mL) contra parasitos nematoides, e, a partir disso, verificou-se que a eficácia do protocolo de três doses foi mantida por mais tempo (\cong 26 dias) que a do protocolo de duas doses (\cong 21 dias). Eddi e colaboradores (1997), por sua vez, observaram que 28 dias após o tratamento (dose única; 200 µg/kg; SC) de bovinos com IVM, a eficácia foi de 99.2 %; foram utilizados 83 novilhos Hereford, pesando de 203 a 247 kg, sob condições de pastoreio contínuo e exposição natural constante a parasitos gastrintestinais. Além disso, as infecções parasitárias presentes nos animais do grupo controle não foram tratadas no dia 0, o que vincula a produção de ovos observada nas fezes destes indivíduos a condições existentes antes do início do experimento. Portanto, não pode ser descartada a possibilidade de que a baixa contagem de ovos, no grupo tratado com IVM, devia-se à baixa exposição à infecção, e não à atividade anti-helmíntica persistente do fármaco testado (MEEUS et al., 1997).

Sabendo-se que a IVM apresenta, em ambientes aquáticos, exposição prolongada com potencial risco ambiental (SANDERSON et al., 2007), e que o efeito inseticida, nas fezes de animais, é capaz de eliminar insetos benéficos que degradam o esterco (WALL e STRONG, 1987), a definição da posologia mais adequada não deve se ater somente aos aspectos

terapêuticos do fármaco, mas também aos potenciais riscos ambientais que este pode causar. Diante disso, objetivando-se tratar bovinos Tabapuã contra carrapatos da espécie *Rhipicephalus microplus*, a partir de uma formulação de IVM a 1 %, um protocolo de três doses (200, 100 e 100 µg/kg), com dois intervalos de 3 dias, sustentou uma eficácia superior a 95 % ao longo de aproximadamente 11 dias, e obteve maior Índice de Eficiência Terapêutica que o regime de duas doses (200 µg/kg cada). Para o tratamento de nematoides gastrintestinais, um protocolo de três doses (200, 100 e 100 µg/kg), com um intervalo de 10 dias, entre a primeira e segunda dose, e uma terceira aplicação no 8º dia, sustentou uma eficácia superior a 95 % ao longo de aproximadamente 26 dias, e também apresentou maior IET que o regime de duas doses.

Conclusões

O modelo farmacocinético da ivermectina a 1 % em bovinos Tabapuã foi capaz de estimar valores muito próximos aos observados, de modo a reproduzir, com 90 % de confiança, tanto a tendência central quanto a variabilidade dos dados observados. Além disso, as simulações apresentaram diferenças significativas no tempo de eficácia da IVM, haja vista que os protocolos de três doses, contra *Rhipicephalus microplus* ou parasitos nematoides, demonstraram eficácia por mais tempo que os de duas doses. O trabalho propõe um uso terapêutico mais nacional da IVM, e com menor potencial de impacto ambiental, embora há de se destacar que os resultados apresentados necessitam de confirmação de estudos *in vivo*.

Referências

Canga AG, Prieto, AMS, Liébana, MJD, Martínez, NF, Vega, MS, Vieitez, JJG. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal* 2009; 179(1), 25-37.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023307002493>.

Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Cerca de 80% do rebanho nacional é formado por animais das raças zebuínas ou sangue zebu [online]. 2019. Available from: <http://cfmv.gov.br/portal/noticia.php?cod=1998>.

Croubels, S, De Baere, S, Cherlet, M, De Backer, P. Determination of ivermectin B1a in animal plasma by liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry* 2002; 37(8), 840-847.

Davey, RB, Pound, JM, Miller, JA, Klavons, JA. Therapeutic and persistent efficacy of a long-acting (LA) formulation of ivermectin against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and sera concentration through time in treated cattle. *Veterinary parasitology* 2010; 169(1-2), 149-156.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401710000038>.

Eddi, C, Muniz, RA, Caracostantogolo, J, Errecalde, JO, Rew, RS, Michener, SL et al. Comparative persistent efficacy of doramectin, ivermectin and fenbendazole against natural nematode infections in cattle. *Veterinary parasitology* 1997; 72(1), 33-41.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401797000769>.

Edwards, CA, Atiyeh, RM, Römbke, J. Environment impact of avermectins. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 2001; 171, 111-137.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20023057947>.

Fernandez, C, Andrés, MS, Porcel, MA, Rodriguez, C, Alonso, A, Tarazona, JV. Pharmacokinetic profile of ivermectin in cattle dung excretion, and its associated environmental hazard. *Soil and Sediment Contamination* 2009; 18(5), 564-575.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15320380903085675>.

Cerkvenik-Flajs, I, Grabnar, I. Ivermectin pharmacokinetics. *Slovenian Veterinary Research (Slovenia)* 2002; 39(3).
<https://agris.fao.org/search/en/providers/122615/records/6472490953aa8c896304f7c3>.

Gotardo, AT, Fonseca, RL, Barreto, F, Tomaszewski, CA, Barnet, LS, Castilho, T. et al. The effect of breed, sex, and drug concentration on the pharmacokinetic profile of ivermectin in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2020; 43(5), 477-484.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvp.12862>.

Klatte, S, Schaefer, HC, Hempel, M. Pharmaceuticals in the environment—a short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 2017; 5, 61-66.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352554116300122>.

Lanusse, C, Lifschitz, A, Virkel, G, Alvarez, L, Sanchez, S, Sutra, JF et al. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *Journal of*

veterinary pharmacology and therapeutics 1997; 20(2), 91-99.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2885.1997.00825.x>.

Lifschitz, A, Virkel, G, Pis, A, Imperiale, F, Sanchez, S, Alvarez, L et al. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. *Veterinary Parasitology* 1999; 86(3), 203-215.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401799001429>.

Lifschitz, A, Sallovitz, J, Imperiale, F, Pis, A, Lorda, JJ, Lanusse, C. Pharmacokinetic evaluation of four ivermectin generic formulations in calves. *Veterinary Parasitology* 2004; 119(2-3), 247-257.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401703004618>.

Meeus, PFM, De Bont, J, Vercruyse, J. Comparison of the persistent activity of ivermectin, abamectin, doramectin and moxidectin in cattle in Zambia. *Veterinary Parasitology* 1997; 70(4), 219-224.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401797000095>.

Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, Brasil). Portaria nº 48/1997, de 12 de maio de 1997 [online]. 1997. Available from: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=72818869>.

Mould, DR, Upton, RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology* 2013; 2(4), 1-14.
<https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/psp.2013.14>.

Ballweber, LR, Baeten, LA. Use of macrocyclic lactones in cattle in the USA. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 2012; 13(6), 1061-1069.
<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2012/00000013/00000006/art00025>.

Sanderson, H, Laird, B, Pope, L, Brain, R, Wilson, C, Johnson, D et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. *Aquatic toxicology* 2007; 85(4), 229-240.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X07003414>.

Toutain, PL, Upson, DW, Terhune, TN, McKenzie, ME. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in cattle. *Veterinary Parasitology* 1997; 72(1), 3-8. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401797000708>.

Toutain, PL, Campan, M, Galtier, P, Alvinerie, M. Kinetic and insecticidal properties of ivermectin residues in the milk of dairy cows. *J Vet Pharmacol Ther* 1988; 11(3), 288-91. https://www.researchgate.net/profile/Pierre-Louis-Toutain/publication/19972565_Kinetic_and_insecticidal_properties_of_ivermectin_residues_in_milk_of_dairy_cows/links/5ab2b63f458515ecebeee19a/Kinetic-and-insecticidal-properties-of-ivermectin-residues-in-milk-of-dairy-cows.pdf.

Traynard, P, Ayral, G, Twarogowska, M, Chauvin, J. Efficient pharmacokinetic modeling workflow with the MonolixSuite: a case study of remifentanyl. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology* 2020; 9(4), 198-210. <https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/psp4.12500>.

Wall, R, Strong, L. Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin. *Nature* 1987; 327(6121), 418-421. <https://www.nature.com/articles/327418a0>.

Zhang, Q, Bai, P, Zheng, C, Cheng, Y, Wang, T, Lu, X. Design, synthesis, insecticidal activity and molecular docking of doramectin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2019; 27(12), 2387-2396. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089618320406>.

CAPÍTULO 4

ARTIGO 2 - “Modelagem farmacocinética e simulação de protocolo com ivermectina a 1 % para tratamento de nematoides em bezerros e bezerras Gir”

MODELAGEM FARMACOCINÉTICA E SIMULAÇÃO DE PROTOCOLO COM IVERMECTINA A 1 % PARA TRATAMENTO DE NEMATOIDES EM BEZERROS E BEZERRAS GIR

João Vitor Fernandes Cotrim de Almeida¹; Lucas Wamser Fonseca Gonzaga¹; Michelle Daiane de Almeida Loures²; Humberto de Mello Brandão²; Marcos Ferrante³

¹*Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG - Brasil)*

²*Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG - Brasil)*

³*Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária - Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG - Brasil)*

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de IVM a 1 %, em bezerros e bezerras Gir (*Bos taurus indicus*), para simular protocolos de tratamento contra nematoides gastrintestinais. Vinte animais (14 bezerras e seis bezerros) receberam uma dose (200 µg/kg) de Ivomec®, pela via subcutânea, e amostras de sangue foram coletadas 15 minutos antes da administração do medicamento (dia 0), e 1, 2, 3, 4, 6, 9, 11, 14 e 35 dias depois. Todas as amostras foram submetidas à análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas. A modelagem farmacocinética foi desenvolvida por meio do Monolix 2023 R1, e simulações de Monte Carlo pelo Simulx (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). O cálculo de um modelo não linear de efeitos mistos, aplicado pelos *softwares* supramencionados, descreveu com sucesso os dados esparsos observados, com base em avaliação visual da qualidade dos ajustes (*goodness of fit*). Além disso, as simulações apresentaram diferenças significativas, entre os sexos, no tempo de eficácia do fármaco contra parasitos nematoides, indicando que bezerros Gir teriam menor risco de se reinfectarem, no primeiro pasto do sistema de manejo rotacionado, em comparação com as bezerras.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the pharmacokinetic profile of a 1% IVM formulation, in male and female Gir calves (*Bos taurus indicus*), to simulate treatment protocols against gastrointestinal nematodes. Twenty animals (14 heifers and six calves)

received a dose (200 µg/kg) of Ivomec®, subcutaneously, and blood samples were collected 15 minutes before administration of the medicine (day 0), and 1, 2, 3, 4, 6, 9, 11, 14 and 35 days later. All samples were subjected to analysis by Ultra Efficiency Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry. Pharmacokinetic modeling was developed using Monolix 2023 R1, and Monte Carlo simulations using Simulx (Lixoft SAS, a Simulations Plus company). The calculation system of a nonlinear mixed effect model successfully described the sparse data, based on the visual evaluation of the goodness of fit. Furthermore, the simulations showed significant differences, between the sexes, in the time of effectiveness of the drug against gastrointestinal nematodes, indicating that Gir calves would have a lower risk of becoming reinfected, in the first pasture of the rotational management system, compared to female calves.

Introdução

A ivermectina (IVM) faz parte do grupo das avermectinas, moléculas derivadas de produtos da fermentação de *Streptomyces avermitilis*. Trata-se de um dos fármacos antiparasitários mais utilizados em todo o mundo, principalmente no tratamento anti-helmíntico de bovinos de corte (Gotardo et al., 2020). A maior parte da IVM é excretada inalterada (sob a forma ativa), e eliminada principalmente nas fezes, o que configura uma importante via de introdução de resíduos no meio ambiente (Canga et al., 2009); estes, por sua vez, produzem impactos negativos sobre organismos vivos e impulsionam a seleção de parasitos resistentes (Klatte et al., 2017).

O manejo integrado de parasitos envolve métodos químicos, como o emprego de antiparasitários, e não químicos, como o pastoreio rotativo; este é baseado na rápida mudança de animais entre pastagens, e que já provou ser eficaz na produção de ambientes seguros ao pastejo de bovinos (Maqbool et al., 2016). Nesse contexto, estudos farmacocinéticos que reproduzam janelas residuais de efeito terapêutico adequadas àquelas do manejo integrado de parasitos são essenciais à otimização e racionalização do uso da IVM, e, por conseguinte, a uma menor excreção ambiental do fármaco (Toutain et al., 1988).

Ante o exposto, o objetivo do estudo foi avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação de IVM a 1 %, em bezerros e bezerras Gir (*Bos taurus indicus*) criados em sistema de pastejo rotacionado, para simular protocolos para controle de nematoides gastrintestinais.

Material e métodos

Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (FZMV - UFLA; protocolo nº 030/21, 06 de julho de 2021). Todos os cuidados e o manejo dos animais foram realizados por pessoas experientes e sob supervisão médico-veterinária.

Fármaco

Foi utilizado o seguinte medicamento: ivermectina a 1 % (Ivomec® injetável; Merial Animal Health Ltda.). O medicamento foi administrado pela via subcutânea (SC), na região da “tábua do pescoço”, e na concentração de 200 µg/kg, conforme indicado na bula do produto.

Animais, alimentação e sistema de produção

O estudo para avaliação da farmacocinética da IVM, em bovinos, foi realizado sob as seguintes circunstâncias: vinte animais foram mantidos em sistema de pastejo rotacionado (*Brachiaria* sp.), e receberam suplementação de concentrado comercial, com 18 % de proteína bruta (0.5 % do peso corporal), e silagem de milho (5 % do peso corporal). Suplemento mineral comercial (Tortuga) e água doce foram oferecidos *ad libitum*. Os animais passaram por um período de adaptação de 15 dias antes do início do estudo, e não foram tratados com IVM ou qualquer outra lactona macrocíclica por um período mínimo de 30 dias antes do experimento.

Tratamento e amostragem

Foram incluídos no experimento 14 bezerras e seis bezerros (n = 20) da raça Gir, com idades entre 2 e 4 meses, e pesos médios de 107.62 ± 20.37 kg e 107.2 ± 19.46 kg, respectivamente. O período experimental teve início em novembro de 2020 e término em dezembro de 2020. Os animais estavam localizados no Campo Experimental José Henrique Bruschi, Coronel Pacheco, estado de Minas Gerais (MG), Brasil (S21°55', W43°26').

Amostras de sangue foram coletadas de todos os indivíduos, por meio de punção venosa jugular, utilizando-se tubos heparinizados, 15 minutos antes da administração do medicamento (dia 0), e após todos os animais terem sido pesados e tratados com IVM, especificamente 1, 2, 3, 4, 6, 9, 11, 14 e 35 dias depois. As concentrações do fármaco foram determinadas em amostras de plasma sanguíneo, que foram congeladas a -80 °C até o momento da análise.

Procedimentos analíticos

Empregou-se método analítico previamente validado por Croubels et al. (2002). Foram utilizadas alíquotas de plasma sanguíneo de 100 µL. A extração foi realizada pelo método de precipitação com acetonitrila. A 100 µL de plasma foram adicionados 900 µL de acetonitrila (adição em uma única etapa). A mistura foi levada ao vórtex, e depois submetida à centrifugação (14000 rpm; 5 °C; 8 min). Em seguida, 700 µL do sobrenadante foi transferido para o *vial*, e submetido à análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UPLC-MS/MS).

O padrão de ivermectina (22,23 desidro-ivermectina B1a) com pureza de 89.2 % foi utilizado. A concentração plasmática de IVM foi analisada por UPLC-MS/MS, empregando-se um sistema UPLC Waters Acquity acoplado a um sistema MS Waters Xevo TQ. A separação cromatográfica foi realizada em coluna C18 Acquity UPLC BEH (2.1 × 50 mm, 1.7 µm). A eluição por gradiente ocorreu nas fases móveis de 10 mM de acetato de amônio e ácido fórmico a 0.1 % (A) e de acetonitrila (B). A vazão foi de 0.50 mL/min. O gradiente iniciou com 50 % de A e 50 % de B, diminuiu, em 1 min, para 0 % de A e 100 % de B, e assim foi mantido até 3 min. Em seguida, aos 3.01 min, a eluição retornou à condição inicial, e mantida dessa forma até 4 min. A temperatura da coluna foi mantida a 45 °C. O volume de injeção foi de 5 µL.

A resolução do espectrômetro de massas, no monitoramento de reações múltiplas, foi unitária, e o tempo de permanência aplicado foi de 200 ms para todas as transições. O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por eletrospray positivo. O argônio foi utilizado como gás de colisão (3.5×10^{-3} mbar). A temperatura de dessolvatação foi ajustada em 500 °C. A voltagem capilar de eletropulverização foi ajustada em 1.0 kV. O limite de detecção obtido foi de 0.1 ppb, e a equação da reta foi a seguinte: $y = 937.685x - 104.641$ ($R^2 = 0.992$).

Análise farmacocinética

As curvas de concentração plasmática-tempo da IVM foram analisadas por um modelo não linear de efeitos mistos, a partir do *software* Monolix 2023 R1 (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Os parâmetros farmacocinéticos da população foram estimados por máxima verossimilhança, empregando-se maximização de expectativa de aproximação estocástica. O modelo farmacocinético foi selecionado com base no critério de informação de

Akaike e critério de informação Bayesiano; os gráficos de observações \times predição e de verificação preditiva visual, assim como as correlações entre efeitos aleatórios, foram examinados para a seleção do modelo que melhor descrevesse os dados observados (Mould & Upton, 2013; Traynard et al., 2020).

Simulações

O modelo farmacocinético que melhor se ajustou aos dados observados foi empregado na simulação de populações virtuais (1000 animais cada), por meio do *software* Simulx (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Desse modo, simulações de Monte Carlo foram executadas para cada um dos diferentes sexos (macho e fêmea), os quais foram submetidos a dois protocolos de tratamento com IVM a 1 %: protocolo de uma dose (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$); protocolo de duas doses (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cada), com intervalo de 10 dias. Além disso, foi projetado o limite de 2 ng/mL (Lifschitz et al., 2004) como a concentração eficaz mínima de IVM, no plasma sanguíneo, contra parasitos nematoides, de modo que fosse possível avaliar a eficácia do fármaco em ambos os sexos.

Análise estatística

Os parâmetros individuais de bezerras e bezerros, gerados a partir do modelo farmacocinético, além daqueles obtidos por meio da análise dos dados no *software* PKanalix 2023 R1 (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus) - quais sejam, área sob a curva de concentração-tempo, concentração plasmática máxima e momento do pico de concentração plasmática -, foram analisados no BioEstat 5.0 (Informer Technologies, Inc.). Todos foram submetidos a um teste de normalidade (Shapiro-Wilk), e, para dados paramétricos, realizou-se o teste t, enquanto para dados não paramétricos foi executado o teste de Mann-Whitney. Além disso, o significado estatístico da diferença, entre os sexos, do protocolo de duas doses de IVM, expressa em dias acima da concentração de 2 ng/mL , foi verificado também pelo teste de Mann-Whitney. Em todos os casos, a probabilidade de diferenças significativas foi fixada em $\alpha = 0.05$. Os dados foram relatados como média \pm erro padrão da média.

Resultados

Análise farmacocinética

Os dados farmacocinéticos de IVM, em bezerras e bezerros Gir, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados farmacocinéticos de uma formulação de ivermectina a 1 %, administrada, pela via subcutânea (200 µg/kg), em bezerras e bezerros Gir.

Parâmetros farmacocinéticos				
Parâmetro		Bezerras	Bezerros	p
ka	h ⁻¹	0.15 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.001
V	mL	433.30 ± 105.10	387.13 ± 148.62	0.43
k	mL.h ⁻¹	535.72 ± 36.05	542.61 ± 56.12	0.74
k12	mL.h ⁻¹	5369.99 ± 650.15	4859.82 ± 580.94	0.11
k21	mL.h ⁻¹	9.44 ± 1.41	10.72 ± 1.86	0.23
AUC	ng.mL ⁻¹ .d ⁻¹	90.56 ± 20.84	96.48 ± 58.12	0.81
T _{1/2}	day (d)	6.55 ± 2.50	6.63 ± 2.26	0.95
C _{max}	ng/mL	10.77 ± 3.31	8.96 ± 3.32	0.28
T _{max}	d	3.07 ± 0.61	2.83 ± 1.83	0.48

Legenda: ka, constante de absorção; V, volume do compartimento central; k, constante de eliminação; k12, constante de trânsito do compartimento central ao periférico; k21, constante de trânsito do compartimento periférico ao central; AUC, área sob a curva de concentração-tempo, do momento zero ao último com concentração mensurável; C_{max}, concentração plasmática máxima; T_{max}, momento do pico de concentração plasmática.

As concentrações plasmáticas de IVM se ajustaram melhor a um modelo farmacocinético de administração oral/extravasculares, sem atraso (*lag time*), com absorção de primeira ordem, distribuição em dois compartimentos e eliminação linear (taxa de eliminação

k), além de erro constante e correlação entre a constante de absorção (k_a) e a covariável sexo. Os valores dos parâmetros estimados no modelo farmacocinético são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Estimativas de parâmetros do modelo farmacocinético final de vinte bezerras (14 fêmeas e seis machos) da raça Gir, nos quais uma dose única (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de ivermectina foi administrada, pela via subcutânea, na região da “tábua do pescoço”.

Parâmetros populacionais estimados				
Parâmetro		Valor estimado	SE	RSE (%)
k_a	h^{-1}	0.15	0.02	14.21
V	mL	397.29	116.44	29.30
k	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	537.94	163.93	30.47
k_{12}	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	5110.99	3361.00	65.76
k_{21}	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	9.79	3.64	37.19
ω_{k_a}	h^{-1}	0.32	0.12	36.95
ω_V	mL	0.37	0.11	30.63
ω_k	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	0.17	0.13	76.08
$\omega_{k_{12}}$	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	0.26	0.19	74.58
$\omega_{k_{21}}$	$\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	0.30	0.23	75.90

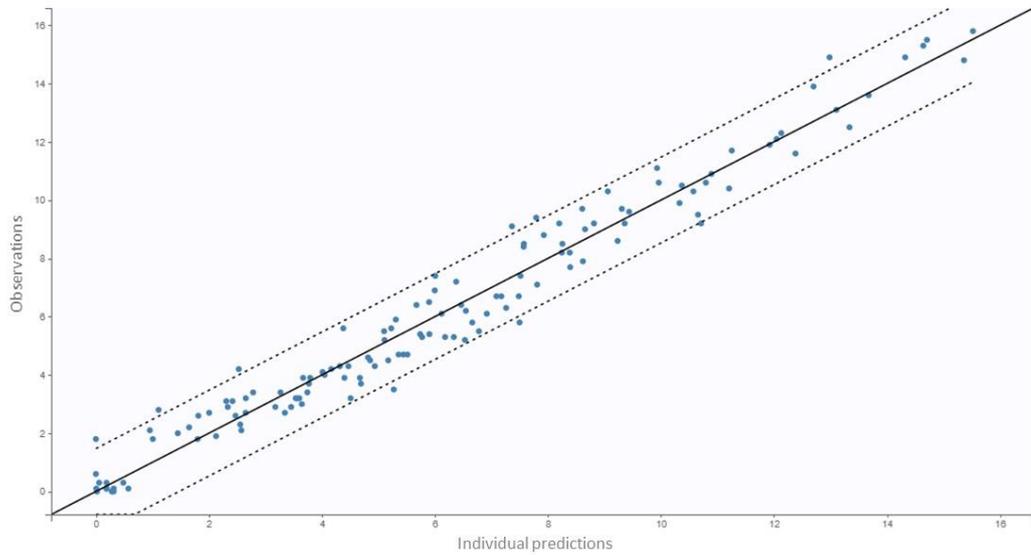
beta_ka_sexo	-0.46	0.21	46.46
a	0.89	0.06	7.67

Legenda: k_a , constante de absorção; V , volume do compartimento central; k , constante de eliminação; k_{12} , constante de trânsito do compartimento central ao periférico; k_{21} , constante de trânsito do compartimento periférico ao central; ωK_a , variação interindividual na constante de absorção; ωV , variação interindividual no volume do compartimento central; ωk , variação interindividual na constante de eliminação; ωk_{12} , variação interindividual na constante de trânsito do compartimento central ao periférico; ωk_{21} , variação interindividual na constante de trânsito do compartimento periférico ao central; beta_ka_sexo , correlação entre a constante de absorção e o sexo; a , variabilidade residual.

O modelo incluiu a correlação entre a constante de absorção e o sexo (-0.46 ± 0.21). O volume estimado do compartimento (V) foi de $4.09 \pm 0.69 \text{ mL.kg}^{-1}$, para bezerras, e $3.57 \pm 0.88 \text{ mL.kg}^{-1}$ para bezerros; a constante de eliminação (k) foi de $5.17 \pm 0.70 \text{ mL.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$, para bezerras, e $5.22 \pm 0.57 \text{ mL.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$ para bezerros.

O gráfico que representa a correlação entre os valores observados e as predições individuais é exibido na Figura 1.

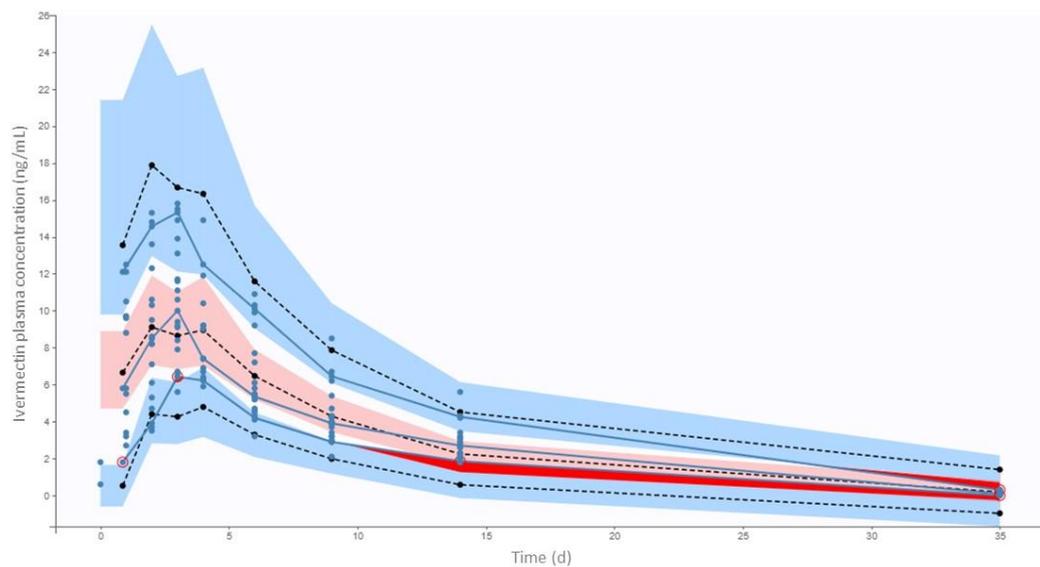
Figura 1. Gráfico de adequação do modelo farmacocinético final (dados observados \times valores preditos).



Legenda: a linha sólida representa a regressão linear, as linhas tracejadas ilustram os intervalos de confiança de 95 %, e os pontos representam os dados observados.

O gráfico de observações \times predição demonstrou que a maioria das estimativas estão dentro do intervalo de 95 % de confiança, indicando que as especificações do modelo estrutural estão corretas. O gráfico de verificação preditiva visual é exibido na Figura 2.

Figura 2. Gráfico de verificação preditiva visual (concentração plasmática de ivermectina versus tempo).



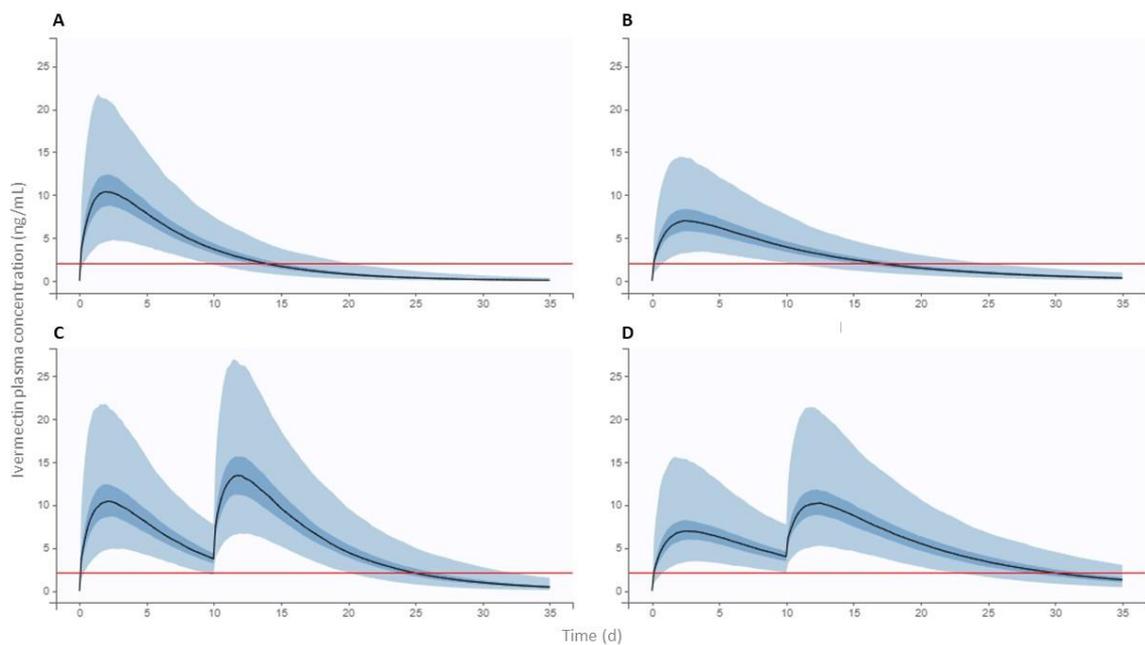
Legenda: as linhas sólidas azuis indicam os percentis 10, 50 e 90 dos dados observados. As linhas tracejadas pretas indicam os percentis 10, 50 e 90 dos dados simulados. As áreas sombreadas em azul e rosa representam intervalos de previsão de 90 % dos percentis correspondentes previstos pelo modelo farmacocinético. Valores discrepantes estão destacados com círculos e áreas vermelhos.

O gráfico de verificação preditiva visual sugeriu que a mediana, os percentis 5 e 95 das concentrações observadas foram adequadamente previstos pelos respectivos intervalos de confiança *bootstrap* de 95 %.

Simulações

As simulações de protocolos com IVM a 1 %, tanto de bezerras quanto bezerros Gir, são apresentadas na Figura 3.

Figura 3. Simulações de protocolos com ivermectina a 1 %: A - dose única (200 µg/kg) em bezerras; B - dose única (200 µg/kg) em bezerros; C - duas doses (200 µg/kg), com intervalo de 10 dias, em bezerras; D - duas doses (200 µg/kg), com intervalo de 10 dias, em bezerros. As linhas horizontais vermelhas indicam as concentrações eficazes mínimas de IVM, no plasma sanguíneo, contra parasitos nematoides (2 ng/mL) e *Rhipicephalus microplus* (8 ng/mL).



Legenda: a linha central (preta) representa a mediana dos indivíduos ($n = 1000$), e os sombreados (azuis) representam os percentis de 5 a 35 % (azul claro), de 35 a 65 % (azul escuro), e de 65 a 95 % (azul claro) da população.

As simulações dos tratamentos com uma dose ($200 \mu\text{g}/\text{kg}$) de IVM a 1 % demonstraram que, em bezerras Gir (A), a concentração máxima atingida foi maior que $20 \text{ ng}/\text{mL}$, enquanto em bezerros (B) a concentração máxima foi de aproximadamente $14 \text{ ng}/\text{mL}$. As simulações dos tratamentos com duas doses ($200 \mu\text{g}/\text{kg}$ cada) de IVM a 1 %, com intervalo de 10 dias, evidenciaram que, em bezerras (C), a eficácia contra nematoides gastrintestinais (concentrações séricas do fármaco acima de $2 \text{ ng}/\text{mL}$), para 95 % da população simulada, durou cerca de 20 dias; em bezerros (D), a eficácia foi mantida por 23 dias. Verificou-se diferença estatística ($p = 0.001$), entre machos e fêmeas, nos dias em que as populações simuladas atingiram concentrações abaixo de $2 \text{ ng}/\text{mL}$ após a segunda dose de IVM.

Discussão

O modelo foi validado com base nas recomendações de Mould & Upton (2013), e Traynard et al. (2020); desse modo, a abordagem empregada conseguiu estimar adequadamente os perfis de concentração-tempo da IVM em bezerras e bezerros Gir. Além disso, o modelo que melhor se ajustou aos dados do estudo teve dois compartimentos, assim como o de Lanusse et al. (1997). Lifschitz et al. (1999), e Toutain et al. (1988), por outro lado, tiveram sucesso com modelos de um compartimento. Modelos que descrevem a cinética da IVM variam, por exemplo, de acordo com a espécie animal e via de administração, e a escolha de um modelo em detrimento de outro envolve a consideração dos parâmetros farmacocinéticos e dos métodos pelos quais são calculados (Canga et al., 2009). A concentração máxima (C_{max}) e o momento do pico da concentração plasmática (T_{max}) observados nos animais foram de $10.77 \pm 3.31 \text{ ng}/\text{mL}$ e 3.07 ± 0.61 dias, para bezerras, e $8.96 \pm 3.32 \text{ ng}/\text{mL}$ e 2.83 ± 1.83 dias para bezerros. Gotardo et al. (2020) observaram, em nove animais da raça Tabapuã, C_{max} de $44.49 \text{ ng}/\text{mL}$ e T_{max} de 6.25 dias. Como a média de pesos foram bastante diferentes entre os dois estudos ($107.46 \pm 19.19 \text{ kg}$ vs. $490.2 \pm 12.2 \text{ kg}$), acredita-se que isso, além da diferença de idade, condições ambientais, estado nutricional, sistema de produção e tempos de amostragem (Cerkvenik-Flajs & Grabnar, 2002), pode ter sido responsável pela significativa diferença dos parâmetros em questão.

Houve considerável dispersão dos dados observados, conforme se verifica na Figura 1, apesar de todos se encontrarem dentro do intervalo de 90 % de confiança. Um dos fatores que pode ter contribuído para tal homogeneidade é a reduzida diferença entre médias de peso de bezerras e bezerros (107.62 ± 20.37 kg e 107.2 ± 19.46 kg, respectivamente). No tocante ao gráfico de verificação preditiva visual (Figura 2), verifica-se que há uma grande congruência entre a média dos percentis 10, 50 e 90 dos dados observados (linhas sólidas azuis) e a média dos percentis 10, 50 e 90 dos dados simulados (linhas tracejadas pretas), exceto na eliminação do fármaco (áreas vermelhas).

Moléculas altamente lipofílicas, como a IVM, normalmente apresentam absorção lenta, e podem permanecer no local de aplicação por bastante tempo, além de se acumularem no tecido adiposo (Canga et al., 2009; Zhang et al., 2019). Contudo, a constante de absorção (k_a) estimada foi de 0.15 ± 0.02 h⁻¹, provavelmente devido a um menor volume de gordura corporal dos animais do estudo, em função da idade, quando comparados a indivíduos de outros trabalhos.

Quanto mais tempo uma pastagem permanecer em repouso, menor será a carga da fase infectante de nematoides gastrintestinais à qual os animais estarão submetidos no próximo pastejo. Contudo, ao se empregar um sistema de pastejo rotativo intensivo, estes podem retornar ao pasto inicial após aproximadamente 28 dias, quando as larvas resultantes dos ovos eliminados no pastejo anterior estiverem infectantes (Stromberg & Averbek, 1999). Tal prática obriga o gado a comer toda a forragem disponível, incluindo aquela próxima a fezes, onde está disponível a maior parte das larvas infectantes. Além disso, larvas em hipobiose em tecidos bovinos podem completar o ciclo de vida, tornando-se fonte de recontaminação de pastagens após tratamento antiparasitário (Armour & Duncan, 1987). Por outro lado, o tratamento anti-helmíntico dos animais, antes de serem inseridos em pastagens limpas e rotacionadas, poderia controlar o parasitismo (Wills et al., 2020). Assim, protocolos terapêuticos que aumentem o período residual da IVM, em bovinos criados em sistema de pastejo rotacionado, podem contribuir significativamente na redução da contaminação de pastagens.

Em bezerros, o protocolo de duas doses de IVM, com intervalo de 10 dias, exibiu eficácia contra nematoides gastrintestinais por mais tempo (23 dias) que em bezerras (20 dias). Isso significa que, ao inserirmos bezerros Gir previamente tratados em uma pastagem livre de parasitos, rotacionando-os entre pastos e administrando, 10 dias após a primeira

aplicação, uma segunda dose do medicamento, a proteção contra endoparasitos seria mantida até poucos dias antes do retorno dos animais ao primeiro pasto (28 dias após o início do manejo), quando o estágio larval infeccioso (L3) de *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Cooperia* spp., por exemplo, já teria migrado das fezes para a forragem (Charlier et al., 2020). Dessa forma, ainda que o protocolo de duas doses tenha aumentado a eficácia residual da IVM, as duas aplicações foram insuficientes para se cobrir o ciclo completo de rotação das pastagens.

Os dados de modelagem sugerem o efeito do sexo nos parâmetros farmacocinéticos da IVM em bezerros(as) Gir, o que nos permite inferir que, nesta raça e na faixa etária dos animais do experimento, o desenvolvimento de protocolos de IVM ajustados para cada sexo podem contribuir na promoção do controle integrado de nematoides gastrintestinais e do uso racional do fármaco.

Referências

- Armour, J., & Duncan, M. (1987). Arrested larval development in cattle nematodes. *Parasitology Today*, 3(6), 171-176.
- Canga, A. G., Prieto, A. M. S., Liébana, M. J. D., Martínez, N. F., Vega, M. S., & Vieitez, J. J. G. (2009). The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal*, 179(1), 25-37.
- Cerkvenik-Flajs, I., & Grabnar, I. (2002). Ivermectin pharmacokinetics. *Slovenian Veterinary Research (Slovenia)*, 39(3).
- Charlier, J., Höglund, J., Morgan, E. R., Geldhof, P., Vercruyse, J., & Claerebout, E. (2020). Biology and epidemiology of gastrointestinal nematodes in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36(1), 1-15.
- Croubels, S., De Baere, S., Cherlet, M., & De Backer, P. (2002). Determination of ivermectin B1a in animal plasma by liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry*, 37(8), 840-847.
- Edwards, C. A., Atiyeh, R. M., & Römbke, J. (2001). Environment impact of avermectins.
- Gotardo, A. T., Fonseca, R. L., Barreto, F., Tomaszewski, C. A., Barnet, L. S., Castilho, T., & Górnaiak, S. L. (2020). The effect of breed, sex, and drug concentration on the

pharmacokinetic profile of ivermectin in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 43(5), 477-484.

Klatte, S., Schaefer, H. C., & Hempel, M. (2017). Pharmaceuticals in the environment—a short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 5, 61-66.

Lanusse, C., Lifschitz, A., Virkel, G., Alvarez, L., Sanchez, S., Sutra, J. F., ... & Alvinerie, M. (1997). Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 20(2), 91-99.

Lifschitz, A., Sallovitz, J., Imperiale, F., Pis, A., Lorda, J. J., & Lanusse, C. (2004). Pharmacokinetic evaluation of four ivermectin generic formulations in calves. *Veterinary Parasitology*, 119(2-3), 247-257.

Lifschitz, A., Virkel, G., Pis, A., Imperiale, F., Sanchez, S., Alvarez, L., ... & Lanusse, C. (1999). Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. *Veterinary Parasitology*, 86(3), 203-215.

Maqbool, I., Wani, Z. A., Shahardar, R. A., Allaie, I. M., & Shah, M. M. (2017). Integrated parasite management with special reference to gastro-intestinal nematodes. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(1), 1-8.

Mould, D. R., & Upton, R. N. (2013). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*, 2(4), 1-14.

Stromberg, B. E., & Averbeck, G. A. (1999). The role of parasite epidemiology in the management of grazing cattle. *International Journal for Parasitology*, 29(1), 33-39.

Toutain, P. L. et al. Kinetic and insecticidal properties of ivermectin residues in the milk of dairy cows. *J Vet Pharmacol Ther*, v. 11, n. 3, p. 288-91, 1988.

Traynard, P., Ayrat, G., Twarogowska, M., & Chauvin, J. (2020). Efficient pharmacokinetic modeling workflow with the MonolixSuite: a case study of remifentanyl. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*, 9(4), 198-210.

Wills, F. K., Campbell, J. R., Parker, S. E., Waldner, C. L., & Uehlinger, F. D. (2020). Gastrointestinal nematode management in western Canadian cow-calf herds. *The Canadian Veterinary Journal*, *61*(4), 382.

Zhang, Q., Bai, P., Zheng, C., Cheng, Y., Wang, T., & Lu, X. (2019). Design, synthesis, insecticidal activity and molecular docking of doramectin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *27*(12), 2387-2396.