



LILLIAN PEREIRA GOUVÊIA

**ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA
BENZATINA EM CAPRINOS SAUDÁVEIS**

LAVRAS – MG

2025

LILLIAN PEREIRA GOUVÊIA

**ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA BENZATINA EM
CAPRINOS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Marcos Ferrante
Orientador

Dra. Patrícia Yoshida Faccioli Martins
Coorientadora

LAVRAS – MG

2025

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

Gouvêia, Lillian Pereira.

Estudo farmacocinético de cloxacilina benzatina em caprinos saudáveis /
Lillian Pereira Gouvêia. - 2025.
70 p.

Orientador: Marcos Ferrante

Coorientadora: Patrícia Yoshida Faccioli Martins

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. Farmacologia. 2. Antimicrobianos. 3. Modelagem. 4. Nanotecnologia
veterinária. I. Ferrante, Marcos . II. Yoshida Faccioli Martins , Patrícia. III.
Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

LILLIAN PEREIRA GOUVÊIA

**ESTUDO FARMACOCINÉTICO CLOXACILINA BENZATINA EM
CAPRINOS SAUDÁVEIS**

**PHARMACOKINETIC STUDY OF BENZATHINE CLOXACILLIN IN HEALTHY
GOATS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Ciências Veterinárias, área
de concentração em Fisiologia e
Metabolismo, para a obtenção do título de
Mestre.

APROVADA em 01 de agosto de 2025.

Dra. Ana Milena César Lima – EMBRAPA Caprinos e Ovinos

Dra. Juliana Tensol Pinto – UFLA

Dra. Daniel Cornelio Buldain – UNLP

Dr. Humberto De Mello Brandao – EMBRAPA Gado de Leite

Dra. Patrícia Yoshida Faccioli Martins – EMBRAPA Caprinos e Ovinos

Dr. Marcos Ferrante – UFLA

Prof. Dr. Marcos Ferrante
Orientador

Dra. Patrícia Yoshida Faccioli Martins
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Lavras – UFLA, a Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária – FMZV, ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da UFLA – PPGCC/UFLA, pela estrutura oferecida e pela oportunidade de realização do Mestrado.

Agradeço a Capes pela concessão da bolsa de estudos, que tornou possível a realização do Mestrado.

Agradeço imensamente aos meus pais, Luci e José Ernesto, por sempre me incentivarem a continuar meus estudos e por me ensinarem o valor do trabalho. Pai, sua ausência é sentida todos os dias, mas seus ensinamentos e amor seguem vivos em mim, guiando-me a cada pequena conquista.

Ao meu irmão Juliano, sou grata por todo companheirismo, pelas risadas e pela sensação única de reencontro que compartilhamos a cada vez que nos reunimos.

À família que a UFLA me presenteou em forma de amizade — Mateus, Angélica, Amanda e Bárbara —, mesmo distantes, sei que com vocês “eu não ando só”.

Mateus, obrigada por reconhecer meus momentos e por sempre me trazer de volta quando me desconecto do que realmente importa. Sua amizade foi essencial para que eu chegasse até aqui.

Aos meus amigos de curso e de vida — Lucas, Sibely, Melissa Vieira, João Vitor e Otávio —, obrigada por tornarem essa jornada mais leve, trazendo risadas e alegria em meio a momentos desafiadores.

Ao meu esposo, Bruno, obrigada por ser a calma no meu mar agitado de sentimentos, por me amar e me incentivar até nos dias mais turbulentos e por estar sempre presente na nossa família. Seu apoio foi fundamental!

Agradeço imensamente ao meu professor, orientador e amigo Marcos Ferrante, pela paciência, didática e apoio incondicional. Obrigada por nunca deixar de acreditar em mim, mesmo quando eu mesma duvidava. De todos os aprendizados que tive com você, o maior é entender o impacto que bons mentores têm na vida profissional de alguém — e esse é um legado que quero levar adiante.

Sou grata também pela convivência diária com meus colegas de laboratório e do Núcleo de Estudos NEFARM, que tornam essa trajetória mais leve. Em especial, agradeço ao Lucas, Dani, Sibs, Lari e Bruna: cada café compartilhado, cada piada e cada risada fazem toda a diferença.

Por fim, agradeço à Odete, à Dora e ao Marley, que, com seus miados e latidos, me fazem lembrar todos os dias do verdadeiro motivo pelo qual escolhi essa profissão, expressando o amor mais puro e genuíno.

RESUMO

A busca por alternativas terapêuticas seguras e eficazes tem estimulado o desenvolvimento de formulações inovadoras para uso em caprinos, devido à escassez de medicamentos registrados para essa espécie. Nesse contexto, o uso de nanoestruturas aplicadas a antimicrobianos representa uma estratégia promissora, com potencial para melhorar a biodisponibilidade, prolongar a liberação do fármaco e otimizar sua distribuição tecidual. Além do aprimoramento das formulações, novas abordagens relacionadas às vias de administração parenteral têm sido exploradas na espécie caprina.

Este estudo foi conduzido em duas etapas distintas, com o objetivo de caracterizar e comparar os perfis farmacocinéticos de diferentes formulações de cloxacilina benzatina em caprinos saudáveis. Na primeira etapa, avaliou-se uma formulação nanoestruturada administrada por via subcutânea, na dose de 4 mg/kg. Na segunda etapa, investigou-se a formulação convencional administrada por via intramuscular, em doses entre 2 e 20 mg/kg. Foram utilizadas seis cabras clinicamente saudáveis, mestiças das raças Saanen/Anglo-Nubiana, com coletas seriadas de sangue realizadas por até 24 horas após a administração. As concentrações plasmáticas foram quantificadas por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem (UPLC-MS/MS). A modelagem farmacocinética foi realizada no software Monolix 2024R1.

A modelagem farmacocinética realizada nas duas etapas do estudo permitiu compreender de forma mais aprofundada o comportamento das distintas formulações de cloxacilina em caprinos. Os achados representam um avanço relevante para a medicina veterinária, ao evidenciar o potencial dessas formulações para otimizar o uso de antimicrobianos de menor criticidade para a saúde humana, em conformidade com as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o enfrentamento da resistência antimicrobiana. Este estudo embasa futuras investigações voltadas à avaliação da eficácia clínica da cloxacilina, bem como à integração de índices PK/PD em animais acometidos por agentes etiológicos susceptíveis.

Palavras-chave: modelagem; beta-lactâmicos; nanotecnologia veterinária.

ABSTRACT

The search for safe and effective therapeutic alternatives has driven the development of innovative formulations for use in goats, given the scarcity of approved veterinary drugs for this species. In this context, the use of nanostructures applied to antimicrobials represents a promising strategy, with the potential to enhance bioavailability, prolong drug release, and optimize tissue distribution. In addition to formulation improvements, new approaches related to parenteral administration routes have been explored in goats.

This study was conducted in two distinct phases, aiming to characterize and compare the pharmacokinetic profiles of different benzathine cloxacillin formulations in healthy goats. In the first phase, a nanostructured formulation was evaluated following subcutaneous administration at a dose of 4 mg/kg. In the second phase, the conventional formulation was investigated following intramuscular administration at doses ranging from 2 to 20 mg/kg.

Six clinically healthy female goats, crossbred from Saanen and Anglo/Nubian breeds, were used. Serial blood samples were collected for up to 24 hours post-administration. Plasma concentrations were quantified by Ultra Performance Liquid Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS). Population pharmacokinetic modeling was performed using Monolix 2024R1 software.

The pharmacokinetic modeling conducted in both phases of the study enabled a deeper understanding of the behavior of the distinct cloxacillin formulations in goats. The findings represent a relevant advance for veterinary medicine, highlighting the potential of these formulations to optimize the use of antimicrobials with lower critical importance to human health, in accordance with the World Health Organization (WHO) guidelines for combating antimicrobial resistance. This study supports future investigations aimed at evaluating the clinical efficacy of cloxacillin and integrating PK/PD indices in animals affected by susceptible etiological agents.

Keywords: modeling; beta-lactams; veterinary nanotechnology.

INDICADORES DE IMPACTO

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil farmacocinético da cloxacilina benzatina administrada por via intramuscular e subcutânea em caprinos saudáveis, utilizando modelagem não linear de efeitos mistos (NLMEM) em duas formulações distintas. Os resultados obtidos contribuem de forma expressiva para o avanço da farmacologia veterinária aplicada a espécies menores, suprimindo uma lacuna científica e regulatória decorrente da escassez de estudos farmacocinéticos específicos para caprinos. A inexistência de dados consolidados limita o uso racional de antimicrobianos e a definição de regimes terapêuticos eficazes e seguros. O impacto científico e tecnológico do estudo reflete-se na geração de conhecimento inovador sobre os parâmetros farmacocinéticos da cloxacilina benzatina, oferecendo subsídios para o estabelecimento de doses mais seguras e eficazes e promovendo o uso responsável de antimicrobianos de menor criticidade à saúde humana. A aplicação de ferramentas modernas de modelagem e simulação farmacocinética e farmacodinâmica, como o software Monolix, e simulações de Monte Carlo, fortalece a adoção de metodologias avançadas na farmacologia veterinária, em consonância com diretrizes de agências internacionais como EMA e FDA. Essa abordagem também impulsiona o desenvolvimento de formulações inovadoras, incluindo nanoestruturas aplicadas à medicina veterinária, ampliando as oportunidades de inovação e transferência tecnológica para a indústria farmacêutica veterinária. O impacto social e econômico é demonstrado pelo potencial de aplicação dos resultados na caprinocultura nacional, especialmente em rebanhos leiteiros e de corte. O uso otimizado da cloxacilina pode reduzir falhas terapêuticas, elevar índices produtivos e favorecer a sustentabilidade dos sistemas de produção, beneficiando diretamente produtores rurais, médicos-veterinários e instituições de pesquisa. O estudo também contribui para estratégias de combate à resistência antimicrobiana, um dos principais desafios contemporâneos da saúde pública, fortalecendo o conceito de “Uma Só Saúde” (One Health) e promovendo segurança alimentar e bem-estar animal. O caráter extensionista do trabalho evidencia-se na participação integrada de docentes, discentes e técnicos da Universidade Federal de Lavras e da EMBRAPA, com uso de rebanhos regionais em experimentos e atividades de campo. Essa interação entre universidade, instituições de pesquisa e setor produtivo promove a disseminação do conhecimento científico e tecnológico, aproximando a academia das realidades do campo. O território impactado abrange as regiões de produção leiteira e caprina do Sul e Nordeste de Minas Gerais, com potencial de replicação em outros estados. Os impactos do trabalho se inserem nas áreas temáticas de Saúde, Tecnologia e Produção e Meio Ambiente, conforme a Política Nacional de Extensão Universitária, e estão alinhados aos Objetivos de

Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2, 3, 9 e 12 da ONU. Assim, os resultados, ainda que experimentais, possuem impacto potencial e concreto sobre a saúde animal, a sustentabilidade produtiva e o controle da resistência antimicrobiana, contribuindo para o fortalecimento da caprinocultura brasileira e o avanço científico e tecnológico da medicina veterinária.

IMPACT INDICATORS

The present study aimed to characterize the pharmacokinetic profile of benzathine cloxacillin administered intramuscularly and subcutaneously in healthy goats, using nonlinear mixed-effects modeling (NLMEM) in two distinct formulations. The results contribute significantly to the advancement of veterinary pharmacology applied to minor species, addressing a scientific and regulatory gap resulting from the scarcity of pharmacokinetic studies specific to goats. The absence of consolidated data limits the rational use of antimicrobials and the establishment of effective and safe therapeutic regimens. The scientific and technological impact of this research lies in the generation of innovative knowledge on the pharmacokinetic parameters of benzathine cloxacillin, providing support for establishing safer and more effective doses and promoting the responsible use of antimicrobials of lower critical importance to human health. The use of modern pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling and simulation tools, such as the Monolix software and Monte Carlo simulations, strengthens the adoption of advanced methodologies in veterinary pharmacology, in line with guidelines from international agencies such as the EMA and FDA. This approach also fosters the development of innovative formulations, including nanostructures applied to veterinary medicine, expanding opportunities for innovation and technology transfer to the veterinary pharmaceutical industry. The social and economic impact is demonstrated by the potential application of the results to the national goat industry, particularly in dairy and meat herds. Optimized use of cloxacillin can reduce therapeutic failures, improve productivity indices, and enhance the sustainability of production systems, directly benefiting rural producers, veterinarians, and research institutions. The study also contributes to strategies for combating antimicrobial resistance—one of the main contemporary public health challenges—strengthening the “One Health” concept and promoting food safety and animal welfare. The extension aspect of this work is evident in the integrated participation of professors, students, and technicians from the Federal University of Lavras (UFLA) and EMBRAPA, involving regional herds in experiments and field activities. This interaction between the university, research institutions, and the productive sector promotes the dissemination of scientific and technological knowledge, bringing academic research closer to real agricultural contexts. The impacted territory includes dairy and goat-producing regions in southern and northeastern Minas Gerais, with potential for replication in other states. The impacts of this study fall within the thematic areas of Health, Technology and Production, and Environment, according to the National University Extension Policy, and align with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) 2, 3, 9, and 12. Thus, the results, although experimental, have both potential and tangible impacts on animal health,

production sustainability, and the control of antimicrobial resistance, contributing to the strengthening of Brazilian goat farming and the scientific and technological progress of veterinary medicine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADME – Absorção, distribuição, metabolismo e excreção
- ASC – Área sob a curva
- ASC/CIM – Área sob a curva sobre a concentração inibitória mínima
- ASC24 – Área sob a curva de 24 horas
- BIC - Bayesian information criterion
- Cl – Clearance – Eliminação/depuração
- CLOXNP– Cloxacilina Benzatina Nanopartículas
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
- CLXBZ – Cloxacilina Benzatina
- C_{max} – Concentração máxima
- C_{max}/CIM – Concentração máxima sobre a concentração inibitória mínima
- Cromatografia líquida de alta performance associada a espectrometria de massas
- ECOFF – *Cut-off* (ponto de corte) epidemiológico
- EMA – European Medicines Agency
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária
- ESI - ionização por electrospray
- f- Fração do fármaco livre de proteína plasmática
- FC -Frequência cardíaca
- FDA – Food And Drug Administration
- FR- Frequência respiratória
- IFA – Insumo farmacêutico ativo
- K_a – Constante de absorção
- MUMS – Minor use and/or minor species - Uso menor e/ou espécies menores.
- NLMEM - nonlinear mixed-effects - modelo não linear de efeitos mistos
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PD – Pharmacodynamic - Farmacodinâmica
- PDT – Pharmacodynamic Target – Alvo farmacodinâmico
- PK – Pharmacokinetic – Farmacocinética
- popPK – Farmacocinética populacional
- T – Tempo

T_{1/2} – Tempo de meia vida

T máx – Tempo para atingir a concentração máxima

UFLA – Universidade Federal de Lavras

UPLC – Ultra performance liquid chromatography – Cromatografia líquida de alta performance

UPLC-MS/MS - Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

– UV-Vis – Ultravioleta-visível

V – Volume

VICH - International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products - Cooperação Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Medicinais Veterinários

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	15
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1. Importância da caprinocultura	16
2.2. Antibióticos aprovados para uso em caprinos	17
2.3. Uso menor e Espécies menores	18
2.5. Uso da cloxacilina	21
2.6. Nanopartículas no desenvolvimento de medicamentos e aplicação na medicina veterinária.....	24
2.7. Aspectos regulatórios para registro de medicamentos veterinários inovadores e nanopartículas.....	25
2.8. Modelos PK/PD para estimar a eficácia	26
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
SEGUNDA PARTE	33
ARTIGO I - ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA BENZATINA ADMINISTRADA PELA VIA INTRAMUSCULAR EM CAPRINOS SAUDÁVEIS	
ARTIGO II - ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA BENZATINA NANOESTRUTURADA ADMINISTRADA PELA VIA SUBCUTÂNEA EM CAPRINOS SAUDÁVEIS	51

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

Diante do intenso crescimento do mercado pecuário em relação ao setor de caprinos, principalmente o aumento significativo na exportação de carne e produtos lácteos no último período, a demanda por produtos farmacêuticos que atendam as necessidades de terapêutica nessa espécie possui um crescimento proporcional (Brasil, 2024; Magalhães *et al.* 2024). Considerando um levantamento quantitativo realizado por meio de ferramentas que permitem a consulta detalhada de produtos veterinários autorizados — como a *Union Product Database: Veterinary Medicinal Products*, da União Europeia, e o Painel de *Business Intelligence* da plataforma oficial do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) — (EMA, 2025; BRASIL, 2025), observa-se uma escassez de produtos farmacêuticos aprovados nos principais organismos regulatórios, em âmbito mundial, para a espécie caprina. Essa limitação é particularmente evidente no caso dos antimicrobianos, o que tem contribuído para a normalização do uso extra bula nesses animais (USDA, 2021).

O uso *off-label*, embora muitas vezes necessário para suprir a falta de opções específicas, está associado a riscos, incluindo o aumento da resistência antimicrobiana. Uma das estratégias para otimizar o uso de antibióticos em produtos veterinários é o desenvolvimento de projetos conhecidos como "Uso menor em espécies maiores". Essa abordagem consiste em adaptar produtos já registrados para espécies de maior relevância econômica em espécies como bovinos e suínos, para permitir seu uso seguro e eficaz em espécies de criação menos representadas nos registros regulatórios, como os caprinos. Tais iniciativas visam ampliar as opções terapêuticas legalmente autorizadas, especialmente no tratamento de enfermidades infecciosas, reduzindo a dependência do uso *off label* e promovendo o uso racional de antimicrobianos (CAMEVET, 2021).

No caso dos caprinos, a cloxacilina se apresenta como uma opção preferencial devido à sua importância crítica reduzida na medicina humana, conforme orientado pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024). Além disso, sua eficácia contra patógenos comumente associados à mastite caprina faz desse fármaco uma alternativa segura e eficiente (Leite *et al.*, 2020). Seu uso contribui para a preservação da eficácia de antibióticos de alta prioridade destinados à saúde humana.

No âmbito geral de medicamentos veterinários, a nanotecnologia é uma tecnologia de rápido crescimento que desempenha um impacto importante em vários campos de aplicações terapêuticas. Dentre os diversos nano sistemas existentes o sistema de nanopartículas para administração de antibióticos é considerado excelente sistema de administração alternativo para antimicrobianos para o tratamento de doenças microbianas, aumentando o efeito terapêutico e superando os efeitos colaterais (Youssef *et al.*, 2019).

Embora essa abordagem ainda seja pouco explorada na medicina veterinária, estudos conduzidos em bovinos e ovinos com mastite demonstraram que as nanopartículas de cloxacilina (CLXNPs) podem constituir uma alternativa promissora para o tratamento local de infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* (Araújo *et al.*, 2019; Zafalon *et al.*, 2018).

Diante da escassez de literatura acerca da farmacocinética de cloxacilina, ressalta-se a necessidade de estabelecer esses parâmetros em caprinos, considerando os comportamentos distintos entre formulações convencionais, nanopartículas e diferentes vias de administração, sendo estas uma das etapas cruciais para permitir uma melhor utilização deste fármaco.

Nesse contexto, os modelos farmacocinéticos e farmacodinâmicos são amplamente reconhecidos como ferramentas essenciais para a definição e otimização de regimes de doses. Sua aplicação é recomendada pela Agência Europeia de Medicamentos como uma abordagem robusta para a reavaliação e o ajuste das doses terapêuticas previamente estabelecidas (EMA, 2016a; EMA, 2016b). Os parâmetros farmacocinéticos necessários para esses modelos podem ser obtidos tanto de animais saudáveis quanto de animais infectados pelo patógeno em estudo. Isso possibilita uma análise mais abrangente da interação fármaco-organismo, permitindo a definição de protocolos terapêuticos baseados em dados científicos sólidos, que atendam às demandas terapêuticas e minimizem os riscos de resistência antimicrobiana.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é estabelecer o comportamento farmacocinético de uma formulação convencional de cloxacilina benzatina (CLXBZ) administrada pela via intramuscular e o comportamento da cloxacilina nanoestruturada administrada pela via subcutânea em caprinos saudáveis.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Importância da caprinocultura

A caprinocultura tem se destacado como uma atividade agropecuária de relevância tanto na América do Sul quanto no cenário global. No Brasil, dados recentes indicam que o rebanho

caprino foi estimado em 12,89 milhões de cabeças em 2023, representando um aumento de 4% em relação ao ano anterior. Esse crescimento foi impulsionado principalmente pela região Nordeste, que concentra aproximadamente 96% do rebanho nacional, totalizando 12,37 milhões de cabeças (Magalhães *et al.*, 2024).

Em âmbito global, a produção de carne e leite de cabra tem apresentado tendências de crescimento. Embora os dados específicos de 2023 ainda sejam limitados, análises anteriores apontam para uma expansão na produção de leite de cabra, com a Ásia sendo o continente de maior destaque, seguida pela África e Europa (EMBRAPA, 2025).

Essa expansão reflete a crescente demanda por produtos caprinos, impulsionada por fatores culturais, nutricionais e econômicos.

Na América do Sul, além do Brasil, países como Argentina, Chile e Peru têm investido no fortalecimento da caprinocultura, reconhecendo seu potencial para diversificação econômica e segurança alimentar (BRASIL, 2023). A adaptação dos caprinos a diferentes condições ambientais torna a atividade viável em diversas regiões, contribuindo para a sustentabilidade e desenvolvimento rural (Villarreal-Ornelas *et al.*, 2022).

Em resumo, a caprinocultura apresenta-se como uma atividade em ascensão, com perspectivas promissoras tanto na América do Sul quanto no cenário mundial. O fortalecimento dessa cadeia produtiva requer investimentos em pesquisa, assistência técnica e políticas públicas que promovam a organização e competitividade do setor, atendendo às demandas de mercado e contribuindo para o desenvolvimento socioeconômico das regiões envolvidas (Villarreal-Ornelas *et al.*, 2022).

2.2. Antibióticos aprovados para uso em caprinos

A crescente necessidade de alternativas de tratamento para infecções bacterianas em caprinos está diretamente relacionada à urgência de utilizar antimicrobianos que, embora não sejam de uso prioritário na saúde humana, já estejam registrados na medicina veterinária. Essa necessidade é ainda mais evidente quando se observa a prática de uso *off-label*, em que medicamentos, como os antibióticos já aprovados para ruminantes, são empregados para tratar outras espécies ou administrados em doses ou vias não autorizadas. No manejo de caprinos, por exemplo, a utilização de antibióticos sistêmicos fora das recomendações oficiais é relativamente frequente, com 43% das prescrições para caprinos sendo para medicamentos veterinários sem indicação específica para a espécie (EMA, 2018). Essa situação exige maior vigilância e a adoção de práticas adequadas, para garantir a eficácia terapêutica e minimizar riscos à saúde dos animais, ao mesmo tempo que se preserva a segurança dos fármacos para

uso veterinário. Atualmente, no Brasil existem cerca de dez produtos de uso veterinário na classe dos antimicrobianos, devidamente registrados com indicação de uso na espécie caprina.

De acordo com o banco de dados disponível no Painel Business Intelligence – Produtos de Uso Veterinário do Ministério da Agricultura e Pecuária, (Acesso em janeiro de 2025), os principais IFA's dos antimicrobianos para uso em caprinos, comercializados atualmente estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Classes dos antimicrobianos registrados para caprinos no Brasil (2025)

	Penicilinas(Beta-lactâmicos)	Aminoglicosídeos	Polimixinas	Sulfonamidas	Macrolídeos
Insumo farmacêutico ativo	Amoxicilina (Tri-hidratada)	Dihidroestreptomicina (Base)	Colistina (Sulfato)	Ftalilsulfatiazol	Tilosina
	Ampicilina Anidra	Diidroestreptomicona (Sulfato)		Sulfadiazina	
	Ampicilina Sódica	Estreptomicina (Base)		Sulfamerazina	
	Benzilpenicilina Benzatina	Neomicina (Sulfato)			
	Benzilpenicilina Potássica				
	Benzilpenicilina Procaína				
	Penicilina G Benzatina com Lecitina				
	Penicilina G Potássica				
	Penicilina G Procaína com Lecitina				
	Cloxacilina Sódica				

Observa-se uma limitação na quantidade de produtos disponíveis para comercialização conforme indicado na tabela 1, em especial a ausência de produtos que contenham a cloxacilina para administração via intramuscular.

2.3. Uso menor e Espécies menores

As agências regulatórias, como a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e a Agência Europeia de Medicamentos (EMA), reconhecem a necessidade de disponibilizar medicamentos para espécies animais menos comuns ou para condições raras em espécies principais. Para isso, estabeleceram diretrizes específicas que facilitam o desenvolvimento e a aprovação de medicamentos nesses contextos.

O FDA define espécies menores como todas aquelas que não se enquadram nas sete espécies principais: bovinos, equinos, suínos, cães, gatos, frangos e perus. Isso inclui animais como ovelhas, cabras, peixes ornamentais, abelhas e répteis. Para atender às necessidades

terapêuticas dessas espécies, o FDA implementou a Lei de Medicamentos para Uso Menor/Espécies Menores (MUMS), que facilita a aprovação de medicamentos destinados a essas populações. Essa lei permite, por exemplo, a aprovação condicional de medicamentos antes da obtenção de todos os dados de eficácia, desde que a segurança seja comprovada e haja uma expectativa razoável de eficácia (FDA, 2018).

A EMA adota uma abordagem semelhante, considerando espécies menores aquelas que não são amplamente consumidas ou utilizadas na União Europeia. A agência oferece incentivos, como assistência científica e reduções de taxas, para o desenvolvimento de medicamentos destinados a essas espécies, visando aumentar a disponibilidade de tratamentos veterinários adequados (EMA, 2019a).

O termo "uso menor" refere-se à aplicação de medicamentos em espécies principais para tratar condições que ocorrem infreqüentemente ou em áreas geográficas limitadas, afetando um pequeno número de animais anualmente. Por exemplo, uma doença rara em bovinos ou uma condição específica em cães que não é comum. O FDA define critérios específicos para determinar o que constitui um uso menor, estabelecendo números anuais máximos para cada espécie principal (FDA, 2018).

A EMA também reconhece a importância de disponibilizar medicamentos para usos menores em espécies principais, como a ampliação da utilização de fármacos já registrados (EMA, 2019b).

2.4. Doenças bacterianas de importância na caprinocultura

As doenças causadas por bactérias gram-positivas em cabras na América do Sul, são de grande importância devido ao impacto econômico na produção de leite, carne e couro, além de gerar custos consideráveis com manejo e tratamento. Entre as principais doenças, destaca-se a mastite, causada por *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.*, que afeta rebanhos leiteiros, reduzindo significativamente a produção de leite e gerando perdas com o descarte de leite contaminado, sendo particularmente prevalente no Brasil e na Argentina (Radostits *et al.*, 2021; Silva, 2012).

Outra doença de grande relevância é a linfadenite caseosa, causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que compromete a qualidade da carne e do couro devido à formação de abscessos. Essa doença endêmica em várias regiões sul-americanas também dificulta a exportação de produtos caprinos, gerando prejuízos significativos para os produtores (Almeida *et al.*, 2017). Já a enterotoxemia, causada por *Clostridium perfringens* (tipos C e D), é uma das principais causas de mortalidade em cabritos jovens, especialmente em rebanhos leiteiros submetidos a sistemas de produção intensiva, onde

mudanças bruscas na dieta favorecem a proliferação bacteriana (Uzal et al., 1998; EMBRAPA, 2019).

Doenças respiratórias, como a pneumonia, causada por *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus aureus*, também geram perdas econômicas significativas ao comprometer o desempenho produtivo dos animais. Essa condição é exacerbada em regiões com condições climáticas adversas, como os Andes, e em sistemas de manejo inadequados (Roussel et al., 2016). Outra condição relevante é a pododermatite, causada por *Trueperella pyogenes* (em associação com *Fusobacterium necrophorum*), que reduz a capacidade de locomoção das cabras, afetando diretamente o consumo alimentar e a produtividade, sendo comum em áreas úmidas mal manejadas, como no Brasil e na Colômbia (Quinn et al., 2002; Koneman et al., 2008).

Por fim, a septicemia neonatal, causada por *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.*, é uma das principais causas de mortalidade em cabritos recém-nascidos. Essa condição resulta de falhas no manejo e na higiene durante o parto, comprometendo a renovação do rebanho e a expansão da produção caprina na América do Sul (Radostits et al., 2021; EMBRAPA, 2019). Essas doenças destacam a necessidade de estratégias integradas de manejo sanitário para minimizar os prejuízos causados por bactérias gram-positivas nos sistemas de produção caprina.

A Tabela 2 apresenta os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) para os principais patógenos mencionados anteriormente frente à cloxacilina. Alguns desses valores foram obtidos do banco de dados do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), uma organização que estabelece padrões e diretrizes para testes de suscetibilidade antimicrobiana na Europa, contribuindo para a vigilância e controle da resistência microbiana (EUCAST, 2025). Destaca-se a ausência de dados sobre *Clostridium perfringens* e *Trueperella pyogenes*, bem como a influência de fatores geográficos na variação da CIM, o que reforça a necessidade de mais estudos. Ademais, devido à escassez de informações para espécies caprinas, os valores foram extrapolados considerando a circulação desses patógenos entre humanos e animais (Trinh et al., 2018).

Tabela 2 – Valores de CIM para cloxacilina

Microorganismos	Valor da CIM (µg/mL)	Referência
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,03 e 1	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,125 e 2	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0,06 e 4	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i>	0,06 e 0,25	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus equisimilis</i>	0,125 e 0,5	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus suis</i>	0,25 e 2	EUCAST (2025)
<i>Streptococcus uberis</i>	0,03 e 4	EUCAST (2025)
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2 a 32	Felix L. A. (2022)
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	0,1 e 3,1	K. F. Lechtenberg (1998)

Fonte: Da autora (2025)

Um aspecto relevante que observamos em relação à possível utilização da cloxacilina para determinadas patologias na espécie caprina é a importância do conhecimento da CIM desses patógenos. Esse conhecimento se correlaciona com estratégias de farmacotécnica para a definição da via de administração desses insumos durante o desenvolvimento de produtos antimicrobianos. A CIM dos patógenos auxilia na formulação do medicamento e na escolha da via de administração. Dependendo dos diversos fatores relacionados às patologias, quando a CIM é elevada, a administração local pode proporcionar concentrações mais altas no sítio da infecção, como por exemplo nas administrações pela via intramamária no tratamento de mastite. Essa abordagem tem se mostrado eficaz no tratamento de infecções osteoarticulares, onde tecnologias de liberação controlada demonstram benefícios (Henriksen *et al.*, 2024).

Em equinos, a administração intra-articular de antibióticos é uma estratégia eficiente para o tratamento de infecções articulares (Pezzanite *et al.*, 2022). Já os tratamentos sistêmicos, como a administração intravenosa, intramuscular, oral ou subcutânea, são indicados para infecções que exigem ampla distribuição do medicamento pelo organismo (BRASIL, 2025b).

Entretanto, quando há necessidade de uma abordagem mais abrangente, a via sistêmica da cloxacilina pode ser considerada, desde que os níveis terapêuticos adequados sejam atingidos nos tecidos afetados.

2.5. Uso da cloxacilina

Os beta-lactâmicos são antibióticos que possuem como característica comum o anel beta-lactâmico em sua estrutura. Esse anel é responsável por seu mecanismo de ação, que envolve a inibição da síntese da parede celular bacteriana, pela baixa toxicidade, já que

atuam em estruturas exclusivas das bactérias, e pelo principal mecanismo de resistência, relacionado à produção de betalactamases. Essa classe abrange penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos (Suárez; Gudíol, 2009).

As penicilinas são os principais representantes dessa classe, sendo muito utilizadas na medicina veterinária. As penicilinas são apresentadas associadas a sais, a penicilina sódica apresenta meia-vida curta, de cerca de 30 minutos, exigindo múltiplas administrações para manter níveis séricos adequados. Para contornar essa limitação, foram desenvolvidas as penicilinas associadas à procaína e à benzatina, ambas administradas por via intramuscular e conhecidas como penicilinas de depósito ou liberação prolongada. Embora compartilhem o mesmo princípio ativo e, conseqüentemente, a mesma atividade farmacológica, suas farmacocinéticas variam devido à solubilidade diferenciada dos sais administrados (Pedroso *et al.*, 2001).

Devido à resistência microbiana às penicilinas, desenvolveu-se a cloxacilina, uma penicilina semi-sintética do grupo das isoxazolilpenicilinas, com excelente eficácia contra *Staphylococcus spp.* produtores de penicilinases (Kaleshwari *et al.*, 2019). Assim como as penicilinas, a cloxacilina também pode ser apresentada associada a sais (cloxacilina sódica e benzatina) (Pedroso *et al.*, 2001).

A cloxacilina está presente no mercado brasileiro exclusivamente para administração via intramamária, em forma farmacêutica de pomada, suspensão ou emulsão, para o tratamento de mastite caprina e bovina. Seu uso parenteral é mais conhecido na medicina humana, no qual é utilizado para o tratamento de infecções ósseas e articulares (Courjon *et al.*, 2020) e pacientes em estado crítico (Bru e Garrafo, 2012). Por outro lado, na medicina veterinária, poucos são os estudos farmacocinéticos de cloxacilina parenteral. Inclusive, esta forma farmacêutica injetável não está disponível no Brasil, nem na medicina veterinária nem na medicina humana. Na tabela 3 a seguir, adaptada de Félix (2022) apresentam os artigos publicados na literatura com estudos farmacocinéticos de cloxacilina na medicina veterinária.

Tabela 3 – Estudos de farmacocinética da cloxacilina na medicina veterinária

Espécie	Base farmacológica	Via de administração	Autor	Ano de publicação
Felino	CLOX sódica	Intravenosa e Intramuscular	Dimitrova, D. J.	1997
Suíno	CLOX sódica	Intravenosa e Intramuscular	Dimitrova et al.	1997
Canina	CLOX sódica	Intravenosa	Dimitrova, D. J.	2001
Cabra	CLOX sódica	Intravenosa	Khargharia et al.	2013
Bovino	CLOX benzatina	Intramamária	Kietzmann et al.	2010
Bovino	CLOX sódica	Intramamária	Burmańczuk et al.	2017
Bovino	CLOX benzatina	Intramamária	Grabowski et al.	2018
Bovino	CLOX + <i>Aloe vera</i>	Intramamária	Forno-Bell et al.	2021
Ovina	CLOX sódica – amoxicilina	Intravenosa e Intramuscular	Kaleshwari et al.	2019
Ovina	CLOX sódica	Intravenosa e Intramuscular	Dimitrova et al.	2001
Equino	CLOX-ampicilina	Intravenosa	Kondampati et al.	2022

Legenda: CLOX – Cloxacilina

Fonte: Félix (2022)

Devido à cloxacilina ser um antibiótico de uso menos crítico na medicina humana (OMS, 2018), seu uso pode ser mais explorado na medicina veterinária, expandindo sua aplicação intramamária para parenteral. Perante isso, nossa equipe tem realizado estudos farmacocinéticos/farmacodinâmicos preliminares de cloxacilina benzatina intramuscular.

Nossa equipe tem realizado estudos preliminares para avaliar a eficácia da cloxacilina frente a *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. Até o presente momento, foram realizados estudos microbiológicos que determinaram a distribuição de CIM para 35 cepas, o ECOFF e a realização morte bacteriana. A partir da curva de morte bacteriana, foi realizada uma modelagem PK/PD para determinação do índice PK/PD e seu alvo farmacocinético que melhor descrevessem a relação da cloxacilina com a *C. pseudotuberculosis*. De acordo com dados de nossa equipe ainda não publicados, os resultados desse estudo microbiológico resultaram em uma distribuição de CIM de 2 a 16 ug/mL, um ECOFF de 16 ug/mL e índices PK/PD e PDT de %T>CIM ($20.85 \pm 3.02h$) e AUC/MIC (43.34 ± 12.04).

Os estudos microbiológicos são essenciais para o processo de determinação/otimização de regimes de doses, visto que são a etapa farmacodinâmica. Estes fornecem informações importantes a respeito do agente infeccioso e sua relação com o

antibiótico. A partir do conhecimento da farmacocinética do fármaco e a integração com os dados farmacodinâmicos é possível estabelecer protocolos terapêuticos de forma mais racional. Perante isso, torna-se necessário o conhecimento da farmacocinética de cloxacilina via intramuscular nos caprinos.

2.6. Nanopartículas no desenvolvimento de medicamentos e aplicação na medicina veterinária

A nanotecnologia é um campo que vem se desenvolvendo rapidamente nos últimos anos na medicina veterinária. As nanopartículas apresentam propriedades físico-químicas superiores aos materiais convencionais, como alta razão superfície-volume, maior reatividade, estabilidade e biodisponibilidade, além de permitirem liberação e direcionamento controlados de fármacos. Sua capacidade de atravessar barreiras celulares e atingir tecidos-alvo de forma eficiente as torna promissoras para superar limitações como baixa bioacessibilidade e alta toxicidade observadas em formulações tradicionais. Os medicamentos podem ser incorporados ao interior das nanopartículas ou acoplados à sua superfície (Youssef *et al.*, 2019).

As aplicações de nanotecnologia no âmbito da terapêutica veterinária são amplamente relatadas em formulações farmacêuticas experimentais, em antimicrobianos, nanovacinas, nanoadjuvantes. Diante da capacidade que as nanopartículas possuem em influenciar em características farmacocinéticas de um medicamento, suas vantagens estão correlacionadas com a capacidade de reduzir efeitos de toxicidade, redução de doses e intervalos de administração e conseqüentemente podem afetar na quantidade de resíduos de alguns medicamentos em matrizes comestíveis de produtos de origem animal (Underwood *et al* 2012; Youssef *et al.*, 2019). Contudo, ainda existem desafios relacionados à toxicidade potencial de alguns nanomateriais, à reprodutibilidade entre lotes, à estabilidade físico-química durante o armazenamento e à dificuldade de escalonamento industrial sem perda de qualidade. Questões regulatórias e de segurança ambiental também permanecem como barreiras à ampla aplicação dessas tecnologias na medicina veterinária moderna (Carvalho *et al.*, 2020).

Atualmente tem se conhecimento apenas de um produto devidamente registrado e comercializado no México, indicado para cães sendo uma suspensão antiviral e imunomoduladora para o tratamento de cinomose, neurológica e não neurológica, denominado TEMPERNAG (Laboratório Bionag) contendo nanopartículas de prata em sua formulação. Alguns estudos estão sendo conduzidos com formulações experimentais para

avaliação da eficácia de nanopartículas de antimicrobianos. Um exemplo é a cloxacilina em nanopartículas apresentou resultados promissores no tratamento de mastite bovina por *Staphylococcus aureus* e ceratoconjuntivite bovina por *Moraxella bovis*, com maior penetração celular, melhor adesão às mucosas e redução na frequência de aplicações (Fonseca *et al.*, 2020)

2.7. Aspectos regulatórios para registro de medicamentos veterinários inovadores e nanopartículas.

A crescente demanda por terapias mais eficazes e seguras na medicina veterinária tem impulsionado o desenvolvimento de formulações inovadoras, novas vias de administrações e produtos que contenham nanotecnologia. Nesse contexto, a Portaria nº 72, de 2 de junho de 2017, publicada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), estabelece quesitos de análises prioritárias que estabelecem critérios diferenciados para o registro de medicamentos inovadores, reconhecendo a necessidade de maior flexibilidade e celeridade na análise de tecnologias que tragam avanços significativos à saúde animal (BRASIL, 2023).

Entre os tipos de inovação contemplados, destacam-se as novas associações de princípios ativos, vias de administração ainda não relatadas em determinadas espécies a exemplo da cloxacilina benzatina via intramuscular, sistemas de liberação modificada e, de forma particularmente relevante, as tecnologias baseadas em nanopartículas.

Diante desses rápidos avanços, há uma lacuna de regulamentações para estes produtos, no entanto outros órgãos regulatórios internacionais como a Agência de Medicina Europeia (EMA) e o Food and Drug Administration, vem trabalhando em normativas regulatórias para uso de nanomateriais em medicamentos humanos e veterinários. (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2025).

Em 2022, o FDA emitiu um documento orientativo denominado “Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials - Guidance for Industry”, esse guia aborda requisitos de controle de qualidade para produtos que contenham nanomateriais na forma farmacêutica final, como princípio ativo, excipiente ou sistema de liberação.

Tabela 4 – Relação de requisitos regulatórios para insumos farmacêuticos nanotecnológicos - FDA (2022)

Relação de requisitos regulatórios para insumos farmacêuticos nanotecnológicos - FDA (2022)	
Categoria	Pontos avaliados
Abordagem baseada em Risco	Avaliação da complexidade estrutural, estabilidade, rota de administração e impacto de alterações no processo produtivo.
Requisitos de qualidade	Descrição detalhada da estrutura e função dos nanomateriais: tamanho, carga, morfologia, composição, etc.
	Identificação dos atributos críticos da qualidade (CQAs), como PSD, estabilidade, superfície, porosidade, entre outros. Uso de métodos analíticos complementares, validação rigorosa e controle do preparo da amostra.
Desenvolvimento Pré-Clínico	Avaliar biodistribuição, metabolismo, persistência, toxicidade por via de administração. Pode exigir teste do nanomaterial isolado.
Desenvolvimento clínico	Equivalência em PK pode não ser suficiente. Podem ser exigidos estudos de biodistribuição, PD e eficácia clínica.
Estabilidade	Estudos de estabilidade devem incluir agregação, fuga de fármaco, mudança de carga ou interação com recipiente/diluyente.
Excipientes nanométricos	Excipientes em escala nano devem ter funcionalidade, pureza e segurança bem justificadas. Mudanças exigem reavaliação.

Fonte: Da autora (2025)

2.8. Modelos PKPD para estimar a eficácia

O uso de modelos no desenvolvimento de medicamentos tem sido amplamente adotado por empresas farmacêuticas, agências reguladoras e instituições acadêmicas como uma estratégia consolidada para impulsionar a inovação na pesquisa farmacêutica. Essa metodologia fundamenta-se na quantificação de riscos e na integração sistemática de dados provenientes de múltiplas fontes ao longo do processo de desenvolvimento, oferecendo uma abordagem robusta e preditiva para otimizar a eficácia e a segurança de novos fármacos (Ahmad *et al.*, 2016). A modelagem e simulação PK/PD são amplamente aceitas para fins regulatórios no registro de medicamentos veterinários em diversos países. Na União Europeia, a EMA reconhece sua importância para justificar doses e regimes terapêuticos (EMA/CVMP/627/2001-Rev.1). Nos Estados Unidos, a FDA adota a abordagem na avaliação de antimicrobianos conforme estabelecido em “*Guidance for Industry #152*”. Países como Canadá, Austrália, Nova Zelândia, Japão, China e Brasil também aceitam a modelagem PK/PD como suporte regulatório, em alinhamento com diretrizes internacionais

orientadas por *International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products* (VICH), nas diretrizes GL36 e GL48.

A utilização de softwares para determinar a farmacocinética de novos produtos farmacêuticos de uso veterinários ou fármacos com potencial redirecionamento, por exemplo para indicações em novas vias de administração, a partir de ensaios *in vivo* são cruciais no processo inicial dos estudos clínicos. Na medicina veterinária, a mudança de vias de administração é particularmente relevante para adaptar medicamentos às necessidades de diferentes espécies animais (Felix *et al.*, 2024). Essa prática permite contornar limitações fisiológicas específicas e facilita o manejo em campo (Usman *et al.*, 2023). A pesquisa sobre estudo de PK é altamente estabelecida, e muitos programas de software estão disponíveis para a determinação de parâmetros farmacocinéticos, como volume de distribuição do medicamento, depuração e área sob a curva de concentração-tempo e simulações de dosagem.

O modelo farmacocinético/farmacodinâmico (PK/PD) desempenha um papel crucial na avaliação da eficácia de medicamentos antimicrobianos na medicina veterinária. Ele permite estabelecer uma relação entre a concentração do fármaco no organismo do animal (PK) e seu efeito sobre o microrganismo-alvo (PD). Por meio desse modelo, é possível determinar doses ideais e intervalos de administração que maximizem a eficácia terapêutica, enquanto minimizam a seleção de bactérias resistentes (EMA, 2016). Assim, o PK/PD é utilizado tanto para justificar a dose proposta em estudos clínicos quanto para apoiar a otimização de esquemas terapêuticos em diferentes espécies animais, especialmente em casos de infecções bacterianas desafiadoras (EMA, 2016; Félix *et al.*, 2023).

A Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products da EMA (2016) estabelece a utilização da integração PK/PD para determinação de regimes de dose com melhor potencial de eficácia terapêutica. Para tal, se faz necessário alguns embasamentos e dados como: conhecimento de aspectos microbiológicos que darão suporte para relação exposição e efeito antimicrobiano; dados de farmacocinética da população alvo advindos de estudos clínicos *in vivo*, e determinação do índice PK/PD.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modelos farmacocinéticos/farmacodinâmicos (PK/PD) representam uma ferramenta indispensável para a otimização de terapias antimicrobianas em caprinos, fornecendo uma abordagem científica robusta para a determinação de doses e regimes

terapêuticos. Esses modelos possibilitam correlacionar a concentração do fármaco no organismo com sua eficácia sobre patógenos-alvo, permitindo o ajuste preciso de protocolos terapêuticos que maximizem a eficácia e reduzam os riscos de resistência antimicrobiana.

A aplicação da cloxacilina benzatina pela via intramuscular e subcutânea, reforça a importância dos modelos PK/PD para justificar o redirecionamento de fármacos e ampliar sua aplicação em espécies menores, como os caprinos. A integração de dados farmacocinéticos provenientes de estudos *in vivo* com parâmetros microbiológicos, como $T > MIC$, constitui uma base sólida para atender às exigências regulatórias e garantir a segurança e a eficácia dos tratamentos.

Assim, não apenas contribuem para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas na caprinocultura, mas também destacam o papel central da modelagem PK/PD como padrão científico e regulatório no avanço da medicina veterinária.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Painel de Limite Máximo de Resíduos para produtos de origem animal**. 2025. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiOTg4Nzk2ZTItNjE5Yy00MDRhLWFkOGMtMjdiMGY5NWE4NjVjIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWVmZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>. Acesso em: 15 out. 2025.
- ARAÚJO, R. S.; GARCIA, G. M.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; OLIVEIRA, L. A. M.; KANO, E. K.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P. E.; BRANDÃO, H. M.; MOSQUEIRA, V. C. F. **Cloxacillin benzathine-loaded polymeric nanocapsules: Physicochemical characterization, cell uptake, and intramammary antimicrobial effect**. *Materials Science and Engineering C*, v. 104, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110006>
- BAIRD, G. J.; MALONE, F. E. **Control of caseous lymphadenitis in six sheep flocks using clinical examination and regular ELISA testing**. *Veterinary Record*, v. 166, n. 12, p. 358–362, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1136/VR.B4806>
- BLANCHARD, P. C.; FISER, K. M. **Streptococcus dysgalactiae polyarthritis in dairy goats**. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 5, p. 739–741, 1994. DOI: <https://doi.org/10.2460/JAVMA.1994.205.05.739>
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Abertura de mercado no Catar para exportação de carne de caprinos e de ovinos**. Brasília, 17 out. 2024. Atualizado em 16 abr. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/abertura-de-mercado-no-catar-para-exportacao-de-carne-de-caprinos-e-de-ovinos>. Acesso em: 15 out. 2025.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Painel de Indicadores de Produtos Farmacêuticos**. 2025. Disponível em:

indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Produtos_Farmacuticos/Produtos_Farmacuticos.html. Acesso em: 15 out. 2025.

BUCKLEY, M. P.; HAYMAN, K. P.; BURNS, L.; SCHRUNK, D.; GORDEN, P. J. **Pharmacokinetics of long-acting cephapirin and cloxacillin after intramammary administration in dairy goats.** *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 47, n. 5, p. 396–402, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/JVP.13445>

CARVALHO, S. G.; ARAUJO, V. H. S.; SANTOS, A. M.; DUARTE, J. L.; SILVESTRE, A. L. P.; FONSECA-SANTOS, B.; VILLANOVA, J. C. O.; GREMIÃO, M. P. D.; CHORILLI, M. **Advances and challenges in nanocarriers and nanomedicines for veterinary application.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 580, p. 119214, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119214>

CRAIG, W. A. **Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β -lactams, glycopeptides, and linezolid.** *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 17, n. 3, p. 479–501, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(03\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(03)00065-5)

DE ALMEIDA, J. V. F. C. et al. **In vitro infection model in primary macrophages and in vivo evaluation of benzathine cloxacillin nanoparticles for the treatment of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats.** *Small Ruminant Research*, v. 251, 107561, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SMALLRUMRES.2025.107561>

DE ASSIS, D. N.; MOSQUEIRA, V. C. F.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; CARDOSO, V. N. **Release profiles and morphological characterization by atomic force microscopy and photon correlation spectroscopy of ^{99m}Techneium-fluconazole nanocapsules.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 349, n. 1–2, p. 152–160, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2007.08.002>

FAN, J.; DE LANNOY, I. A. M. Pharmacokinetics. *Biochemical Pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 93–120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2013.09.007>

FÉLIX, L. A. et al. **PK/PD integration for intramuscular dose determination of intramuscular sodium cloxacillin for infections caused by *Staphylococcus* spp in goat.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 75, n. 6, p. 1087–1096, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12944>

FÉLIX, L. A.; EGITO, B. M.; SUÁREZ, G.; FERRANTE, M. **Optimization of antibiotic dosing regime through pharmacokinetics/pharmacodynamics integration: a review.** *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 35, n. 3, p. 25975, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v35i3.25975>

FONSECA, M. D. M. et al. **Cloxacillin nanostructured formulation for the treatment of bovine keratoconjunctivitis.** *Veterinary and Animal Science*, v. 9, 100089, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.VAS.2020.100089>

KIETZMANN, M.; NIEDORF, F.; GOSSELLIN, J. **Tissue distribution of cloxacillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder.** *BMC Veterinary Research*, v. 6, p. 46, 2010. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/46>. Acesso em: 15 out. 2025.

KONDAMPATI, K. D. et al. **Pharmacokinetic-pharmacodynamic study of ampicillin-cloxacillin combination in Indian thoroughbred horses (*Equus caballus*) and safety evaluation of the computed dosage regimen.** *SSRN Electronic Journal*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2139/SSRN.4076942>

LACOMA, A. et al. **Novel intracellular antibiotic delivery system against *Staphylococcus aureus*: Cloxacillin-loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) acid nanoparticles.** *Nanomedicine*, v. 15, n. 12, p. 1189–1203, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2217/NNM-2019-0371>

LAVIELLE, M.; RIBBA, B. **Enhanced method for diagnosing pharmacometric models: Random sampling from conditional distributions.** *Pharmaceutical Research*, v. 33, n. 12, p. 2979–2988, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11095-016-2020-3>

LEID, J. G. et al. **In vitro antimicrobial studies of silver carbene complexes: activity of free and nanoparticle carbene formulations against clinical isolates of pathogenic bacteria.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 67, n. 1, p. 138–148, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/JAC/DKR408>

LEITE, J. A. B.; ARAÚJO, R. M. P.; PEIXOTO, R. M.; NOGUEIRA, D. M.; COSTA, M. M. **Efficacy of three methods used to control staphylococcal mastitis in dairy goats.** *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 41, n. 6, p. 2825–2832, 2020. DOI: 10.5433/1679-0359.2020v41n6p2825

MAGALHÃES, K. A.; LUCENA, C. C.; FILHO, Z. F. H.; MARTINS, E. C. **Boletim nº 24 – Pesquisa da Pecuária Municipal 2023: rebanhos de caprinos e ovinos.** 2024. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355090/35052914/Boletim_N%C2%BA24_PPM+2023.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

MAURICIO, A.; FONSECA, T. **Desenvolvimento e validação de método analítico por espectrometria de massas para quantificação de cloxacilina nanoencapsulada em plasma bovino.** Ouro Preto, 2018. Disponível em: www.sisbin.ufop.br. Acesso em: 15 out. 2025.

MEDICINES AGENCY, EUROPEAN. **Guideline on the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species.** 2023. Disponível em: www.ema.europa.eu/contact. Acesso em: 15 out. 2025.

MI, K. et al. **Application of semi-mechanistic pharmacokinetic and pharmacodynamic model in antimicrobial resistance.** *Pharmaceutics*, v. 14, n. 2, p. 246, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14020246>

MINOZZI, G. et al. **First insights in the genetics of caseous lymphadenitis in goats.** *Italian Journal of Animal Science*, v. 16, n. 1, p. 31–38, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1250610>

MOULD, D. R.; UPTON, R. N. **Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—Part 2: Introduction to pharmacokinetic modeling methods.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 2, n. 4, e38, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/PSP.2013.14>

NGUYEN, T. H. T. et al. **Model evaluation of continuous data pharmacometric models: Metrics and graphics.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 6, n. 2, p. 87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/PSP4.12161>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana.** 6. ed. 2019. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/331531>. Acesso em: 15 out. 2025.

PEDROSO, M. C.; CUMAN, C. A. B. A.; CAPARROZ-ASSEF, S. M. **Penicillin G benzathine: characteristic of prescription and use in community pharmacy.** *ResearchGate*, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277118684_Penicilina_G_benzatina_caracteristicas_de_prescricao_e_uso_na_farmacia_comunitaria/fulltext/559de9de08ae76bed0bb4fd0/Penici%20lina-G-benzatina-caracteristicas-de-prescricao-e-uso-na-farmacia-comunitaria.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

PELGRIFT, R. Y.; FRIEDMAN, A. J. **Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 65, n. 13–14, p. 1803–1815, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2013.07.011>

RAJASHEKAR, B.; SHIVAJYOTHI, J.; REDDY, Y. N.; PUTTY, K. **Characterization of bacterial pathogens involved in pneumonia of sheep and goats.** *Indian Journal of Small Ruminants*, v. 29, n. 1, p. 89–93, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2023.00003.X>

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. D.; MONFERRER, D.; PENON, O.; RIVERA-GIL, P. **Regulatory pathways and guidelines for nanotechnology-enabled health products: A comparative review of EU and US frameworks.** *Frontiers in Medicine*, v. 12, 1544393, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMED.2025.1544393>

SAVIC, R. M.; KARLSSON, M. O. **Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: Problems and solutions.** *AAPS Journal*, v. 11, n. 3, p. 558–569, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1208/S12248-009-9133-0>

SCOTT, L. S.; SEABAUGH, M. M.; HOLT, C. T.; DAWSON, W. J. **Fuel processing catalysts based on nanoscale ceria.** *Fuel Cells Bulletin*, v. 4, n. 30, p. 7–10, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1464-2859\(01\)80039-0](https://doi.org/10.1016/S1464-2859(01)80039-0)

UNDERWOOD, C.; VAN EPS, A. W. **Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality.** *The Veterinary Journal*, v. 193, n. 1, p. 12–23, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2012.01.002>

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*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/3081422>

UZAL, F. A.; KELLY, W. R. **Experimental Clostridium perfringens type D enterotoxemia in goats.** *Veterinary Pathology*, v. 35, n. 2, p. 132–140, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098589803500207>

VEIGA, R. P.; PAIVA, J. A. **Pharmacokinetics–pharmacodynamics issues relevant for the clinical use of beta-lactam antibiotics in critically ill patients.** *Critical Care*, v. 22, n. 1, p. 233, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/S13054-018-2155-1>

VILLARREAL-ORNELAS, E. C.; NAVARRETE-MOLINA, C.; MEZA-HERRERA, C. A. et al. **Goat production and sustainability in Latin America & the Caribbean: A combined productive, socio-economic & ecological footprint approach.** *Small Ruminant Research*, v. 214, 106677, 2022. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2022.106677. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448822000669>. Acesso em: 15 out. 2025.

YOUSSEF, F. S.; EL-BANNA, H. A.; ELZORBA, H. Y.; GALAL, A. M. **Application of some nanoparticles in the field of veterinary medicine.** *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 7, n. 1, p. 78–93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1691379>

SEGUNDA PARTE

4. ARTIGO I - ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA BENZATINA ADMINISTRADA PELA VIA INTRAMUSCULAR EM CAPRINOS SAUDÁVEIS

Lillian Pereira Gouveia¹, Lucas Wamser Fonseca Gonzaga¹, Larissa Alexandra Félix¹, Bruna Christina Fernandes Soares¹, Michelle Daiane de Almeida Loures², Patrícia Yoshida Faccioli-Martins, Humberto de Mello Brandão², Marcos Ferrante¹.

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Lavras – Minas Gerais, Brazil.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – Minas Gerais, Brazil.

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – Ceará, Brazil.

RESUMO

A crescente relevância da caprinocultura tem acentuado a necessidade de alternativas terapêuticas específicas para a espécie. Este estudo teve como objetivo caracterizar a farmacocinética da cloxacilina benzatina administrada via intramuscular em caprinos saudáveis, utilizando modelagem não linear de efeitos mistos (NLMEM). Foram utilizadas seis cabras saudáveis mestiças Saanen/Anglo-Nubiana. A formulação de Cloxacilina Benzatina foi administrada em doses entre 2 e 20mg/kg, com coletas seriadas de sangue em intervalos de até 24 horas para análise plasmática por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem (UPLC-MS/MS). O modelo farmacocinético (PK) foi construído usando o software Monolix 2024R1®. O modelo farmacocinético mais adequado apresentou dois compartimentos com absorção de primeira ordem, eliminação linear e correlação entre os parâmetros de absorção e distribuição. Os resultados indicaram variabilidade interindividual significativa, com *clearance* aparente de 1.58 L/h/Kg. Concentrações plasmáticas máximas foram alcançadas em média em 1,06 horas. Os achados reforçam a importância da aplicação dos modelos computacionais para determinação da farmacocinética de cloxacilina benzatina, fornecendo subsídios para regimes de dosagem mais eficazes e seguros, além de contribuir para estratégias alinhadas ao uso racional de antimicrobianos.

Palavras-chave: antibioticoterapia, farmacometria, penicilinas, resistência bacteriana.

ABSTRACT

The growing relevance of goat farming has highlighted the need for species-specific therapeutic alternatives. This study aimed to characterize the pharmacokinetics of benzathine cloxacillin administered intramuscularly in healthy goats using nonlinear mixed-effects modeling (NLMEM). Six healthy crossbred Saanen/Anglo-Nubian goats were used. The benzathine cloxacillin formulation was administered at doses ranging from 2 to 20 mg/kg, with serial blood sampling at intervals up to 24 hours for plasma analysis by Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS). The pharmacokinetic (PK) model was developed using Monolix 2024R1 software. The most suitable pharmacokinetic model comprised two compartments with first-order absorption, linear elimination, and correlation between absorption and distribution parameters. Results indicated significant interindividual variability, with an apparent clearance of 1.58 L/h/kg. Maximum plasma concentrations were reached on average within 1.06 hours. These findings reinforce the importance of computational modeling for determining the pharmacokinetics of benzathine cloxacillin, providing a foundation for safer and more effective dosing regimens and contributing to strategies aligned with the rational use of antimicrobials.

Keywords: Antibiotic therapy, pharmacometry, penicillins, bacterial resistance.

1. Introdução

O mercado pecuário de caprinos tem registrado crescimento significativo, especialmente na exportação de carne e produtos lácteos, aumentando a demanda por produtos farmacêuticos específicos para essa espécie (MAGALHÃES *et al.*, 2024). No entanto, ainda há uma escassez de medicamentos veterinários aprovados para caprinos, o que tende ao aumento do uso extra bula, especialmente de antimicrobianos (BRASIL, 2025).

Nesse cenário, iniciativas como o programa "Uso menor em espécies maiores" visam adaptar o uso de medicamentos já registrados para espécies economicamente relevantes, para demais espécies como caprinos, ampliando a disponibilidade de terapias seguras e eficazes (CAMEVET, 2021). Agências regulatórias, como o *Food and Drug Administration* (FDA) e a *European Medicines Agency* (EMA), oferecem suporte ao desenvolvimento de

medicamentos para espécies menores, incluindo flexibilizações regulatórias e incentivos financeiros (FDA, 2018; EMA, 2019a).

Com o avanço da resistência antimicrobiana, estratégias globais têm sido propostas para limitar o surgimento de cepas resistentes. Em 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) categorizou a cloxacilina como um antibiótico de uso não prioritário em humanos, se tornando assim uma estratégia de escolha para o uso na medicina veterinária. Essa estratégia busca minimizar a necessidade de empregar cefalosporinas de terceira geração, carbapenêmicos e outras classes em animais, preservando esses antimicrobianos para o tratamento de infecções graves em humanos, onde seu uso é considerado prioritário (OMS, 2019).

A cloxacilina é um antibiótico β -lactâmico utilizado no manejo de enfermidades em caprinos, sendo eficaz no tratamento da mastite devido à sua atividade contra patógenos Gram-positivos, como *Staphylococcus aureus*. Assim como as penicilinas G (cristalina – sódica ou potássica, procaína e benzatina) a cloxacilina também pode ser apresentada na forma de sais (cloxacilina sódica ou benzatina) (Pedroso *et al.*, 2001).

No Brasil, a cloxacilina está disponível exclusivamente para administração intramamária (IMM), representando uma alternativa relevante para o controle de infecções mamárias em pequenos ruminantes, como por exemplo, em caprinos.

Formulações veterinárias de cloxacilina benzatina para administração IM são escassas, segundo a base de dados de produtos veterinários da EMA (*Union Product Database*, 2025), há conhecimento apenas de um produto denominado Biocillin® (Izo S.r.l) na Itália, sendo uma combinação de amoxicilina + cloxacilina benzatina para uso intramuscular (IM) em bovinos. No entanto, a escassez de estudos farmacocinéticos sobre formulações injetáveis de cloxacilina administradas por via intramuscular (IM) em caprinos limita sua aplicação terapêutica em infecções sistêmicas. Diante dessa lacuna de conhecimento, torna-se essencial a condução de estudos farmacocinéticos (PK) específicos para a espécie, a fim de otimizar seu uso clínico e estabelecer regimes de dosagem seguros e eficazes.

Modelos farmacocinéticos e farmacodinâmicos são ferramentas indispensáveis nesse processo, permitindo a definição de regimes de dosagem adequados e seguros, conforme recomendações da EMA (EMA, 2016a; EMA, 2016b). Assim o objetivo deste estudo é caracterizar a farmacocinética da cloxacilina benzatina após administração intramuscular de uma formulação convencional em cabras saudáveis através da construção de modelo não linear de efeitos mistos (MNLEF).

2. Metodologia

2.1. Animais

O presente estudo foi realizado no setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFLA, sob o protocolo de número 018/2021.

Foram utilizados seis caprinos mestiços das raças Saanen/Anglo-Nubiana, todas fêmeas clinicamente saudáveis, com idades entre 2 e 4 anos e peso corporal variando de 45 a 75 kg. Os animais foram individualmente identificados por meio de fichas de registro que incluíam informações detalhadas, como identificação individual (nome ou número de registro), sexo, idade, peso corporal, raça, histórico clínico e anamnese completa. Antes do início do experimento, todos os caprinos passaram por uma avaliação clínica abrangente, associada a exames hematológicos e coproparasitológicos, para garantir um status sanitário adequado à condução do estudo. Os animais foram mantidos em baias individuais. O manejo nutricional incluiu a oferta de volumosos, como capim fresco, cana-de-açúcar triturada ou silagem de capim-elefante, conforme o manejo específico durante o período experimental, água foi fornecida *ad libitum*.

Os critérios de exclusão consideraram o comportamento e o histórico terapêutico dos animais. Foram excluídos do experimento os animais que apresentaram temperamento indócil ou histórico de intervenções farmacológicas recentes. Para evitar interferências farmacológicas, foram incluídos apenas animais que não haviam recebido terapia antimicrobiana.

2.2 Formulação Cloxacilina Benzatina

A formulação continha 10% de cloxacilina benzatina com 0,6% de Polaxamer 188, ressuspendida em solução fisiológica de NaCl a 0,9%. Os frascos eram devidamente identificados para garantir a correspondência com o animal que receberia a medicação. O preparo era realizado aproximadamente 15 minutos antes da aplicação, com agitação manual do frasco após a adição da solução fisiológica para melhor homogeneização.

Em seguida, uma alíquota de 1 mL era retirada de cada frasco para análise e quantificação do insumo farmacêutico ativo presente na formulação.

2.3 Delineamento experimental

Os animais, clinicamente saudáveis, foram divididos aleatoriamente em três momentos distintos para administração do tratamento. Cada caprino recebeu uma dose de cloxacilina benzatina variando de 2 a 20 mg/Kg administrada pela via intramuscular (IM)

no membro posterior, entre os músculos semitendíneo e semimembranoso. Nos casos em que o volume total excedeu 8 mL, a administração foi realizada em múltiplos sítios de aplicação, sempre nos membros posteriores.

2.4. Coleta e processamento de amostras

Amostras de sangue foram coletadas antes da administração (0 min) e, posteriormente, em intervalos de 5, 10, 15, 30 e 45 min. e, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 24 horas após a administração. As coletas foram realizadas na veia jugular externa, por meio de catéter. As amostras foram armazenadas em tubo contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) para evitar a coagulação. Os animais eram cateterizados e os volumes coletados variaram entre 2 e 3 mL.

As amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos, e o plasma foi transferido para criotubos de 2mL, em duplicata. As amostras processadas foram então armazenadas a -80°C até o momento de quantificação.

Além das coletas de amostras, foram realizadas avaliações clínicas seriadas, que incluíram observação de dor no local da aplicação, temperatura corporal, frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração da mucosa e movimentos ruminais.

2.5. Método analítico

A quantificação de cloxacilina foi realizada no Laboratório de Inovação em Nanobiotecnologia e Materiais Avançados para Pecuária (LINMAP) da EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. A quantificação de cloxacilina foi realizada por *Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry* (UPLC-MS/MS), através de um método analítico previamente validado (Almeida *et al.*, 2025; Mauricio *et al.*, 2018).

As análises foram realizadas utilizando o sistema *Waters Acquity UPLC™ I-Class*, acoplado a um espectrômetro de massas de triplo quadrupolo com ionização por *Electrospray* (XEVO-TQ-S micro, Waters). O processamento e a análise dos dados obtidos foram efetuados por meio do *software* MassLynx (Waters).

As condições cromatográficas e espectrométricas para quantificação da cloxacilina benzatina estão apresentados no quadro 1.

Quadro 1 – Condições cromatográficas e espectrofotométricas para detecção e quantificação de Cloxacilina Benzatina em plasmas caprinos.

UPLC		MS/MS	
Coluna	ACQUITY UPLC BEH C18; 100 mm; 2,1 μ m	Modo de ionização (ESI)	Negativo
Temperatura coluna	50°C	Potencial capilar	3 kV
Temperatura amostrador	5°C	Potencial cone	20 V
Injeção	3 mL	Temperatura dessolvatação	450°C
Fluxo	0,3 mL/min	Fluxo dessolvatação	810 L/h
Fase A	Ácido Fórmico 0,1% (v/v)	Fluxo cone	150 L/h
Fase B	Metanol	Energia colisão 1	8 V
Gradiente		Energia colisão 2	12 V
0-3 min	A 50% + B 50%	Íon precursor [M – H] ⁻	434 Da
3-4 min	A 1% + B 99%	Íon quantificador	390 Da
4-5 min	A 50% + B 50%	Íon qualificador	293 Da
Tempo de retenção	~ 2,01 min		

A solução estoque de Cloxacilina foi preparada em uma concentração de 1000 ppm em água, utilizando 6,11 mg do padrão de cloxacilina sódica monoidratada (Sigma/Vetranal® 46140 - Lote BCCD9170). A partir das soluções de trabalho, foram preparadas as soluções para a curva de calibração na faixa de 1 a 400 ppb em MeOH, para quantificação das formulações.

As amostras de plasma foram homogeneizadas em vórtex, diluídas em metanol (1:9), centrifugadas a 14.000 rpm por 8 minutos a 5°C e o sobrenadante transferido para análise no sistema UPLC-M/MS. As formulações foram diluídas 1.000.000 de vezes em metanol, transferidas para os vials e injetadas diretamente, sem centrifugação.

Os parâmetros de validação do método incluíram um limite de quantificação de 0,5 ng/mL, limite de detecção de 0,05 ng/mL, recuperação de 81,28% em 1 ng/mL e um desvio padrão relativo de 21,75%.

2.6 Construção do modelo farmacocinético

A estratégia adotada para a análise farmacocinética baseou-se em uma abordagem de farmacocinética populacional, utilizando modelagem não linear de efeitos mistos com o software Monolix 2024R1® (Lixoft SAS, uma empresa Simulations Plus). Os modelos foram construídos a partir dos dados de concentração plasmática de cloxacilina obtidos no estudo *in vivo*.

Diversas combinações foram testadas, incluindo modelos de administração oral/extravasacular, com ou sem tempo de latência, absorção de ordem zero ou de primeira ordem, sistemas de um ou dois compartimentos e eliminação linear ou do tipo Michaelis-Menten. Essas etapas resultaram na construção de diferentes modelos, nos quais eram aplicados diferentes tipos de erros e comparados entre si, buscando uma correlação entre valores dos parâmetros e ajustes gráficos.

O modelo farmacostatístico mais adequado foi selecionado e avaliado com base nos seguintes critérios: gráficos de qualidade de ajuste (GOF plots), ou seja, observações *versus* previsões individuais e populacionais (OBS-PRED), resíduos ponderados individuais *versus* previsões individuais e tempo (IWRES), gráficos de erro de distribuição de predição normalizada (NPDE) *versus* previsões populacionais e tempo, e verificações preditivas visuais corrigidas por predição (pcVPC); diminuição da função objetivo (calculado por amostragem de importância) e Critério de Informação Bayesiano BIC; e um baixo erro padrão relativo (RSE <30%) das estimativas dos parâmetros PK (Mould e Upton, 2013; Nguyen *et al.*, 2017; FDA, 2022). Por fim, a robustez do modelo foi verificada por meio do valor de encolhimento e uma análise *Bootstrap* não paramétrica (1000 réplicas) com intervalo de confiança de 95%. O encolhimento abaixo de 30% foi considerado aceitável (Lavielle *et al.*, 2016; Mould *et al.*, 2013; Savic *et al.*, 2009).

3. Resultados

3.1 Análise farmacocinética da cloxacilina benzatina

Um modelo contendo um compartimento com absorção de primeira ordem, eliminação linear e clearance (cl) foi identificado como o melhor modelo para descrever a farmacocinética da cloxacilina benzatina pela via intramuscular. O modelo teve um erro proporcional de 0,13, os valores dos desvios de efeitos aleatórios também se encontram descritos na tabela 1.

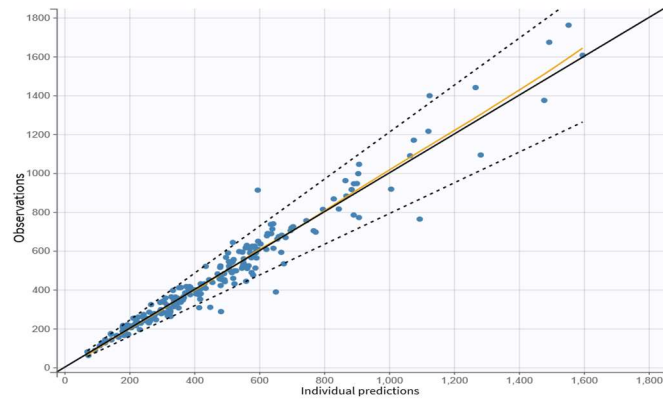
Tabela 1 – Estimativas do modelo farmacocinético para cloxacilina benzatina após administração intramuscular em caprinos.

Parâmetros	Valor	R.S.E.(%)	
Efeitos fixos			
ka_pop (/h-1)	0,13	4,89	
V_pop (L/kg)	0,22	9,24	
Cl_pop (L/h/Kg)	1,58	5,22	
Desvio Padrão dos Efeitos Aleatórios			
		C.V.(%)	
ω ka (%)	0,15	15,28	26,3
ω V1(%)	0,31	32,11	22,4
ω Cl (%)	0,19	19,56	19,7
Erros dos parâmetros			
b	0,13	0,0074	5,85

As abreviaturas são as seguintes: RSE, erros padrão relativos; ka, constante de absorção; V, volume; Cl, clearance. ω ka desvio padrão do efeito aleatório da constante de absorção (Ka); ω V, desvio padrão do efeito aleatório do volume de distribuição (V); ω Cl, desvio padrão da variabilidade interindividual do clearance (Cl).

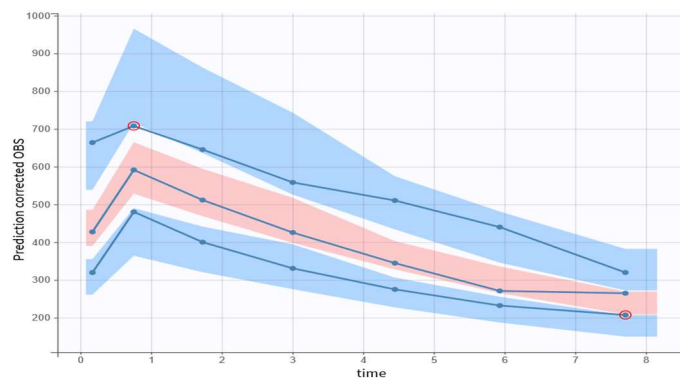
A precisão das estimativas dos parâmetros PK foi inferior a 30% para os parâmetros estruturais, efeitos aleatórios e erro residual. As observações versus previsões (Figura 1) não revelam nenhuma especificação incorreta. As concentrações observadas e previstas da cloxacilina foram bem combinadas pela visualização do resíduo ponderado individual (IWRES) versus tempo após a dose e previsões individuais. Nenhum viés sistemático importante foi observado para NPDE. O gráfico pc-VPC (Figura 2) indicou um bom desempenho preditivo do modelo. Pode-se observar que a tendência mediana e a dispersão das observações parecem ser satisfatoriamente previstas pelo modelo. No geral, os percentis 2,5, 50 e 97,5 das concentrações observadas estavam dentro do intervalo de confiança previsto de 95% desses percentis.

Figura 1. Previsões observadas *versus* individuais



Legenda: Relação entre os valores observados e preditos, representada pela linha de identidade ($y = x$, linha preta) e pela curva de ajuste tipo spline (linha laranja). A faixa tracejada indica o intervalo de predição de 90%.

Figura 2. Verificação preditiva visual corrigida por previsão (pcVPC) para concentrações plasmáticas de cloxacilina benzatina via intramuscular



Legenda: Distribuição dos percentis empíricos (linha contínua), intervalos de predição (áreas em azul e rosa), percentis preditos (linha tracejada) e dados observados (pontos) ao longo do tempo.

4. Discussão

Conforme a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024), a cloxacilina não integra o grupo de antimicrobianos criticamente importantes para a saúde humana, sendo considerada de alta importância. Essa categorização favorece sua adoção mais ampla na medicina veterinária, contribuindo para estratégias de preservação dos fármacos prioritários para uso humano. Neste estudo, foi caracterizado o comportamento farmacocinético da cloxacilina benzatina em diferentes doses, administradas por via intramuscular em caprinos clinicamente saudáveis. Os resultados obtidos fornecem subsídios relevantes para futuras investigações voltadas ao delineamento de esquemas terapêuticos intramusculares com cloxacilina, direcionados ao tratamento de infecções bacterianas sistêmicas de importância clínica em caprinos.

O desenvolvimento de uma formulação para determinada espécie, compreendem diversas etapas, que podem variar de acordo com disponibilidade ou ausência de informações prévias presente na literatura que direcionam a necessidade de realizar determinados testes (EMA, 2023).

A cloxacilina é amplamente empregada em diferentes espécies de animais de produção, especialmente em bovinos, nos quais seu uso intramamário é frequente, muitas vezes em associação com outros princípios ativos (BRASIL, 2025). Um dos fatores que favorecem a expansão do uso terapêutico da cloxacilina por vias alternativas de administração em diferentes espécies refere-se à existência de Limites Máximos de Resíduos (LMRs) já estabelecidos para tecidos comestíveis de bovinos, caprinos, ovinos, aves e peixes, conforme regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2025). Essa regulamentação oferece respaldo técnico e legal para a investigação de novas formulações e rotas de administração do fármaco, contribuindo para a diversificação de sua aplicação na medicina veterinária.

A literatura científica relata a avaliação da farmacocinética da cloxacilina benzatina em bovinos, por via intramamária, no tratamento de mastite causada por *Staphylococcus aureus*; em equinos, por via intravenosa, em combinação com ampicilina; e em cabras, também por via intramamária (Buckley *et al.*, 2024; Kietzmann *et al.*, 2010; Kondampati *et al.*, 2022). No entanto, os estudos envolvendo a administração parenteral de cloxacilina benzatina especificamente em caprinos ainda são escassos (Felix *et al.*, 2023). Trabalhos anteriores abordaram a integração dos parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos (PK/PD) da cloxacilina por meio da correlação com dados de Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando informações disponíveis da formulação sódica da cloxacilina previamente estudada nesta espécie (Khargharia *et al.*, 2013; Félix *et al.*, 2023).

O presente estudo estabeleceu um modelo farmacocinético para a cloxacilina benzatina administrada por via intramuscular em diferentes doses em caprinos, com o objetivo de subsidiar a futura integração com dados farmacodinâmicos e, assim, contribuir para a definição de regimes terapêuticos eficazes no tratamento de infecções sistêmicas nessa espécie.

As concentrações plasmáticas observadas foram adequadamente descritas pelo modelo proposto, cuja estrutura consistiu em um compartimento com absorção de primeira ordem, eliminação linear e *clearance* constante. Essa abordagem permitiu representar com fidelidade o perfil de disposição da cloxacilina benzatina após administração parenteral.

A aplicação de modelagem farmacocinética e farmacodinâmica é amplamente consolidada na área médica humana, especialmente no contexto de fármacos antimicrobianos (Veiga e Paiva, 2018). Nesse cenário, a utilização de ferramentas computacionais se destaca como uma das abordagens recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para enfrentar o avanço da resistência antimicrobiana.

A *Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products da EMA* (EMA, 2023) estabelece a utilização da integração PK/PD para determinação de regimes de dose com melhor potencial de eficácia terapêutica. Em estudos anteriores, Félix (2023) e Craig (2003), consideram que a cloxacilina assim como outras penicilinas, é um antibiótico tempo dependente (índice PK/PD = $T > CIM$), com um PDT de 40% $T > CIM$.

A cloxacilina demonstra eficácia frente a diversas espécies bacterianas, conforme evidenciado na base de dados da EUCAST – *Antimicrobial Wild-Type Distributions of Microorganisms* (<https://mic.eucast.org/search>). Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) reportados para patógenos de interesse incluem: *Staphylococcus aureus* (0,03–1 µg/mL), *Staphylococcus pseudintermedius* (0,25–22 µg/mL), *Streptococcus agalactiae* (0,125–2 µg/mL), *Streptococcus uberis* (0,016–2 µg/mL) e *Streptococcus dysgalactiae* (0,06–0,25 µg/mL).

Entre as principais enfermidades sistêmicas que acometem caprinos, destaca-se a pneumonia, frequentemente associada à infecção por *S. aureus*, reconhecido como o agente mais prevalente nesses quadros (Rajashekar *et al.*, 2023). Embora a resistência antimicrobiana – especialmente à meticilina – represente um desafio crescente no controle de *Staphylococcus spp.*, estudos apontam a permanência de cepas sensíveis a betalactâmicos, incluindo a cloxacilina (Tsirigotaki *et al.*, 2022). Adicionalmente, infecções causadas por *Streptococcus spp.* em caprinos, como poliartrite e mastite subclínica, também têm sido

relatadas (Blanchard e Fiser, 1994; Shi *et al.*, 2023), reforçando a relevância clínica do espectro de ação da cloxacilina para essa espécie.

Os dados obtidos neste estudo demonstraram que alguns animais alcançaram concentrações plasmáticas iguais ou superiores a 2 µg/mL. Considerando que diversos patógenos apresenta valores de CIM iguais ou inferiores a esse limite, os achados indicam que doses em torno de 19 mg/kg podem ser potencialmente eficazes no tratamento de infecções causadas por essas bactérias, sobretudo quando se considera que o índice PK/PD preditivo de eficácia para betalactâmicos é o tempo em que a concentração plasmática permanece acima da CIM ($T > CIM$) (Félix *et al.*, 2023).

5. Conclusão

A aplicação da modelagem farmacocinética demonstrou ser uma ferramenta essencial para caracterizar a disposição da cloxacilina benzatina em caprinos, permitindo a identificação de parâmetros chave e significativa variabilidade interindividual.

A correlação entre esses dados de CIM da cloxacilina para algumas bactérias sensíveis em caprinos e os resultados obtidos até o presente momento, corroboram para uma perspectiva positiva para a utilização da cloxacilina benzatina para tratamentos sistêmicos destas afecções em caprinos, dado os valores de CIM e os valores de concentrações plasmáticas observados.

O modelo estrutural e os parâmetros correspondentes fornecem uma base sólida para futuros estudos PK/PD, subsidiando a definição de regimes de dosagem mais eficazes e seguros. Além disso, a abordagem utilizada reforça a importância da modelagem avançada no desenvolvimento de estratégias terapêuticas racionais e no controle da resistência antimicrobiana em medicina veterinária.

Conflito de Interesses

Todos os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Declaração de Bem-Estar e Ética Animal

Os autores confirmam que as políticas éticas da revista, conforme observado na página de diretrizes para autores da revista, foram respeitadas.

Confirmações

Os autores agradecem às instituições financiadoras Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (448011/2014-0), Empresa Brasileira de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - EMBRAPA (SEG 20.20.03.002.00.00) e Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (APQ-01168-21) pelas bolsas concedidas a alunos de graduação e pós-graduação, e para o financiamento de projetos do nosso grupo de pesquisa.

Declaração de contribuição

Lillian Pereira Gouvêia: Metodologia, Análise formal, Redação - Rascunho original, Visualização e Administração do projeto. **Lucas Wamser Fonsceca Gonzaga:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Bruna Christina Fernandes Soares:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Michelle D. Almeida Loures:** Curadoria de Dados e Recursos. **Patrícia Yoshida Faccioli Martins:** Redação - Revisão e Edição. **Humberto de Mello Brandão:** Redação - Revisão e Edição. **Marcos Ferrante:** Conceituação, Redação - Revisão e Edição e Supervisão.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados que sustentam os achados deste estudo estão disponíveis no material suplementar deste artigo.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Painel de Limite Máximo de Resíduos para produtos de origem animal.** 2025. Disponível em:

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiOTg4Nzk2ZTI0NjE5Yy00MDRhLWFKOGMtMjdiMGY5NWE4NjVjIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWZjZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>. Acesso em: 15 out. 2025.

ARAÚJO, R. S.; GARCIA, G. M.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; OLIVEIRA, L. A. M.; KANO, E. K.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P. E.; BRANDÃO, H. M.; MOSQUEIRA, V. C. F. **Cloxacillin benzathine-loaded polymeric nanocapsules: Physicochemical characterization, cell uptake, and intramammary antimicrobial effect.** *Materials Science and Engineering C*, v. 104, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110006>

BAIRD, G. J.; MALONE, F. E. **Control of caseous lymphadenitis in six sheep flocks using clinical examination and regular ELISA testing.** *Veterinary Record*, v. 166, n. 12, p. 358–362, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1136/VR.B4806>

BLANCHARD, P. C.; FISER, K. M. **Streptococcus dysgalactiae polyarthritis in dairy goats.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 5, p. 739–741, 1994. DOI: <https://doi.org/10.2460/JAVMA.1994.205.05.739>

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Painel de indicadores de produtos farmacêuticos.** 2025. Disponível em: https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Produtos_Farmacuticos/Produtos_Farmacuticos.html. Acesso em: 15 out. 2025.

BUCKLEY, M. P.; HAYMAN, K. P.; BURNS, L.; SCHRUNK, D.; GORDEN, P. J. **Pharmacokinetics of long-acting cephapirin and cloxacillin after intramammary administration in dairy goats.** *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 47, n. 5, p. 396–402, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/JVP.13445>

CRAIG, W. A. **Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β -lactams, glycopeptides, and linezolid.** *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 17, n. 3, p. 479–501, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(03\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(03)00065-5)

DE ALMEIDA, J. V. F. C. et al. **In vitro infection model in primary macrophages and in vivo evaluation of benzathine cloxacillin nanoparticles for the treatment of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats.** *Small Ruminant Research*, v. 251, 107561, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SMALLRUMRES.2025.107561>

DE ASSIS, D. N.; MOSQUEIRA, V. C. F.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; CARDOSO, V. N. **Release profiles and morphological characterization by atomic force microscopy and photon correlation spectroscopy of ^{99m}Techetium-fluconazole nanocapsules.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 349, n. 1–2, p. 152–160, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2007.08.002>

FAN, J.; DE LANNOY, I. A. M. **Pharmacokinetics.** *Biochemical Pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 93–120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2013.09.007>

FELIX, L. A.; EGITO, B. M.; SUÁREZ, G.; FERRANTE, M. **Optimization of antibiotic dosing regime through pharmacokinetics/pharmacodynamics integration: a review.** *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 35, n. 3, p. 25975, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v35i3.25975>

FELIX, L. A.; GONZAGA, L. W. F.; SOARES, B. C. F.; SUÁREZ, G.; BRANDÃO, H. M.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; FERRANTE, M. **PK/PD integration for intramuscular dose determination of intramuscular sodium cloxacillin for infections caused by *Staphylococcus* spp in goat.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 75, n. 6, p. 1087–1096, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12944>

FONSECA, M. D. M.; MAIA, J. M. S.; VARAGO, F. C.; GERN, J. C.; CARVALHO, W. A.; SILVA, S. R.; MOSQUEIRA, V. C. F.; BRANDÃO, H. M.; GUIMARÃES, A. S. **Cloxacillin nanostructured formulation for the treatment of bovine keratoconjunctivitis.** *Veterinary and Animal Science*, v. 9, 100089, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.VAS.2020.100089>

KIETZMANN, M.; NIEDORF, F.; GOSSELLIN, J. **Tissue distribution of cloxacillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder.** *BMC Veterinary Research*, v. 6, p. 46, 2010. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/46>. Acesso em: 15 out. 2025.

KONDAMPATI, K. D. et al. **Pharmacokinetic-pharmacodynamic study of ampicillin-cloxacillin combination in Indian thoroughbred horses (*Equus caballus*) and safety evaluation of the computed dosage regimen.** *SSRN Electronic Journal*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2139/SSRN.4076942>

LACOMA, A. et al. **Novel intracellular antibiotic delivery system against *Staphylococcus aureus*: Cloxacillin-loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) acid nanoparticles.** *Nanomedicine*, v. 15, n. 12, p. 1189–1203, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2217/NNM-2019-0371>

LAVIELLE, M.; RIBBA, B. **Enhanced method for diagnosing pharmacometric models: Random sampling from conditional distributions.** *Pharmaceutical Research*, v. 33, n. 12, p. 2979–2988, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11095-016-2020-3>

LEID, J. G. et al. **In vitro antimicrobial studies of silver carbene complexes: activity of free and nanoparticle carbene formulations against clinical isolates of pathogenic bacteria.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 67, n. 1, p. 138–148, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/JAC/DKR408>

MAGALHÃES, K. A.; LUCENA, C. C.; FILHO, Z. F. H.; MARTINS, E. C. **Boletim nº 24 – Pesquisa da Pecuária Municipal 2023: rebanhos de caprinos e ovinos.** 2024.

Disponível em:

https://www.embrapa.br/documents/1355090/35052914/Boletim_N%C2%BA24_PPM+2023.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

PEDROSO, M. C.; CUMAN, C. A. B. A.; CAPARROZ-ASSEF, S. M. **Penicillin G benzathine: characteristic of prescription and use in community pharmacy.**

ResearchGate, 2001. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/277118684_Penicilina_G_benzatina_caracteristicas_de_prescricao_e_uso_na_farmacia_comunitaria/fulltext/559de9de08ae76bed0bb4fd0/Penicilina-G-benzatina-caracteristicas-de-prescricao-e-uso-na-farmacia-comunitaria.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

MAURICIO, A.; FONSECA, T. **Desenvolvimento e validação de método analítico por espectrometria de massas para quantificação de cloxacilina nanoencapsulada em plasma bovino.** Ouro Preto, 2018. Disponível em: www.sisbin.ufop.br. Acesso em: 15 out. 2025.

MEDICINES AGENCY, EUROPEAN. **Guideline on the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species.** 2023. Disponível em:

www.ema.europa.eu/contact. Acesso em: 15 out. 2025.

MI, K. et al. **Application of semi-mechanistic pharmacokinetic and pharmacodynamic model in antimicrobial resistance.** *Pharmaceutics*, v. 14, n. 2, p. 246, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14020246>

MINOZZI, G. et al. **First insights in the genetics of caseous lymphadenitis in goats.** *Italian Journal of Animal Science*, v. 16, n. 1, p. 31–38, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1250610>

MOULD, D. R.; UPTON, R. N. **Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—Part 2: Introduction to pharmacokinetic modeling method/s.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 2, n. 4, e38, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/PSP.2013.14>

NGUYEN, T. H. T. et al. **Model evaluation of continuous data pharmacometric models: Metrics and graphics.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 6, n. 2, p. 87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/PSP4.12161>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana.** 6. ed. 2019. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/331531>. Acesso em: 15 out. 2025.

PELGRIFT, R. Y.; FRIEDMAN, A. J. **Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 65, n. 13–14, p. 1803–1815, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2013.07.011>

RAJASHEKAR, B.; SHIVAJYOTHI, J.; REDDY, Y. N.; PUTTY, K. **Characterization of bacterial pathogens involved in pneumonia of sheep and goats.** *Indian Journal of Small Ruminants*, v. 29, n. 1, p. 89–93, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2023.00003.X>

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. D.; MONFERRER, D.; PENON, O.; RIVERA-GIL, P. **Regulatory pathways and guidelines for nanotechnology-enabled health products: A comparative review of EU and US frameworks.** *Frontiers in Medicine*, v. 12, 1544393, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMED.2025.1544393>

SAVIC, R. M.; KARLSSON, M. O. **Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: Problems and solutions.** *AAPS Journal*, v. 11, n. 3, p. 558–569, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1208/S12248-009-9133-0>

SCOTT, L. S.; SEABAUGH, M. M.; HOLT, C. T.; DAWSON, W. J. **Fuel processing catalysts based on nanoscale ceria.** *Fuel Cells Bulletin*, v. 4, n. 30, p. 7–10, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1464-2859\(01\)80039-0](https://doi.org/10.1016/S1464-2859(01)80039-0)

SHI, H. et al. **Molecular epidemiology, drug resistance, and virulence gene analysis of *Streptococcus agalactiae* isolates from dairy goats in backyard farms in China.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 1049167, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.1049167>

UNDERWOOD, C.; VAN EPS, A. W. **Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality.** *The Veterinary Journal*, v. 193, n. 1, p. 12–23, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2012.01.002>

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*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/3081422>

UZAL, F. A.; KELLY, W. R. **Experimental Clostridium perfringens type D enterotoxemia in goats.** *Veterinary Pathology*, v. 35, n. 2, p. 132–140, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098589803500207>

VEIGA, R. P.; PAIVA, J. A. **Pharmacokinetics–pharmacodynamics issues relevant for the clinical use of beta-lactam antibiotics in critically ill patients.** *Critical Care*, v. 22, n. 1, p. 233, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/S13054-018-2155-1>

YOUSSEF, F. S.; EL-BANNA, H. A.; ELZORBA, H. Y.; GALAL, A. M. **Application of some nanoparticles in the field of veterinary medicine.** *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 7, n. 1, p. 78–93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1691379>

5. ARTIGO II - ESTUDO FARMACOCINÉTICO DE CLOXACILINA BENZATINA NANOESTRUTURADA ADMINISTRADA PELA VIA SUBCUTÂNEA EM CAPRINOS SAUDÁVEIS

Lillian Pereira Gouveia¹, Lucas Wamser Fonseca Gonzaga¹, Larissa Alexsandra Felix¹, Sibely Aiva Flores¹, Danielle Cinelli dos Santos Pinto², Michelle Daiane de Almeida Loures², Patrícia Yoshida Faccioli-Martins, Humberto de Mello Brandão², Marcos Ferrante¹.

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Lavras – Minas Gerais, Brazil.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – Minas Gerais, Brazil.

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – Ceará, Brazil.

RESUMO

A resistência aos antimicrobianos representa um desafio global significativo, reforçando a necessidade de estratégias inovadoras, como sistemas de liberação controlada baseados em nanotecnologia. Este estudo teve como objetivo caracterizar a farmacocinética de cloxacilina benzatina nanoestruturadas (CLXN) após administração subcutânea em caprinos saudáveis. Seis cabras receberam uma dose única de 4 mg/kg de CLXN. As concentrações plasmáticas foram determinadas por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem (UPLC-MS/MS), e os dados foram analisados por modelagem não linear de efeitos mistos (NLMEM). O modelo selecionado consistiu em um compartimento com absorção de primeira ordem, compartimentos de trânsito e eliminação linear. O tempo médio de trânsito (MTT) foi estimado em 0,235 h, a constante de absorção (k_a) em $3,358 \text{ h}^{-1}$, o volume de distribuição (V) em 1,567 L/kg, clearance (Cl) em 0,581 L/h/kg e erro padrão relativo (RSE) <30%. A avaliação do modelo demonstrou bom desempenho preditivo, com base em gráficos de ajuste e verificações preditivas. Os resultados obtidos indicam o potencial das CLXN como formulação de liberação prolongada para o tratamento de infecções sistêmicas em caprinos. Os dados farmacocinéticos gerados neste estudo poderão ser integrados a índices farmacodinâmicos para embasar futuros estudos de otimização de dose e avaliação da eficácia terapêutica.

Palavras-chave: nanopartículas; modelagem; nanotecnologia veterinária; betalactâmicos; penicilina antiestafilocócica;

ABSTRACT

Antimicrobial resistance represents a significant global challenge, highlighting the need for innovative strategies such as controlled-release systems based on nanotechnology. This study aimed to characterize the pharmacokinetics of nanostructured benzathine cloxacillin

(CLXN) following subcutaneous administration in healthy goats. Six goats received a single dose of 4 mg/kg of CLXN. Plasma concentrations were determined using Ultra Performance Liquid Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS), and data were analyzed through nonlinear mixed-effects modeling (NLMEM). The selected model consisted of a single compartment with first-order absorption, transit compartments, and linear elimination. The mean transit time (MTT) was estimated at 0.235 h, the absorption rate constant (k_a) at 3.358 h⁻¹, the volume of distribution (V) at 1.567 L/kg, the clearance (Cl) at 0.581 L/h/kg, and the relative standard error (RSE) was below 30%. Model evaluation demonstrated good predictive performance based on goodness-of-fit plots and predictive checks. The results indicate the potential of CLXN as a sustained-release formulation for the treatment of systemic infections in goats. The pharmacokinetic data generated in this study may be integrated with pharmacodynamic indices to support future dose optimization and therapeutic efficacy evaluations..

Keywords: nanoparticles; modeling; veterinary nanotechnology; beta-lactams; antistaphylococcal penicillin.

1. Introdução

A ocorrência de resistência aos antimicrobianos é uma temática de alta relevância a níveis mundiais, sendo um dos tópicos de grande investimento em estudos pela OMS. O uso de estratégias envolvendo nanotecnologia aplicada a saúde é um caminho para conseguir otimizar a utilização de antimicrobianos tanto para a medicina humana quanto para a medicina veterinária, como ferramenta para combater a resistência antimicrobiana. (Pelgrift *et al.*, 2013).

O uso de nanopartículas tem se mostrado uma alternativa promissora para formulações de antimicrobianos o qual as nanopartículas têm sido empregadas como sistemas de liberação direcionada, permitindo que os agentes antimicrobianos se concentrem especificamente no sítio da infecção. Essa estratégia possibilita a administração de doses mais elevadas localmente, aumentando a eficácia terapêutica e contribuindo para o combate da resistência bacteriana, ao mesmo tempo em que minimiza os efeitos adversos sistêmicos no paciente (Leid *et al.*, 2012).

A Organização Mundial da Saúde preconiza a otimização do uso de antimicrobianos comumente empregados na medicina veterinária e que não sejam de importância crítica para medicina humana, como é o caso da Cloxacilina (OMS, 2019). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024), os aminoglicosídeos são considerados antimicrobianos de importância crítica. Portanto, essa classe de antimicrobianos deve ser utilizada no tratamento de pacientes enfermos, em vez de antibióticos com maior risco de resistência, como as quinolonas e as cefalosporinas de terceira geração.

A cloxacilina é um antimicrobiano β -lactâmico amplamente empregado no controle de enfermidades bacterianas em caprinos, destacando-se por sua eficácia no tratamento da mastite, especialmente devido à sua atividade frente a microrganismos Gram-positivos, como *Staphylococcus aureus*. Assim como as penicilinas G (cristalina – sódica ou potássica, procaína

e benzatina), a cloxacilina é comercialmente disponibilizada na forma de diferentes sais, incluindo as formulações sódica e benzatina (Pedroso M.C. *et al.*, 2001).

Estudos recentes utilizando modelamento farmacocinético, realizaram estimativas de protocolos terapêuticos de Cloxacilina sódica em caprinos acometidos por infecções causadas por *Staphylococcus ssp*, no entanto este estudo evidencia a necessidade de correlacionar o ponto de corte microbiológico para determinar o tratamento antimicrobiano que será estabelecido (Félix *et al.*, 2024).

Apesar do crescimento expressivo da caprinocultura, especialmente na exportação de carne e produtos lácteos, que impulsiona a demanda por formulações farmacêuticas específicas para essa espécie (Magalhães *et al.*, 2024) ainda há uma escassez significativa de medicamentos veterinários devidamente aprovados para caprinos. Essa lacuna favorece o uso extra bula (BRASIL, 2025), principalmente em enfermidades infecciosas que necessitem de tratamentos sistêmicos.

Algumas doenças bacterianas possuem grande importância para caprinocultura como, mastite subclínica, pneumonias e a linfadenite caseosa (LC). Dentre essas doenças a LC vem sendo amplamente discutido a busca por tratamentos a base de agentes antimicrobianos de uso sistêmico. Atualmente tratamento convencional envolvendo drenagem cirúrgica e cauterização química com tintura de iodo a 10% é trabalhoso e tem baixa biossegurança (Souza *et al.*, 2023). A LC trata-se de uma doença crônica e infecciosa de distribuição mundial, com potencial zoonótico, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis* — um patógeno gram-positivo, intracelular facultativo, que sobrevive e se multiplica no interior de macrófagos, sendo responsável por expressivas perdas econômicas no rebanho acometido (Minozzi *et al.*, 2017). Embora a bactéria demonstre suscetibilidade a diversos antibióticos *in vitro*, o tratamento *in vivo* é frequentemente ineficaz, o que se atribui à baixa penetração dos antimicrobianos nos abscessos encapsulados e à limitada atividade intracelular das drogas (Baird e Malone, 2010).

Com base em estudos prévios conduzidos por nosso grupo, os quais investigaram o uso de nanocarreadores como estratégia farmacotécnica aplicada a uma formulação de cloxacilina, foram estabelecidos os parâmetros farmacocinéticos do fármaco em abscessos de caprinos naturalmente acometidos por linfadenite caseosa. Os resultados demonstraram que a nanoformulação foi capaz de prolongar o tempo de permanência da cloxacilina no interior dos macrófagos, além de potencializar sua atividade intracelular frente ao *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Porém, diante da ausência de informações de farmacocinética plasmática de cloxacilina benzatina nanoestruturada faz-se necessário a realização de estudos PK para embasar etapas

posteriores de desenvolvimento do produto, assim como a definição de protocolos terapêuticos para outras afecções que acometam essa espécie.

Assim o objetivo deste estudo é caracterizar a farmacocinética de cloxacilina benzatina nanoestruturada após a administração pela via subcutânea (SC) em caprinos saudáveis, através da construção de modelo não linear de efeitos mistos (MNLEF).

2. Metodologia

2.1. Declaração de uso de animais

O presente estudo foi realizado no setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFLA, sob o protocolo de número 018/2021.

2.2. Animais

Foram utilizadas seis cabras mestiças das raças Saanen/Anglo-Nubiana, todas clinicamente saudáveis, com idades entre 2 e 4 anos e peso corporal médio de 48 kg. Os animais foram individualmente identificados por meio de fichas de registro que incluíam informações detalhadas, como identificação individual (nome ou número de registro), sexo, idade, peso corporal, raça, histórico clínico e anamnese completa. Antes do início do experimento, todos os caprinos passaram por uma avaliação clínica abrangente, associada a exames hematológicos e coproparasitológicos, para garantir um status sanitário adequado à condução do estudo. Os animais foram mantidos em baias individuais. O manejo nutricional incluiu a oferta de volumosos, como capim fresco, cana-de-açúcar triturada ou silagem de capim-elefante, conforme o manejo específico durante o período experimental e água foi fornecida *ad libitum*.

Os critérios de exclusão consideraram o comportamento e o histórico terapêutico dos animais, sendo desconsiderados os animais que apresentaram temperamento indócil ou histórico de intervenções farmacológicas recentes. Para evitar possíveis interferências farmacológicas, foram incluídos apenas animais que não haviam recebido terapia antimicrobiana ou qualquer outro medicamento nos três meses anteriores ao experimento.

2.3 Formulação de Cloxacilina Nanoestruturada

As partidas de cloxacilina nanoestruturadas foram produzidas conforme descrito anteriormente com modificações (Araújo *et al.*, 2019; Assis *et al.*, 2008). As nanoestruturas foram preparadas com 0,6% em peso por volume (p/v) de poli(ϵ -caprolactona), 1 mg/mL de benzatina CLX e 0,5% p/v de Span® 80, todos diluídos em 10 mL de uma mistura de metanol/acetona (1:3). A solução orgânica foi gradualmente vertida em 20 mL de solução aquosa contendo Pluronic® F68 (0,75% p/v) em água ultrapura e então agitada por 10 min. O fármaco foi adicionado à solução de metanol-acetona para obter concentrações finais de 0,5, 1

e 5 mg/mL. Todos os solventes orgânicos e parte da água foram evaporados sob pressão reduzida para obter uma suspensão final de nanocápsulas poliméricas (10 mL). As nanopartículas foram então caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Reino Unido) e microscopia de força atômica (EasyScan 2, NanoSurf, Suíça) com uma sonda Tap 190Al-G (Budget-Sensors, Bulgária) no modo de batida.

2.4 Delineamento experimental

Foram utilizadas seis cabras clinicamente saudáveis, que receberam o tratamento de forma simultânea. Cada animal foi submetido à administração subcutânea de uma dose única de 4 mg/kg de cloxacilina benzatina nanoestruturada, aplicada na região superior próxima a crista da escápula.

2.5. Coleta e processamento de amostras

Amostras de sangue foram coletadas antes da administração (0 min) do fármaco e, posteriormente, em intervalos de: 3, 6, 9, 12, 15, 30 e 45 min. e, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18 e 24 horas após a administração, ao todo contabilizando 20 pontos de coletas. A coleta de sangue foi realizada por punção venosa utilizando sistema de vácuo (Vacutainer®), com agulhas descartáveis de 25 × 8 mm (25G x 1"), os volumes coletados variaram entre 2 e 3 mL. As amostras foram coletadas em tubo contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA).

As amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos, e o plasma foi separado e armazenado em criotubos de 2mL, em duplicata. As amostras de plasma foram então armazenadas a -80°C até o momento de quantificação.

Além das coletas de amostras, foram realizadas avaliações clínicas seriadas, que incluíram observação de dor no local da aplicação, temperatura corporal, frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração da mucosa e movimentos ruminais.

2.6. Método analítico

A mensuração da concentração plasmática de CLX nanoestruturada seguiu mediante adaptação de protocolos analíticos previamente descritos por Almeida *et al.*, 2025; Maurício 2018. O processamento e a análise dos dados obtidos foram efetuados por meio do software MassLynx (Waters).

O processo foi realizado no Laboratório de Inovação em Nanobiotecnologia e Materiais Avançados para Pecuária (LINMAP) da EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. A quantificação de cloxacilina foi realizada por *Ultra Performance Liquid*

Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS), através da técnica descrita e previamente validada conforme (Maurício et al., 2018). As condições cromatográficas estabelecidas para a identificação e quantificação da cloxacilina (CLX) foram as seguintes: coluna ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm; 2,1 μ m); fluxo da fase móvel de 0,3 mL/min; temperatura da coluna mantida em 50 °C; e temperatura do amostrador de 5 °C. A fase móvel foi composta por: fase A – ácido fórmico 0,1% (v/v) em água, e fase B – metanol. O método foi operado em modo gradiente: de 0 a 3 minutos, 50% A e 50% B; de 3 a 4 minutos, 1% A e 99% B; e de 4 a 5 minutos, 50% A e 50% B. O volume de injeção foi de 3 μ L, com tempo de retenção de aproximadamente 2,01 minutos.

As condições espectrométricas foram definidas como: modo de ionização por eletrospray negativo (ESI-); voltagem do capilar de 3 kV; potencial do cone de 20 V; temperatura de dessolvatação de 450 °C; fluxo de gás de dessolvatação de 810 L/h; e fluxo do gás do cone de 150 L/h. O íon precursor identificado foi [M-H] com m/z 434. A fragmentação foi conduzida com energia de colisão de 8 V para o íon quantificador (m/z 390) e 12 V para o íon qualificador (m/z 293).

A solução estoque de Cloxacilina foi preparada em uma concentração de 1000 ppm em água, utilizando 6,23 mg do padrão de cloxacilina sódica monoidratada (Sigma/Vetranal® 46140 - Lote BCCD9170). A partir das Soluções de Trabalho, foi preparada uma calibração em plasma caprino branco enriquecido antes da extração, nas concentrações de enriquecimento da matriz na faixa de 1 a 4000 ppb.

Após o descongelamento das amostras à temperatura ambiente, realizou-se a homogeneização em vórtex, e uma alíquota de 100 μ L foi transferida para um tubo Eppendorf de 2 mL de capacidade, sendo então acrescentados 900 μ L de metanol. Após nova homogeneização em vórtex, a solução foi centrifugada a 14.000 rpm por 8 minutos a 5°C. O sobrenadante resultante foi cuidadosamente transferido para o vial de análise e injetado no sistema UPLC-M/MS.

Os parâmetros de validação do método incluíram um limite de quantificação de 0,5 ng/ml, limite de detecção de 0,05 ng/ml, recuperação de 81,28% em 1 ng/ml e um desvio padrão relativo de 21,75%.

2.5 Construção do modelo farmacocinético

A análise farmacocinética foi conduzida por meio de uma abordagem de farmacocinética populacional, empregando modelagem não linear de efeitos mistos no software Monolix 2024R1® (Lixoft SAS, uma empresa do grupo Simulations Plus). Os modelos foram

desenvolvidos com base nos dados de concentração plasmática das nanopartículas de cloxacilina obtidos no estudo *in vivo*.

Foram avaliadas diversas combinações estruturais, incluindo modelos de administração extravascular com ou sem tempo de latência, absorção de ordem zero ou de primeira ordem, sistemas de um ou dois compartimentos e diferentes formas de eliminação sendo linear ou saturável (Michaelis-Menten). A partir dessas variações, foram construídos múltiplos modelos, nos quais foram testadas diferentes estruturas de erro. Os modelos resultantes foram comparados com base nos parâmetros estimados e na qualidade dos ajustes gráficos, visando identificar a estrutura que melhor representasse os dados observados.

O modelo farmacostatístico mais adequado foi selecionado e avaliado com base nos seguintes critérios: gráficos de qualidade de ajuste (GOF plots), ou seja, observações versus previsões individuais e populacionais (OBS-PRED), resíduos ponderados individuais versus previsões individuais e tempo (IWRES), gráficos de erro de distribuição de predição normalizada (NPDE) versus previsões populacionais e tempo, e verificações preditivas visuais corrigidas por predição (pcVPC); diminuição da função objetivo (calculado por amostragem de importância) e Critério de Informação Bayesiano BIC; e um baixo erro padrão relativo (RSE <30%) das estimativas dos parâmetros PK (Mould e Upton, 2013; Nguyen et al., 2017). Por fim, a robustez do modelo foi verificada por meio do valor de encolhimento e uma análise Bootstrap não paramétrica (1000 réplicas) com intervalo de confiança de 95%. O encolhimento abaixo de 30% foi considerado aceitável (Lavielle e Ribba, 2016; Mould e Upton, 2013; Savic e Karlsson, 2009).

3. Resultados

3.1 Análise farmacocinética da cloxacilina benzatina nanoestruturada

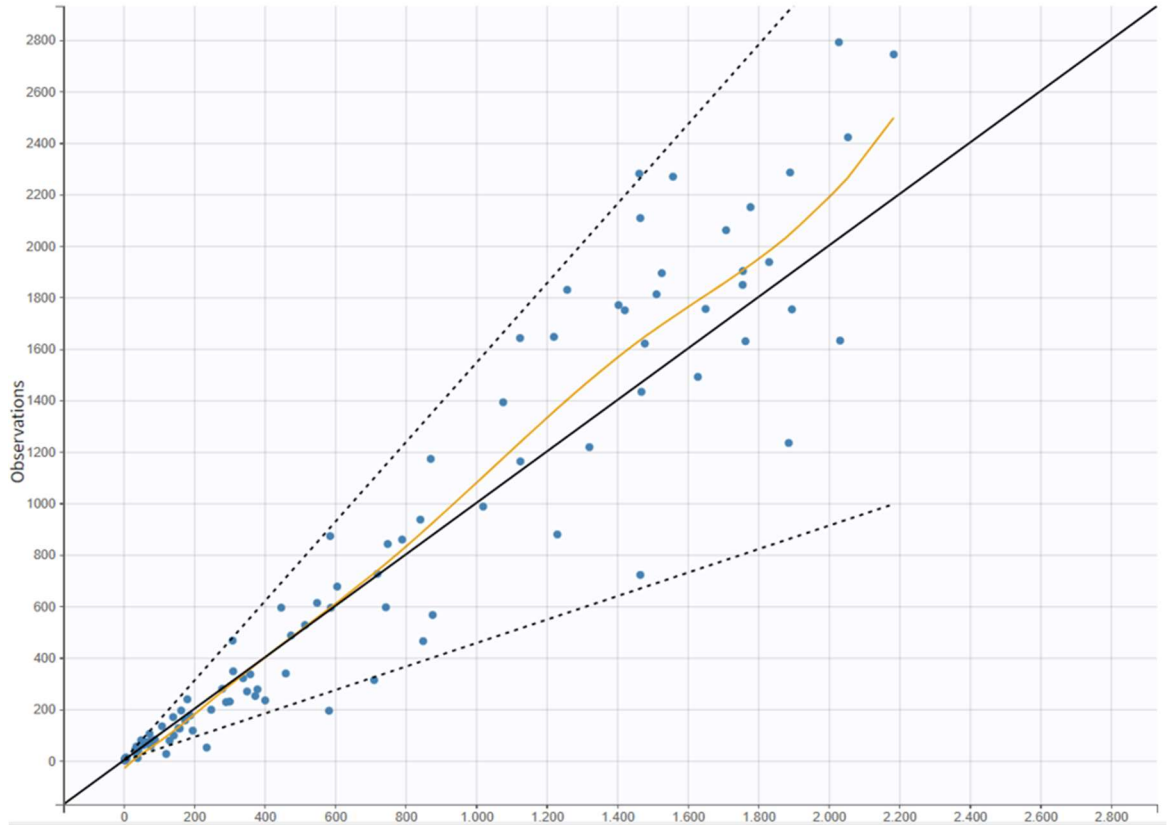
A partir da inclusão dos dados de concentração plasmática em relação ao tempo, no ambiente do software Monolix 2024R1, foi estabelecido um modelo contendo um compartimento, tempo médio de trânsito e taxa de trânsito, absorção de primeira ordem e eliminação linear, sendo esta estrutura estabelecida como o melhor modelo para descrever a farmacocinética da cloxacilina nanoestruturada, pela via subcutânea.

Tabela 1. Estimativas do modelo farmacocinético e resultados de *bootstrap* para nanopartículas de cloxacilina benzatina após administração subcutânea em caprinos

Parâmetros	Valor	R.S.E.(%)
Efeitos fixos		
Ktr_pop(h ⁻¹)	3,727	Fixed
Mtt_pop (h)	0,235	14,5
ka_pop(h ⁻¹)	3,358	26,8
V_pop (L/kg)	1,567	5,3
Cl_pop(L/h/kg)	0,581	4,1
Erros dos parâmetros		
b	0,331	8

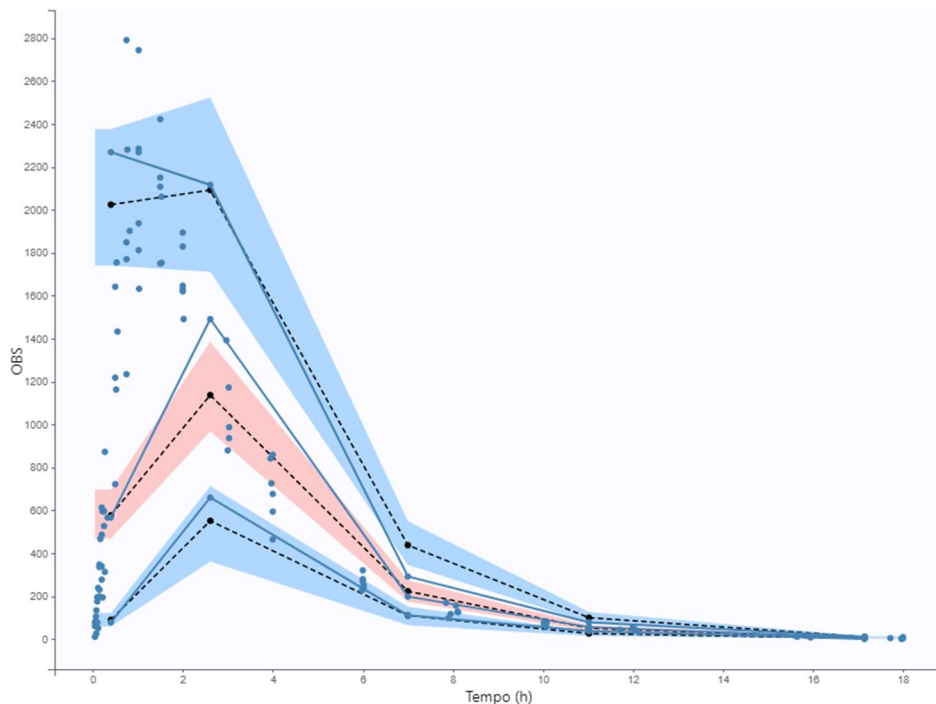
As abreviaturas são as seguintes: *Ktr*, constante de taxa de trânsito; *Mtt*, tempo médio de trânsito; *RSE*, erros padrão relativos; *ka*, constante de absorção; *V*, volume; *Cl*, clearance.

A precisão das estimativas dos parâmetros PK foi inferior a 30% para os parâmetros estruturais, efeitos aleatórios, erro residual e correlações. As observações versus previsões (Figura 1) não revelam nenhuma especificação incorreta. O gráfico pc-VPC (Figura 2) indicou um bom desempenho preditivo do modelo. Pode-se observar que a tendência mediana e a dispersão das observações parecem ser satisfatoriamente previstas pelo modelo. No geral, os percentis 2,5, 50 e 97,5 das concentrações observadas estavam dentro do intervalo de confiança previsto de 95% desses percentis.

Figura 1. Previsões observadas *versus* individuais

Legenda: Relação entre os valores observados e preditos, representada pela linha de identidade ($y = x$, linha preta) e pela curva de ajuste tipo spline (linha laranja). A faixa tracejada indica o intervalo de predição de 90%.

Figura 2. Verificação preditiva visual corrigida por previsão (pcVPC) para concentrações de da nanopartículas de cloxacilina benzatina via subcutânea.



Legenda: Distribuição dos percentis empíricos (linha contínua), intervalos de predição (áreas em azul e rosa), percentis preditos (linha tracejada) e dados observados (pontos) ao longo do tempo.

4. Discussão

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024), a cloxacilina é classificada como um antimicrobiano de alta importância, mas não criticamente importante para a saúde humana, portanto, este grupo deveria ser utilizado prioritariamente antes que os grupos das fluoroquinolonas e das cefalosporinas de 3ª geração, ressaltando assim a necessidade de explorar a ampliação de uso desta molécula na medicina veterinária.

Neste estudo, desenvolveu-se um modelo farmacocinético para cloxacilina nanoestruturada administrada pela via subcutânea em caprinos saudáveis. A partir da construção deste modelo foi possível estabelecer quais parâmetros melhor se ajustam para este tipo de fármaco. Esses achados contribuem para o embasamento de estudos futuros que visem estabelecer protocolos terapêuticos utilizando as nanopartículas de cloxacilina em infecções bacterianas importantes para esta espécie.

A utilização de modelagem para este tipo de estudo já é bem consolidada na medicina humana, principalmente para antimicrobianos (Veiga e Paiva, 2018), sendo o uso de modelos computacionais uma das estratégias de combate à resistência aos antimicrobianos, estipulada

pela OMS. Na medicina veterinária os modelos são utilizados para avaliar o comportamento cinético de diferentes classes de fármacos em uma ampla gama de espécies animais (Félix et al., 2024).

Os modelos farmacocinéticos descrevem a relação entre a administração de um fármaco e sua concentração no organismo ao longo do tempo, visando representar os processos de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (ADME) (Mould e Upton, 2013). Na abordagem compartimental, o organismo é modelado como um sistema composto por um ou mais compartimentos teóricos, sem correspondência direta com estruturas anatômicas ou fisiológicas (Mi *et al.*, 2022). Esses modelos podem ser de um, dois ou múltiplos compartimentos.

Nos modelos compartimentais, os principais parâmetros farmacocinéticos são: a constante de absorção (K_a), o volume de distribuição (V_d) e o clearance (Cl), que representam, respectivamente, a velocidade de absorção, a extensão da distribuição tecidual e a taxa de eliminação do fármaco (Fan e Lannoy, 2014).

Atualmente a literatura científica envolvendo a administração parenteral de Cloxacilina em caprinos é muito limitada, o que dificulta a definição de protocolos terapêuticos específicos para essas espécies. Nesse contexto, estudos que estabeleçam a farmacocinética da cloxacilina tanto em formulações convencionais quanto em nanopartículas ocasiona uma contribuição relevante, fornecendo dados que podem ser utilizados como referência comparativa na avaliação de novas formulações ou estratégias terapêuticas.

Estudos anteriores utilizando a mesma nanopartícula de cloxacilina realizados por (Almeida *et al.*, 2025) avaliaram os parâmetros farmacocinéticos em animais infectados por *C. pseudotuberculosis* e sua quantificação no plasma e em abscessos. O conhecimento do comportamento farmacocinético das nanopartículas de cloxacilina em animais saudáveis, faz parte de uma das etapas para desenvolvimento de um novo medicamento e seus dados podem ser utilizados para integração PK/PD (Félix *et al.*, 2023).

No presente estudo, a concentração plasmática de cloxacilina nanoestruturada foi adequadamente predita pelo modelo farmacocinético proposto. Assim como no modelo descrito por (ALMEIDA *et al.*, 2025) a formulação de cloxacilina foi bem representada por um modelo de um compartimento. No entanto, o modelo aqui desenvolvido incorporou parâmetros adicionais, como o tempo médio de trânsito (MTT), taxa de trânsito (K_{tr}), constante de absorção (k_a) e depuração (Cl), a fim de captar com maior precisão o comportamento da cloxacilina nanoestruturada. O parâmetro de tempo médio de trânsito (MTT), obtiveram-se valores de (Mtt_pop 0,235 horas), foi aplicado ao modelo de forma a considerar o tempo gasto em que as

nanopartículas levam para transitar até o momento que atinjam a circulação sistêmica, sendo necessário considerar este fator para fármacos que possuam absorção lenta ou controlada, como no caso de algumas nanoformulações. Os valores obtidos de taxa de trânsito (K_{tr_pop} h^{-1}) 3,727 permitiu uma melhor estimativa de ajuste do modelo ao perfil real de liberação e absorção das nanopartículas que são influenciadas por características da formulação. Quanto aos parâmetros de k_a , clearance e volume, foram estimados os valores de: Volume do compartimento (V_{pop}) 1,567 L/kg; Clearance (Cl_{pop}) 0,581 L/kg/h e constante de absorção (k_{a_pop}) 3,358. As covariáveis de peso não apresentaram resultados significativos.

O sucesso terapêutico de uma antibioticoterapia depende de múltiplos fatores, incluindo as características farmacológicas da molécula, a susceptibilidade do agente infeccioso ao princípio ativo selecionado e a capacidade do fármaco de atingir o sítio da infecção em concentrações eficazes e pelo tempo necessário (Félix *et al.*, 2024). No caso da cloxacilina, assim como ocorre com outras penicilinas, como a penicilina G cristalina, a meia-vida curta limita sua permanência no organismo. Para contornar essa limitação, desenvolveram-se formulações associadas a sais como benzatina e procaína, que reduzem a solubilidade da molécula e promovem uma liberação mais lenta no local da aplicação (Petri, 2015).

Moléculas livres de antibióticos, como aquelas presentes em formulações convencionais de cloxacilina, podem reentrar na circulação sistêmica. É sabido que o tamanho das partículas interfere significativamente nesses processos. De acordo com Swartz nanopartículas com diâmetro entre 10 e 100 nm são capazes de atingir o interstício celular após administração subcutânea, permitindo o acesso ao sistema linfático e a células dendríticas (DCs) residentes nos linfonodos (Scott *et al.*, 2001). Por outro lado, partículas com tamanho superior a 100 nm tendem a ser fagocitadas por células apresentadoras de antígenos periféricas, sendo que as DCs localizadas na periferia apresentam maior afinidade por partículas com tamanho entre 100 e 200 nm.

Diversos estudos vêm sendo realizados comparando a eficácia da formulação convencional de cloxacilina benzatina e de nanopartículas carregadas com cloxacilina. A cloxacilina em nanopartículas apresentou resultados promissores no tratamento de mastite bovina por *Staphylococcus aureus* e ceratoconjuntivite bovina por *Moraxella bovis*, com maior penetração celular, melhor adesão às mucosas e redução na frequência de aplicações (Fonseca *et al.*, 2020). Além disso, estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem sua eficácia frente à *C. pseudotuberculosis*, com alta viabilidade de macrófagos, redução significativa da carga bacteriana e maior concentração e meia-vida do fármaco nos abscessos, indicando liberação prolongada e direcionada ao sítio da infecção (Almeida *et al.*, 2025).

Outro trabalho realizado por Lacombe (2020) realizado usando culturas de *Staphylococcus aureus* intracelular, com foco em cepas resistentes que habitam dentro de células como macrófagos e epitélio, obteve resultados que demonstrou que as nanopartículas de cloxacilina tem capacidade superior de eliminar bactérias intracelulares, reduzindo significativamente a colônia de *S. aureus* em comparação à formulação livre.

A cloxacilina apresenta atividade contra uma ampla gama de bactérias, conforme demonstrado na base de dados da EUCAST, *Antimicrobial Wild-Type Distributions of Microorganisms* (<https://mic.eucast.org/search>). Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) para patógenos de interesse incluem: *Staphylococcus aureus* (0,03 – 1 µg/ml), *Staphylococcus pseudintermedius* (0,25 – 22 µg/ml), *Streptococcus agalactiae* (0,125 – 2 µg/ml), *Streptococcus uberis* (0,016 – 2 µg/ml) e *Streptococcus dysgalactiae* (0,06 – 0,25 µg/ml).

Entre as doenças sistêmicas que acometem caprinos, destaca-se a pneumonia, na qual *Staphylococcus aureus* foi identificado como o agente bacteriano mais prevalente (RAJASHEKAR et al., 2023). Apesar do avanço da resistência antimicrobiana — especialmente a resistência de *S. aureus* e outras espécies de *Staphylococcus* à meticilina — ainda há cepas sensíveis a fármacos betalactâmicos, como a cloxacilina (Tsirigotaki et al., 2022). Além disso, estudos relatam a ocorrência de enfermidades causadas por espécies do gênero *Streptococcus*, como poliartrite e mastite subclínica em caprinos (Blanchard e Fiser, 1994; Shi et al., 2023).

No contexto das nanopartículas de cloxacilina, uma estratégia relevante seria a integração dos parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos (PK/PD) com os valores de concentração inibitória mínima (MIC) de bactérias potencialmente suscetíveis à cloxacilina, presente nas afecções mencionadas anteriormente. Tal abordagem permitiria avaliar a viabilidade terapêutica da formulação frente a microrganismos-alvo, especialmente em cenários que demandem liberação sustentada do fármaco, contribuindo para a otimização de regimes de dose com base em índices PK/PD críticos como $\%fT > MIC$ (Félix et al., 2023). Ademais, estes dados possibilitam a realização de outros ensaios *in vivo* para determinação de eficácia e segurança desta formulação para tratamento de linfadenite caseosa, pneumonia, mastite subclínica e outras doenças.

Dessa forma, os resultados obtidos representam um avanço significativo na aplicação da nanotecnologia à medicina veterinária, promovendo o uso estratégico de antimicrobianos menos críticos à saúde humana, em consonância com as diretrizes da OMS para o combate à resistência antimicrobiana. Estudos futuros devem contemplar a avaliação da eficácia clínica

da formulação em animais acometidos por infecções naturais, bem como a validação dos índices PK/PD frente a diferentes agentes etiológicos.

5. Conclusão

O presente estudo caracterizou, pela primeira vez, o perfil farmacocinético de cloxacilina benzatina nanoestruturada administrada por via subcutânea em caprinos saudáveis, por meio de modelagem não linear de efeitos mistos. Os achados deste estudo fornecem subsídios importantes para o desenvolvimento racional de regimes terapêuticos com base em nanoformulações, destacando o potencial da cloxacilina nanoestruturada no tratamento de infecções bacterianas importantes nesta espécie.

Conflito de Interesses

Todos os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Declaração de Bem-Estar e Ética Animal

Os autores confirmam que as políticas éticas da revista, conforme observado na página de diretrizes para autores da revista, foram respeitadas.

Confirmações

Os autores agradecem às instituições financiadoras Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (448011/2014-0), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA (SEG 20.20.03.002.00.00), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Funcap (BP5-0197-00148.01.00/22) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (APQ-01168-21) pelas bolsas concedidas a alunos de graduação e pós-graduação, e para o financiamento de projetos do nosso grupo de pesquisa.

Declaração de contribuição

Lillian Pereira Gouvêia: Metodologia, Análise formal, Redação - Rascunho original, Visualização e Administração do projeto. **Lucas Wamser Fonseca Gonzaga:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Sibely Aiva Flores:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Danielle Cinelli dos Santos Pinto:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Larissa Alexandra Félix:** Metodologia, Redação - Rascunho Original. **Michelle D. Almeida Loures:** Curadoria de Dados e Recursos. **Patrícia Yoshida Faccioli Martins:** Redação - Revisão e Edição. **Humberto de Mello Brandão:** Redação - Revisão e Edição. **Marcos Ferrante:** Conceituação, Redação - Revisão e Edição e Supervisão.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados que sustentam os achados deste estudo estão disponíveis no material suplementar deste artigo.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Painel de Limite Máximo de Resíduos para produtos de origem animal**. 2025. Disponível em:

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjojOTg4Nzk2ZTItNjE5Yy00MDRhLWFkOGMtMjdiMGY5NWE4NjVjIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>. Acesso em: 15 out. 2025.

ARAÚJO, R. S.; GARCIA, G. M.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; OLIVEIRA, L. A. M.; KANO, E. K.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P. E.; BRANDÃO, H. M.; MOSQUEIRA, V. C. F. **Cloxacillin benzathine-loaded polymeric nanocapsules: Physicochemical characterization, cell uptake, and intramammary antimicrobial effect**. *Materials Science and Engineering C*, v. 104, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110006>

BAIRD, G. J.; MALONE, F. E. **Control of caseous lymphadenitis in six sheep flocks using clinical examination and regular ELISA testing**. *Veterinary Record*, v. 166, n. 12, p. 358–362, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1136/VR.B4806>

BLANCHARD, P. C.; FISER, K. M. **Streptococcus dysgalactiae polyarthritis in dairy goats**. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 5, p. 739–741, 1994. DOI: <https://doi.org/10.2460/JAVMA.1994.205.05.739>

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Painel de indicadores de produtos farmacêuticos**. 2025. Disponível em: https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Produtos_Farmacuticos/Produtos_Farmacuticos.html. Acesso em: 15 out. 2025.

BUCKLEY, M. P.; HAYMAN, K. P.; BURNS, L.; SCHRUNK, D.; GORDEN, P. J. **Pharmacokinetics of long-acting cephapirin and cloxacillin after intramammary administration in dairy goats**. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 47, n. 5, p. 396–402, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/JVP.13445>

CRAIG, W. A. **Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β -lactams, glycopeptides, and linezolid**. *Infectious Disease*

Clinics of North America, v. 17, n. 3, p. 479–501, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(03\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(03)00065-5)

DE ALMEIDA, J. V. F. C.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; FERRANTE, M.; MONTEIRO, J. P.; PINHEIRO, R. R.; LIMA, A. M. C.; GERN, J. C.; MOSQUEIRA, V. C. F.; IBARRA, M.; DE ALMEIDA LOURES, M. D.; GUIMARÃES, I. B.; DE CARVALHO ONORATO, G.; DE SÁ GUIMARÃES, A.; DE MELLO BRANDÃO, H. **In vitro infection model in primary macrophages and in vivo evaluation of benzathine cloxacillin nanoparticles for the treatment of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats.** *Small Ruminant Research*, v. 251, 107561, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SMALLRUMRES.2025.107561>

DE ASSIS, D. N.; MOSQUEIRA, V. C. F.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; CARDOSO, V. N. **Release profiles and morphological characterization by atomic force microscopy and photon correlation spectroscopy of 99mTechnetium-fluconazole nanocapsules.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 349, n. 1–2, p. 152–160, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2007.08.002>

FAN, J.; DE LANNOY, I. A. M. **Pharmacokinetics.** *Biochemical Pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 93–120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2013.09.007>

FELIX, L. A.; EGITO, B. M.; SUÁREZ, G.; FERRANTE, M. **Optimization of antibiotic dosing regime through pharmacokinetics/pharmacodynamics integration: a review.** *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, v. 35, n. 3, p. 25975, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v35i3.25975>

FELIX, L. A.; GONZAGA, L. W. F.; SOARES, B. C. F.; SUÁREZ, G.; BRANDÃO, H. M.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; FERRANTE, M. **PK/PD integration for intramuscular dose determination of intramuscular sodium cloxacillin for infections caused by *Staphylococcus spp* in goat.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 75, n. 6, p. 1087–1096, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12944>

FONSECA, M. D. M.; MAIA, J. M. S.; VARAGO, F. C.; GERN, J. C.; CARVALHO, W. A.; SILVA, S. R.; MOSQUEIRA, V. C. F.; BRANDÃO, H. M.; GUIMARÃES, A. S. **Cloxacillin nanostructured formulation for the treatment of bovine keratoconjunctivitis.** *Veterinary and Animal Science*, v. 9, 100089, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.VAS.2020.100089>

KIETZMANN, M.; NIEDORF, F.; GOSELLIN, J. **Tissue distribution of cloxacillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder.** *BMC*

Veterinary Research, v. 6, p. 46, 2010. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/46>. Acesso em: 15 out. 2025.

KONDAMPATI, K. D.; SAINI, S. P. S.; SIDHU, P. K.; ANAND, A.; KUMAR, D.; SRINU, B.; BEDI, J. S.; KAUR, R.; BHARDWAJ, R. **Pharmacokinetic-pharmacodynamic study of ampicillin-cloxacillin combination in Indian thoroughbred horses (*Equus caballus*) and safety evaluation of the computed dosage regimen.** *SSRN Electronic Journal*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2139/SSRN.4076942>

LACOMA, A.; USÓN, L.; MENDOZA, G.; SEBASTIÁN, V.; GARCIA-GARCIA, E.; MURIEL-MORENO, B.; DOMÍNGUEZ, J.; ARRUEBO, M.; PRAT, C. **Novel intracellular antibiotic delivery system against *Staphylococcus aureus*: Cloxacillin-loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) acid nanoparticles.** *Nanomedicine*, v. 15, n. 12, p. 1189–1203, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2217/NNM-2019-0371>

LAVIELLE, M.; RIBBA, B. **Enhanced method for diagnosing pharmacometric models: Random sampling from conditional distributions.** *Pharmaceutical Research*, v. 33, n. 12, p. 2979–2988, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11095-016-2020-3>

LEID, J. G.; DITTO, A. J.; KNAPP, A.; SHAH, P. N.; WRIGHT, B. D.; BLUST, R.; CHRISTENSEN, L.; CLEMONS, C. B.; WILBER, J. P.; YOUNG, G. W.; KANG, A. G.; PANZNER, M. J.; CANNON, C. L.; YUN, Y. H.; YOUNGS, W. J.; SECKINGER, N. M.; COPE, E. K. **In vitro antimicrobial studies of silver carbene complexes: activity of free and nanoparticle carbene formulations against clinical isolates of pathogenic bacteria.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 67, n. 1, p. 138–148, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/JAC/DKR408>

MAGALHÃES, K. A.; LUCENA, C. C.; FILHO, Z. F. H.; MARTINS, E. C. **Boletim nº 24 – Pesquisa da Pecuária Municipal 2023: rebanhos de caprinos e ovinos.** 2024.

Disponível em:

https://www.embrapa.br/documents/1355090/35052914/Boletim_N%C2%BA24_PPM+2023.pdf/1d547bbd-3198-08d5-3cf0-4552add581bd. Acesso em: 15 out. 2025.

PEDROSO, M. C.; CUMAN, C. A. B. A.; CAPARROZ-ASSEF, S. M. **Penicillin G benzathine: characteristic of prescription and use in community pharmacy.**

ResearchGate, 2001. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/277118684_Penicilina_G_benzatina_caracteristicas_de_prescricao_e_uso_na_farmacia_comunitaria/fulltext/559de9de08ae76bed0bb4fd0/Penicilina-G-benzatina-caracteristicas-de-prescricao-e-uso-na-farmacia-comunitaria.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

MAURICIO, A.; FONSECA, T. **Desenvolvimento e validação de método analítico por espectrometria de massas para quantificação de cloxacilina nanoencapsulada em plasma bovino.** Ouro Preto, 2018. Disponível em: www.sisbin.ufop.br. Acesso em: 15 out. 2025.

MEDICINES AGENCY, EUROPEAN. **Guideline on the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species.** 2023. Disponível em: www.ema.europa.eu/contact. Acesso em: 15 out. 2025.

MI, K.; ZHOU, K.; SUN, L.; HOU, Y.; MA, W.; XU, X.; HUO, M.; LIU, Z.; HUANG, L. **Application of semi-mechanistic pharmacokinetic and pharmacodynamic model in antimicrobial resistance.** *Pharmaceutics*, v. 14, n. 2, p. 246, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14020246>

MINOZZI, G.; MATTIELLO, S.; GROSSO, L.; CREPALDI, P.; CHESSA, S.; PAGNACCO, G. **First insights in the genetics of caseous lymphadenitis in goats.** *Italian Journal of Animal Science*, v. 16, n. 1, p. 31–38, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1250610>

MOULD, D. R.; UPTON, R. N. **Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development—Part 2: Introduction to pharmacokinetic modeling methods.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 2, n. 4, e38, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/PSP.2013.14>

NGUYEN, T. H. T.; MOUKSASSI, M. S.; HOLFORD, N.; AL-HUNITI, N.; FREEDMAN, I.; HOOKER, A. C.; JOHN, J.; KARLSSON, M. O.; MOULD, D. R.; PEREZ RUIXO, J. J.; PLAN, E. L.; SAVIC, R.; VAN HASSELT, J. G. C.; WEBER, B.; ZHOU, C.; COMETS, E.; MENTRE, F. **Model evaluation of continuous data pharmacometric models: Metrics and graphics.** *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, v. 6, n. 2, p. 87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/PSP4.12161>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana**. 6. ed. 2019. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/331531>. Acesso em: 15 out. 2025.

PELGRIFT, R. Y.; FRIEDMAN, A. J. **Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance**. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 65, n. 13–14, p. 1803–1815, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2013.07.011>

RAJASHEKAR, B.; SHIVAJYOTHI, J.; REDDY, Y. N.; PUTTY, K. **Characterization of bacterial pathogens involved in pneumonia of sheep and goats**. *Indian Journal of Small Ruminants*, v. 29, n. 1, p. 89–93, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2023.00003.X>

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. D.; MONFERRER, D.; PENON, O.; RIVERA-GIL, P. **Regulatory pathways and guidelines for nanotechnology-enabled health products: A comparative review of EU and US frameworks**. *Frontiers in Medicine*, v. 12, 1544393, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMED.2025.1544393>

SAVIC, R. M.; KARLSSON, M. O. **Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: Problems and solutions**. *AAPS Journal*, v. 11, n. 3, p. 558–569, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1208/S12248-009-9133-0>

SCOTT, L. S.; SEABAUGH, M. M.; HOLT, C. T.; DAWSON, W. J. **Fuel processing catalysts based on nanoscale ceria**. *Fuel Cells Bulletin*, v. 4, n. 30, p. 7–10, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1464-2859\(01\)80039-0](https://doi.org/10.1016/S1464-2859(01)80039-0)

SHI, H.; ZHOU, M.; ZHANG, Z.; HU, Y.; SONG, S.; HUI, R.; WANG, L.; LI, G.; YAO, L. **Molecular epidemiology, drug resistance, and virulence gene analysis of *Streptococcus agalactiae* isolates from dairy goats in backyard farms in China**. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 1049167, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.1049167>

UNDERWOOD, C.; VAN EPS, A. W. **Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality**. *The Veterinary Journal*, v. 193, n. 1, p. 12–23, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2012.01.002>

USMAN, M.; KHADKA, S.; SALEEM, M.; RASHEED, H.; KUNWAR, B.; ALI, M. **Pharmacometrics: A new era of pharmacotherapy and drug development in low- and**

middle-income countries. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/3081422>

UZAL, F. A.; KELLY, W. R. **Experimental Clostridium perfringens type D enterotoxemia in goats.** *Veterinary Pathology*, v. 35, n. 2, p. 132–140, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098589803500207>

VEIGA, R. P.; PAIVA, J. A. **Pharmacokinetics–pharmacodynamics issues relevant for the clinical use of beta-lactam antibiotics in critically ill patients.** *Critical Care*, v. 22, n. 1, p. 233, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/S13054-018-2155-1>

YOUSSEF, F. S.; EL-BANNA, H. A.; ELZORBA, H. Y.; GALAL, A. M. **Application of some nanoparticles in the field of veterinary medicine.** *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 7, n. 1, p. 78–93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1691379>