

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**RELATÓRIO FINAL DO ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO DO CURSO DE
MEDICINA VETERINÁRIA, REALIZADO JUNTO À BIOFARM QUÍMICA E
FARMACÊUTICA, JABOTICABAL - SP**

Caso de interesse: Avaliação da depleção de resíduos de dexametasona em tecidos de suínos após tratamento com o produto Dexametasona Biofarm, administrado por via intramuscular.

Discente: Geovana Coelho Ferreira

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**RELATÓRIO FINAL DO ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO DO CURSO DE
MEDICINA VETERINÁRIA, REALIZADO JUNTO À BIOFARM QUÍMICA E
FARMACÊUTICA, JABOTICABAL - SP**

Caso de interesse: Avaliação da depleção de resíduos de dexametasona em tecidos de suínos após tratamento com o produto Dexametasona Biofarm, administrado por via intramuscular.

Discente: Geovana Coelho Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de
Jaboticabal, para obtenção de título de
bacharel em Medicina Veterinária.

JABOTICABAL – SP
2º SEMESTRE DE 2024

F383r	<p>Ferreira, Geovana Coelho</p> <p>Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de medicina veterinária, realizado junto à Biofarm Química e Farmacêutica, Jaboticabal - SP : Caso de interesse: Avaliação da depleção de resíduos de dexametasona em tecidos de suínos após tratamento com o produto Dexametasona Biofarm, administrado por via intramuscular. / Geovana Coelho Ferreira. -- Jaboticabal, 2024</p> <p>52 p. : tabs., fotos</p> <p>Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientadora: Annelise Carla Camplesi</p> <p>1. Suíno. 2. Estudo Clínico. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

AGRADECIMENTOS

Cursar Medicina Veterinária foi uma jornada que me levou além do que jamais imaginei viver. Foram seis anos muito intensos, de muitas lutas, estudos, aprendizados e vitórias. Nesse tempo, pude contar com uma incrível rede de apoio, além de conhecer pessoas durante minha jornada na graduação que tornaram minha formação possível.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, Agueda e Geraldino, que sempre me incentivaram nos momentos difíceis, me apoiaram nas minhas decisões e se dedicaram ao máximo para dar uma educação de qualidade a mim e à minha irmã.

À minha irmã, Heloisa, por sempre ter me ajudado e por ser minha companheira e amiga durante minha vida toda.

À Alessandra Afonso, que além de minha professora foi uma grande amiga nos últimos anos, me apoiou e ajudou a realizar meus sonhos.

Às minhas amigas Júlia, Lara, Anna e Iuna, sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui.

Ao professor Luís Guilherme, por ter sido o meu orientador e por ter me dado inúmeras oportunidades durante a graduação.

À professora Annelise, por ter aceito me orientar durante o meu estágio curricular obrigatório.

A todos do Laboratório de Medicina de Suínos, especialmente à Marina e à Karina, por serem grandes inspirações de mulheres pesquisadoras, além de me auxiliarem sempre que precisei.

Agradeço à oportunidade dada pela BIOFARM – Química e Farmacêutica, principalmente à Sabrina Nogueira, que me supervisionou durante o estágio.

*“Há algo de bom neste mundo
e vale a pena lutar por isso”*

J. R. R. Tolkien

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
I. RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	12
3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	13
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
II. MONOGRAFIA: AVALIAÇÃO DA DEPLEÇÃO DE RESÍDUOS DE DEXAMETASONA EM TECIDOS DE SUÍNOS APÓS TRATAMENTO COM O PRODUTO DEXAMETASONA BIOFARM, ADMINISTRADO POR VIA INTRAMUSCULAR.	25
1. RESUMO.....	25
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1 Estudo de depleção de resíduos	25
2.2 Dexametasona	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 Seleção dos animais	29
3.2 Exame Físico.....	32
3.3 Exames Laboratoriais	33
3.4 Dosagem e Tratamento	34
3.5 Observações Gerais de Saúde	35
3.6 Abate dos Animais e Coleta das Amostras	35
3.7 Etapa Analítica	37
3.8 Análise Estatística.....	37
4. RESULTADOS	38
4.1 Exame clínico.....	38
4.2 Exames laboratoriais.....	40
4.3 Cálculo do Período de Carência	43
5. DISCUSSÃO.....	47
6. CONCLUSÃO.....	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Recepção da BIOFARM, localizada na Avenida João Batista Ferraz Sampaio, Jaboticabal - SP. Fonte: Google Imagens.

Figura 2: Participação no Tour Simbiose com outros colaboradores. Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 3: A: Ovinos de estudo clínico em baia adequada para espécie, com a presença de alimento e água. B: Conferência da dose com o animal pertencente ao estudo clínico. Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 4: Sala dos arquivos do setor de Assuntos Regulatórios. Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 5: Organização de dossiês para renovação de registro em Honduras. Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 6: Animais da espécie suína pertencentes ao estudo e alojados em baia de alvenaria, higienizadas, sem acúmulo de fezes e sujidades. Fonte: Science Vet.

Figura 7: Ração comercial para suínos distribuída em cocho coletivo. Fonte: Science Vet.

Figura 8: Animal pertencente ao estudo no momento do tratamento com aplicação da Dexametasona Biofarm por via intramuscular na região da tábua do pescoço. Fonte: Science Vet.

Figura 9: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz músculo. Fonte: Science Vet.

Figura 10: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz fígado. Fonte: Science Vet.

Figura 11: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz rim. Fonte: Science Vet.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Referências técnicas utilizadas durante o estágio.

Tabela 2: Legislações vigentes, utilizadas durante o estágio.

Tabela 3: Fichas Técnicas de produtos que foram realizadas durante o estágio, com suas respectivas classificações farmacêuticas.

Tabela 4: Dados dos pesos (D-7), sexo, idade e raça dos suínos do estudo.

Tabela 5: Randomização e momentos de abate dos grupos experimentais.

Tabela 6: Parâmetros físicos avaliados no D-7 e determinação dos escores e faixas de normalidade.

Tabela 7: Peso no momento D-1, volumes calculados e administrados do produto Dexametasona Biofarm.

Tabela 8: Valores de Limite Máximo de Resíduo (LMR) em tecidos estabelecido pela ANVISA, para a Dexametasona.

Tabela 9: Parâmetros clínicos dos animais utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Tabela 10: Parâmetros laboratoriais dos eritrogramas (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina, corpuscular média) e quantificação de plaquetas dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Tabela 11: Parâmetros laboratoriais da contagem total de leucócitos (bastonetes, segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Tabela 12: Parâmetros laboratoriais da avaliação bioquímica (albumina, aspartato aminotransferase (AST), creatinina, fosfatase alcalina, proteína total e ureia) dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Tabela 13: Resultado analítico da concentração de dexametasona ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas matrizes músculos, fígado e rim de suínos.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST – Aspartato Aminotransferase

BAS - Basófilos

BAST - Bastonetes

CEUA - Comitê de Ética do Uso de Animais

CHCM - Concentração De Hemoglobina Corpuscular Média

CRO – Contract Research Organizations

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetracético Dissódico

EMA – European Medicines Agency's

EOS - Eosinófilos

FA – Fosfatase Alcalina

HB - Hemoglobina

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

HE – Hemácias

HT – Hematócrito

IFA- Insumos Farmacêuticos Ativos

IN – Instrução Normativa

LE – Leucócitos Totais

LINF - Linfócitos

LMR – Limite Máximo de Resíduo

LQ – Limite de Quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura e Pecuária

MON - Monócitos

OGS - Observações Gerais de Saúde

PAMVet - Programa de Análise de Resíduo de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal

PD&I – Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação

PT – Proteína Total

SAC – Serviço de Atendimento ao Cidadão

SEG - Segmentados

SIPEAGRO - Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários

TPC – Tempo de Preenchimento Capilar

TR – Temperatura Retal

VCM - Volume Corpuscular Médio

VICH – Cooperação Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Registro de Medicamentos Veterinários.

I. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

1. INTRODUÇÃO

Este relatório descreve as atividades exercidas por Geovana Coelho Ferreira, graduanda do curso de Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV - Unesp Campus de Jaboticabal, durante a realização do estágio curricular obrigatório para a conclusão do curso.

O estágio foi realizado na BIOFARM - Química e Farmacêutica, localizada em Jaboticabal-SP. Foi realizado sob a orientação da Prof. Dra. Annelise Carla Camplesi, docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV - Unesp Campus de Jaboticabal, com supervisão da Gerente de Assuntos Regulatórios da BIOFARM, a Médica Veterinária Sabrina Nathalia Louzada Nogueira. O estágio ocorreu durante o período de 04 de março a 26 de julho de 2024, totalizando 600 horas.

O objetivo do estágio foi obter experiência e conhecimento na área da Indústria Farmacêutica Veterinária através do acompanhamento das atividades de profissionais veterinários de Assuntos Regulatórios, possibilitando aprimorar os conceitos de Farmacologia Veterinária, estudos clínicos e aprender sobre as legislações do MAPA, relacionadas ao licenciamento de medicamentos veterinários.

2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

A BIOFARM - Química e Farmacêutica é uma empresa brasileira, fundada em Jaboticabal há 30 anos. Possui atuação em todo o território nacional e, desde 2006, iniciou a exportação dos seus produtos para países da América Latina, América Central, Ásia e África. É uma empresa com catálogo de produtos completo, que possui linhas de medicamentos para animais de companhia, aves, equinos, suínos, bovinos, caprinos e ovinos. Está continuamente investindo em tecnologia e inovação para melhor atender o mercado de saúde animal. O estabelecimento possui licença para a realização das atividades de fabricação, exportação, importação e controle de qualidade de produtos veterinários.

São produzidos medicamentos das classes de anti-inflamatórios, analgésicos, antimicrobianos, antiparasitários (endoparasiticidas e ectoparasiticidas), antitóxicos, antissépticos, diuréticos, hormônios e estimulantes orgânicos. Além disso, também há a

fabricação de produtos da alimentação animal, como suplementos vitamínicos, minerais e repositores eletrolíticos.

Atualmente, a empresa conta com 213 colaboradores, divididos em diversas áreas e em dois turnos, de forma com que o setor de produção esteja sempre funcionando. A indústria está localizada na Avenida João Batista Ferraz Sampaio, 710, Bom Jesus, Jaboticabal - SP (Figura 1) e possui horário de funcionamento de segunda à sexta-feira, das 7h30 às 17h30. A empresa possui duas recepções, a primeira destinada à diretoria e visitantes e a segunda, utilizada para a entrada dos colaboradores.

As atividades do estágio, descritas neste relatório, foram desenvolvidas principalmente na sala de trabalho do Departamento de Assuntos Regulatórios.



Figura 1: Recepção da BIOFARM, localizada na Avenida João Batista Ferraz Sampaio, Jaboticabal - SP. Fonte: Google Imagens.

3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O estágio foi realizado de segunda à sexta-feira, das 7h30 às 13h45, com 15 minutos de intervalo para descanso. As atividades diárias consistiram no acompanhamento e auxílio de três médicas veterinárias e uma bióloga do Departamento de Assuntos Regulatórios.

O Departamento de Assuntos Regulatórios é o setor dentro da empresa farmacêutica veterinária responsável pelas atividades relacionadas à regulamentação da empresa e dos produtos veterinários frente ao Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) e demais órgãos regulatórios. Além disso, o setor trabalha em conjunto com diversas áreas, como por exemplo,

junto ao Departamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) no auxílio de pesquisas, revisões de literatura e ideias para a criação de novos produtos; auxiliam também o setor de marketing com a correção de documentos técnicos e artes dos medicamentos; e realizam a triagem e atendimento do Serviço de Atendimento ao Cidadão (SAC).

A equipe do Departamento de Assuntos Regulatórios é responsável pelas demandas relacionadas à coordenação dos testes clínicos dos fármacos veterinários. Assim, é realizado o contato com as Contract Research Organizations (CROs) e ocorre a elaboração, de forma conjunta, dos protocolos de execução de estudos clínicos. Posteriormente, há o acompanhamento da etapa a campo dos projetos através de monitorias e, por fim, a correção dos relatórios finais.

Os estudos clínicos veterinários se destinam a cumprir os requisitos do dossiê para o pedido de autorização de registro ou renovação de um medicamento. Eles são divididos em estudos de segurança, eficácia e de depleção de resíduos. Os estudos de segurança avaliam possíveis efeitos adversos e a margem de segurança de um fármaco, assim como avaliam o uso do mesmo em diferentes estados fisiológicos do animal (prenhez, lactação, animais idosos, adultos e jovens). Os estudos de eficácia são realizados com a comparação de grupos tratado e controle, para a avaliação da eficácia do fármaco frente a um desafio. Por fim, os estudos de depleção de resíduos são realizados em animais de produção para a determinação do período de carência para o consumo da carne e leite após a utilização do medicamento.

O estágio se iniciou com a participação no Programa Simbiose, que é um tour realizado na empresa, passando por todos os setores, produtivos e administrativos, durante a manhã. Este programa tem como objetivo estimular a comunicação e a integração direta entre colaboradores de todas as áreas, fortalecendo a troca de informações e as experiências sobre processos e resultados do negócio (Figura 2).



Figura 2: Participação no Tour Simbiose com outros colaboradores. Fonte: Arquivo Pessoal.

Durante a visita foi possível conhecer toda a estrutura produtiva, com as salas de mistura, envase e rotulagem, a parte técnica, composta pelos setores de gestão de qualidade (físico-química e microbiológica), garantia da qualidade, PD&I e assuntos regulatórios; o tour finalizou com a visita aos setores administrativos.

Posteriormente, foram instruídas leituras das legislações vigentes mais relevantes do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), diretrizes da Cooperação Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Registro de Medicamentos Veterinários (VICH), diretrizes do Comitê de Medicamentos para Uso Veterinário da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e da Agência Nacional de Segurança Sanitária (ANVISA), que estão demonstrados na Tabela 1. Além disso, foram estudadas as normativas vigentes para produtos veterinários e alimentação animal (Tabela 2).

Tabela 1: Referências técnicas utilizadas durante o estágio.

Assunto	Referência técnica
Boas Práticas Clínicas	VICH GL9 – Good Clinical Practice EMA/CVMP/EWP/81976/2010 – Guideline on statistical principles for clinical trials for veterinary medicinal products (pharmaceuticals)
Depleção de Resíduos	EMA/CVMP/SWP/735325/2012 - Guideline on determination of withdrawal periods for edible tissue EMEA/CVMP/473/98-FINAL – Note for guidance for the determination of withdrawal periods for milk EMEA/CVMP/036/95-FINAL – Note for guidance: Approach towards harmonization of withdrawal periods EMEA/CVMP/187/00-FINAL – Note for guidance on the risk analysis approach for residues of veterinary medicinal products in food of animal origin

	VICH GL48 – Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food producing animals: marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods
Eficácia	<p>EMA/CVMP/016/2000-REV.3 – Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products</p> <p>EMA/CVMP/344/1999 REV. 2 – Guideline for the conduct of efficacy studies for intramammary products for use in cattle</p> <p>EMA/CVMP/EWP-1061-2001 – Guideline for the conduct of efficacy studies for non-steroidal anti-inflammatory drugs</p> <p>EMA/CVMP/EWP/206024/2011 – Guideline on the demonstration of palatability of Veterinary medicinal products</p> <p>EMA/CVMP/EWP/459868/2008 – Guideline on demonstration of target animal safety and efficacy of veterinary medicinal products intended for use in farmed finfish</p> <p>EMEA/CVMP/133/99 FINAL – Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species</p> <p>VICH GL52 – Bioequivalence: blood level bioequivalence study</p>
Segurança	<p>VICH GL43 – Target animal safety for veterinary pharmaceutical products</p> <p>EMA/CVMP/EWP/459868/2008 – Guideline on demonstration of target animal safety and efficacy of veterinary medicinal products intended for use in farmed finfish</p>
Validação de Métodos Analíticos	<p>VICH GL49 – Studies to evaluate the metabolism and residues kinetics of veterinary drugs in human food-producing animals: validation of analytical methods used in residue depletion studies</p> <p>RDC nº 27, de 17 de maio de 2012 - ANVISA – Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos</p>

Roteiros MAPA	<p>Análise de Relatório de Partida Piloto ou Comercial – Produto Farmacêutico</p> <p style="text-align: center;">Análise Prévia – Triagem</p> <p style="text-align: center;">Estudo de Depleção de Resíduo – Etapa Analítica e Validação</p> <p>Estudo de Estabilidade – Etapa Analítica e Validação de Método Analítico</p> <p>Estudo de Depleção de Resíduos – Etapa Clínica e Conclusão – Matriz Tecidos</p> <p>Estudos de Eficácia Antimicrobiana – Determinação da Concentração Inibitória</p> <p style="text-align: center;">Mínima de Bactérias</p> <p>Estudos de Eficácia Antimicrobiana – Estudo Controlado com Infecção</p> <p style="text-align: center;">Artificial</p> <p>Estudos de Eficácia Antimicrobiana – Estudo Controlado com Infecção Natural</p> <p style="text-align: center;">Estudo de Eficácia Antiparasitária</p> <p>Estudo de Eficácia Geral – Produtos não Antimicrobianos ou Antiparasitários</p> <p style="text-align: center;">Estudo de Segurança na Espécie-Alvo</p>
---------------	--

Tabela 2: Legislações vigentes, utilizadas durante o estágio.

Lei	Descrição
Decreto-Lei nº 467, de 13 de fevereiro de 1969	Dispõe sobre a fiscalização de produtos de uso veterinário, dos estabelecimentos que os fabriquem e dá outras providências.
Instrução Normativa SDA/MAPA nº 37, de 08 de julho de 1999	Estabelece os produtos dispensados de registro.
Instrução Normativa MAPA nº 13, de 3 de outubro de 2003	Aprova o Regulamento de Boas Práticas de Fabricação de Produtos de Uso Veterinário e Glossário.
Instrução Normativa SARC/MAPA nº 13, de 30 de novembro de 2004	Aprova o Regulamento Técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal, segundo as boas práticas de fabricação, contendo os procedimentos sobre avaliação da segurança de uso, registro e comercialização.
Instrução Normativa MAPA nº 11, de 08 de junho de 2005	Estabelece o Regulamento, roteiro e tabela sobre manipulação de produtos veterinários.
Instrução Normativa SDA/MAPA nº 26, de 16 de setembro de 2005	Aprova o Regulamento Técnico para elaboração de partida-piloto de produto de uso veterinário de natureza farmacêutica.
Instrução Normativa MAPA nº 26, de 9 de julho de 2009	Aprova o Regulamento Técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário.

Instrução Normativa SDA/MAPA nº 23, de 22 de dezembro de 2016	Estabelece os critérios e procedimentos necessários para as alterações de registro de produto de uso veterinário de natureza farmacêutica e biológica.
Instrução Normativa SDA/MAPA nº 35, de 11 de setembro de 2017	Estabelece os procedimentos para a comercialização das substâncias sujeitas a controle especial, quando destinadas ao uso veterinário, relacionadas no Anexo I desta Instrução Normativa, e dos produtos de uso veterinário que as contenham.
Portaria SDA/MAPA nº 74, de 11 de junho de 1996	Aprova os roteiros para elaboração de relatórios técnicos visando o registro de produtos biológicos, farmacêuticos, fitoquímicos, e de higiene e/ou embelezamento de uso veterinário.
Portaria SDA/MAPA nº 200, de 22 de janeiro de 2021	Estabelece procedimentos para adequação de registro de produtos de uso veterinário frente à alteração de Limite Máximo de Resíduos - LMR.

O conhecimento das leis e diretrizes, nacionais e internacionais, é crucial dentro do Departamento de Assuntos Regulatórios, pois elas serão a base para garantir que os produtos e as práticas da indústria estejam em conformidade com as regulamentações nacionais e internacionais, possibilitando dessa forma o seu bom funcionamento e a exportação e importação de produtos. Além disso, a adesão às normas internacionais assegura maiores padrões de segurança e qualidade tanto para os produtos como para os estudos realizados pela empresa.

Portanto, foi demonstrado, em treinamento, como encontrar as legislações vigentes do MAPA no website do Ministério e como utilizar o Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários (SIPEAGRO). Este é uma ferramenta para solicitação e acompanhamento dos Processos Administrativos de Fiscalização, que gera relatórios básicos do sistema e emite o certificado de Estabelecimentos e Produtos registrados e/ou cadastrados pelo MAPA, sendo utilizado para o registro e cadastro de Estabelecimentos e Produtos Agropecuários.

Após o conhecimento das leis e diretrizes, foram realizadas atividades junto à médica veterinária responsável pelos estudos clínicos. Foram realizadas correções de relatórios finais de estudos clínicos enviados pelos CROs, com revisão da escrita científica e conferência dos dados brutos e das referências. Também foi possível acompanhar monitorias, realizadas de forma remota e presenciais. As monitorias têm como objetivo o acompanhamento do progresso do estudo clínico e a garantia de que ele está sendo conduzido, registrado e relatado de acordo

com o protocolo, os procedimentos operacionais padrão, as práticas de bem estar animal e as exigências dos órgãos regulatórios.

Durante as monitorias, era realizada a verificação da identificação dos animais, do local em que os mesmos estavam alojados, se havia água e alimento conforme descrito no protocolo e também o estado geral dos animais, se estavam dentro do escore de condição corporal da espécie e se estavam hígidos, não apresentando sinais de doenças (Figura 3A). Depois era verificado, juntamente com a equipe do CRO responsável pelo estudo, os protocolos, a randomização e a pesagem dos animais, além dos documentos de aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA).

Nos dias de administração do medicamento e do placebo, sempre eram verificadas as doses de acordo com o peso dos animais (Figura 3B), e era observado se a administração e a contenção estavam sendo feitas corretamente, seguindo as boas práticas de bem-estar animal. Após o tratamento, eram realizados os exames e as avaliações descritas no protocolo, sendo que estes exames e avaliações variavam de acordo com o fármaco testado. Por exemplo, para produtos destinados à reprodução animal, como hormônios, ocorre uma avaliação mais precisa do sistema reprodutivo das fêmeas; já produtos anti-inflamatórios de uso oral exigem endoscopia para uma melhor avaliação do trato digestivo; por fim, fármacos com aplicação intramuscular, subcutânea e intravenosa exigem avaliação do local de aplicação. Além dos exames específicos, sempre eram realizados os exames físico e de sangue, que incluía hemograma e bioquímico. Todas as avaliações eram realizadas pelos veterinários do CRO.

Após a monitoria, era elaborado um Relatório de Monitoria, contendo as informações do local em que esta foi realizada, data, equipe que participou do estudo, equipe de monitores e o que foi observado durante o acompanhamento do estudo. Caso tenha ocorrido alguma intercorrência, esta deve ser documentada. Por último, era adicionado um anexo ao Relatório Final com as fotos tiradas durante a monitoria.



Figura 3: A: Ovinos de estudo clínico em baía adequada para espécie, com a presença de alimento e água. B: Conferência da dose com o animal pertencente ao estudo clínico Fonte: Arquivo Pessoal.

A elaboração de Fichas Técnicas foi outra atividade realizada durante o estágio. Estas são documentos que contém informações gerais dos produtos, iniciando com uma introdução, a composição do produto, indicações e posterior descrição dos princípios-ativos com a farmacodinâmica e a farmacocinética. Para a elaboração, foram utilizadas as bulas dos medicamentos e o livro “Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária” e, quando necessário, as plataformas de pesquisa “Google Acadêmico” e “PubMed” para pesquisas complementares.

As Fichas Técnicas são utilizadas para auxiliar os vendedores, que precisam conhecer os produtos e suas funções para apresentar para potenciais compradores e clientes, como também pela equipe de marketing, que utiliza as informações para a elaboração de materiais de divulgação dos produtos. As Fichas Técnicas elaboradas durante o período de estágio estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3: Fichas Técnicas de produtos que foram realizadas durante o estágio, com suas respectivas classificações farmacêuticas.

Produto	Classificação
Antitóxico	Antitóxico
Biodex	Anti-inflamatório
Calciofarm	Estimulante orgânico
Claudisal	Analgésico
C-M-22	Estimulante orgânico

Cyperbio	Antiparasitário
Estrogin	Hormônio
Floxiclin	Antibiótico
Glicose 50%	Estimulante orgânico
Ocitocina Biofarm	Hormônio
Organovit	Estimulante orgânico
RICOFarm 10	Antiparasitário

Além das revisões de literatura para a elaboração das Fichas Técnicas, outras revisões foram feitas conforme demandado pelas médicas veterinárias. As informações buscadas em literatura eram utilizadas para dar suporte ao PD&I na elaboração de novos produtos ou melhorias em produtos já existentes, responder exigências dos órgãos fiscalizadores e para utilização dentro do Departamento de Assuntos Regulatórios.

Após o treinamento com a auxiliar do departamento sobre o SAC, foi possível realizar atendimentos de triagem do serviço, no qual eram coletadas informações, como o nome completo do cliente, a cidade de origem, o telefone e, posteriormente, sua dúvida, reclamação ou orientação demandada. No atendimento de triagem eram passadas as informações básicas e era repassado que a médica veterinária da empresa retornaria o contato assim que possível para o esclarecimento das dúvidas. Todas as ligações do SAC são gravadas e arquivadas.

O SAC é um serviço importante por ser um canal direto com os clientes, o que facilita a resolução de problemas, a apresentação de sugestões, o esclarecimento de dúvidas e a expressão de reclamações sobre a empresa, seus serviços ou produtos. Para a empresa, também é uma forma de controle de seus produtos que estão dentro do mercado. É utilizado para o rastreamento de lotes com problemas e *recall* de produtos e também para o reconhecimento da satisfação dos clientes.

A organização de arquivos e documentos era parte do dia-a-dia do setor. Dessa forma, durante o estágio foi realizada a organização da sala dos arquivos (Figura 4), com a documentação em Excel dos arquivos que estavam em cada caixa a fim de facilitar a sua localização. Todas as caixas presentes nos arquivos foram etiquetadas com numeração específica e identificação da classe de documentos dentro delas. Foi feita a digitalização de documentos que poderiam ser guardados em versão digital com o descarte da versão física, evitando, dessa maneira, o acúmulo de papéis e a desorganização da sala de arquivos.



Figura 4: Sala dos arquivos do setor de Assuntos Regulatórios. Fonte: Arquivo Pessoal.

A preparação de dossiês para o registro e renovação de registro de produtos no exterior também é realizada pelo Departamento de Assuntos Regulatórios. Durante o estágio, foi possível auxiliar na preparação dos dossiês de sete produtos para a renovação de registro em Honduras, sendo eles: Óleo Canforado, Colírio Biofarm, Condروفarm Pet, Estrogin, Floxiclin 10%, Hepavet e Organovit.

Os dossiês eram compostos pelo relatório técnico, as artes dos produtos, estudos de estabilidade, certificados de análises, fluxograma e descrição do processo de fabricação, bibliografia, trabalhos de eficácia, fórmula do produto, metodologias de análises físico-químicas, especificações do produto terminado, especificações e natureza das matérias-primas, especificação técnica das embalagens, justificativa de associação (quando aplicável), lista de ingredientes, declaração de vida útil e o certificado de venda livre. Para Honduras, além do envio da documentação de forma digital é necessário o envio dos documentos de forma física, portanto foi realizada a impressão, organização e conferência dos documentos antes do envio (Figura 5).

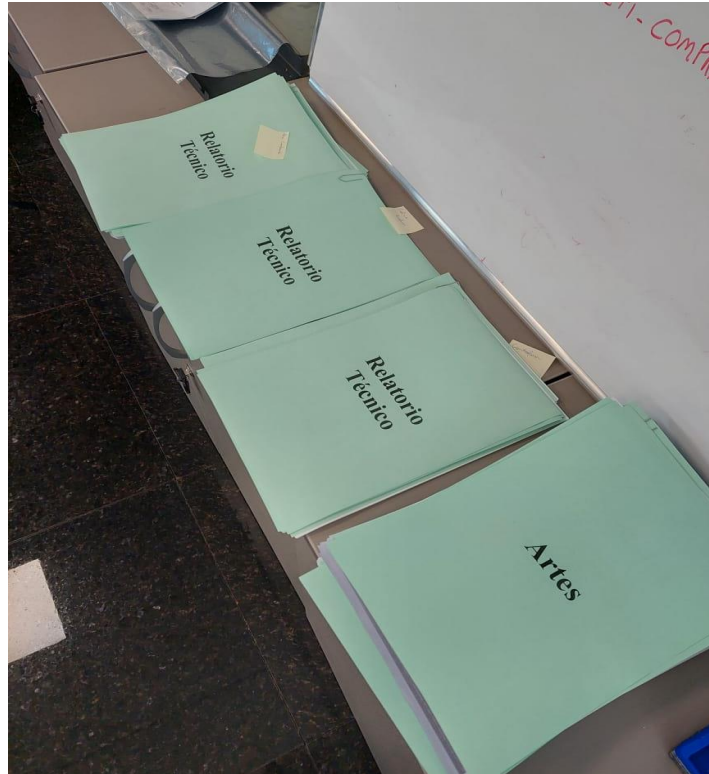


Figura 5: Organização de dossiês para renovação de registro em Honduras. Fonte: Arquivo Pessoal.

Durante o período de estágio também foi possível participar de palestras oferecidas para os colaboradores da BIOFARM. A primeira palestra foi “A importância do controle financeiro pessoal”, que foi a primeira palestra do Programa de Educação Financeira BIOFARM, que tem o objetivo de ajudar os colaboradores a gerir suas finanças de forma consciente e eficiente. A segunda palestra foi “A importância da doação de sangue”, que fez parte do Programa de Bem-Estar BIOFARM e teve como objetivo a conscientização dos colaboradores sobre a doação de sangue e suas vantagens para os doadores e para a sociedade. As palestras foram oferecidas no período da manhã no refeitório da empresa, com o convite para todos os colaboradores, mas a presença não era obrigatória.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Curricular Obrigatório em Prática Veterinária, realizado dentro da Indústria Farmacêutica BIOFARM, possibilitou o primeiro contato com médicas veterinárias que atuam na área de Assuntos Regulatórios e Pesquisa Clínica. Portanto, foram adquiridos diversos conhecimentos, como o legislativo para o registro e regulamento de produtos de uso veterinário, a base e as etapas de um estudo clínico e o atendimento ao cliente. Foi um período que

possibilitou o desenvolvimento pessoal e profissional da acadêmica, que aprimorou sua escrita científica e seu trabalho em equipe.

A oportunidade de trabalhar em conjunto e auxiliar a equipe com médicas veterinárias e bióloga nas atividades diárias do setor de Assuntos Regulatórios de uma Indústria Farmacêutica foi de grande aprendizado para a acadêmica. Foi uma oportunidade de conhecer áreas de atuação do médico veterinário que não são vistas de forma aprofundada durante a graduação, bem como um treinamento para o mercado de trabalho, além da obtenção de uma rede de *networking*, servindo como um complemento para os conhecimentos adquiridos durante o período de graduação.

II. MONOGRAFIA: AVALIAÇÃO DA DEPLEÇÃO DE RESÍDUOS DE DEXAMETASONA EM TECIDOS DE SUÍNOS APÓS TRATAMENTO COM O PRODUTO DEXAMETASONA BIOFARM, ADMINISTRADO POR VIA INTRAMUSCULAR.

1. RESUMO

A segurança dos alimentos é um dos pilares da Saúde Única, o qual se fundamenta no fornecimento de alimentos seguros para os seres humanos. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi quantificar as concentrações de resíduos de dexametasona em tecidos (fígado, rim e músculo) de suínos tratados com o produto Dexametasona Biofarm, a fim de determinar o seu período de carência. Para tanto, foram utilizados 20 suínos, clinicamente saudáveis. No D-1, os 20 animais foram randomizados, de acordo com sexo e peso, em 5 grupos experimentais (A, B, C, D e E) com 4 animais em cada grupo, cada grupo representava um momento de abate distinto. No D0 todos os animais receberam o tratamento com o produto investigacional na dose de 0,15 mg/kg de peso corporal (2,0 mL/50 kg), em única aplicação, pela via intramuscular. Em tempos pré-determinados, os animais foram abatidos, de acordo com o grupo, nos momentos D+1, D+7, D+14, D+21 e D+38 para a colheita dos tecidos. Foram colhidas amostras de músculo, fígado e rim de todos os animais experimentais. As amostras coletadas foram transportadas para o laboratório analítico. Para o cálculo do período de carência, foram adotados os valores de Limite Máximo de Resíduo (LMR) preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para o ativo Dexametasona. A análise dos dados e determinação do período de carência foi realizada por meio do programa computacional WT 1.4, recomendado pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA), através de regressão linear. A partir dos resultados analíticos obtidos e posterior análise dos dados, concluiu-se que período de carência do produto Dexametasona Biofarm, em suínos tratados com a dose de 0,15 mg/kg de peso corporal, em única aplicação, pela via intramuscular, contados a partir da aplicação do produto é de dez (10) dias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estudo de depleção de resíduos

O uso adequado de medicamentos veterinários dentro da produção animal é fundamental para a oferta de produtos de origem animal mais seguros em relação à presença de agentes patogênicos, como bactérias, parasitas, entre outros microrganismos capazes de acometer a saúde humana (San Martín et al., 2010). Os produtos de origem animal e seus derivados são os

tecidos comestíveis de animais abatidos, leite e seus derivados, ovos e mel e as práticas adotadas na produção desses alimentos devem ser fundamentadas nos princípios da segurança dos alimentos (Miller, 1997).

A segurança dos alimentos é importante por afetar a saúde humana e baseia-se em ações empregadas para o fornecimento de alimentos seguros, que não irão causar malefícios aos seus consumidores (Serratos et al., 2006). Na produção animal, a segurança dos alimentos é alcançada por meio de ações da Vigilância Sanitária, combate às enfermidades que afetam os animais, Inspeção dos Alimentos e a fiscalização da fabricação de medicamentos veterinários (Spisso et al., 2009).

Quando níveis de resíduos de medicamentos são detectados em produtos de origem animal acima dos limites permitidos, eles podem representar uma variedade de riscos à saúde pública, incluindo perigos toxicológicos, microbiológicos, imunológicos e farmacológicos (Botsoglou e Fletouris, 2000).

Dessa forma, para garantir a segurança dos alimentos através da ausência de insumos farmacêuticos ativos (IFA) presentes nos medicamentos veterinários, que são destinados a animais de produção, como ruminantes, equinos, aves e suínos, é necessária a avaliação dos fármacos através de estudos de depleção de resíduos, que possibilitam o cálculo do período de carência para o consumo de leite e carne (EMEA, 1995; Spisso et al., 2009).

Para que ocorra o licenciamento de um medicamento veterinário, o que permite sua fabricação e comercialização, a empresa responsável pelo fármaco deve submeter ao Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) estudos que comprovem sua eficácia e segurança e, para os animais de produção, também são necessários estudos de depleção de resíduos (Brasil, 2004).

No Brasil, a Instrução Normativa – IN N° 162, de 1° de julho de 2022, estabelece os limites máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. Ela estabelece os limites para diversos IFAs, dentre eles a dexametasona para bovinos, equinos, caprinos e suínos, que deve ser avaliada nos músculos, fígado e rim e para caprinos e bovinos no leite também (Brasil, 2022).

O LMR é estabelecido com base na ingestão diária aceitável do ativo; esta é a estimativa da quantidade máxima de uma substância que, consumida diariamente ao longo da vida parece não oferecer risco à saúde (Luetzow, 2003). Ele é determinado por testes toxicológicos, farmacológicos e microbiológicos e considera a identificação de um nível adequado no qual a concentração de resíduo é considerada sem qualquer risco, incluindo um fator de segurança adequado para o consumo humano (Escribano et al., 2012).

Os estudos de depleção de resíduos têm como base as diretrizes publicadas em guias, como a GL48 da VICH. Os estudos são realizados com a aplicação do medicamento testado em grupos de animais, na maior dose e período de tratamento recomendados. Posteriormente, amostras de diferentes tecidos são coletadas em intervalos de tempo pré-determinados para a realização da quantificação da concentração de resíduos do medicamento (VICH, 2015).

A condução dos estudos de acordo com as diretrizes preconizadas pelas autoridades regulatórias é feita em três etapas: clínica, analítica e estatística. A etapa clínica se inicia com a seleção dos animais, considerando os critérios de inclusão e exclusão pré-determinados, alguns dos critérios de exclusão são animais que tenham sido medicados com prazo inferior a 30 dias do início do estudo e animais que não apresentem bom estado nutricional ou boas condições clínicas e laboratoriais de saúde. Depois, esses são submetidos ao protocolo de estudo clínico com o tratamento com o fármaco investigado. Após o tratamento, são feitas as coletas das amostras biológicas em diferentes momentos para realização das análises (VICH, 2015).

A etapa analítica se dá pela quantificação do fármaco nas amostras biológicas. Durante o planejamento desta etapa, é necessário definir o composto químico específico a ser quantificado, bem como o método analítico a ser utilizado (Storpiritis et al., 2004). Por fim, a etapa estatística faz parte de todo o estudo, já que análises estatísticas são utilizadas para o cálculo de unidades amostrais a serem utilizadas, delineamento do estudo e as análises dos dados gerados pelas etapas clínica e analítica (Damte et al., 2012).

A administração de medicamentos sem seguir as recomendações da bula pelos produtores pode ser justificada como uma tentativa de minimizar problemas que afetam a saúde dos animais e que, conseqüentemente, levam a prejuízos financeiros (Martin, 2011). Entretanto, a administração de doses diferentes da recomendada em bula, utilização em espécies animais não indicadas e a utilização de produtos de origem animal sem respeitar o período de carência podem acarretar na violação do limite máximo de resíduo (Kennedy et al., 2000). Dessa maneira, após a comercialização de um medicamento, o monitoramento do seu uso é uma prática essencial dentro da cadeia produtiva (Miller, 1997; Kennedy et al., 2000).

As autoridades regulatórias têm se preocupado com o aumento do uso inadequado de medicamentos, e para mitigar este problema elas criaram estratégias para controlar e monitorar os riscos associados a essa questão (Miller, 1997; Kennedy et al., 2000; Martinez et al., 2000). Um exemplo é a obrigatoriedade de as bulas dos medicamentos veterinários apresentarem as recomendações para a utilização, a razão para o uso, dosagem, via de administração, intervalo entre as administrações, a necessidade da repetição de tratamento e o período de carência (MacLachlan e Mueller, 2012).

No Brasil, o Programa de Análise de Resíduo de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet) tem como objetivo controlar e fiscalizar resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. As análises realizadas pelo programa permitem o monitoramento da ocorrência de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal, das práticas de produção e do risco de exposição da população aos resíduos pesquisados (Brasil, 2003; Spisso et al., 2009). O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes, do MAPA, é outra estratégia que promove a garantia da qualidade do sistema produtivo animal. O plano é fundamentado na inspeção e fiscalização de alimentos, que verifica a presença de substâncias químicas que podem ser nocivas à saúde do consumidor, tais como agrotóxicos, resíduos de medicamentos, metais pesados e contaminantes ambientais (Brasil, 2014).

2.2 Dexametasona

A dexametasona está entre os anti-inflamatórios esteroidais mais comumente prescritos, tanto na medicina humana como na veterinária. Ela possui ação imunorreguladora e propriedades anti-inflamatórias, diminui a vasodilatação e a permeabilidade dos capilares e reduz a migração de leucócitos para os locais ativos de inflamação (Villar et al., 2020). É um fármaco que pode ser utilizado pelas vias tópica, subcutânea, intramuscular, intravenosa, inalatória e oral. A escolha da via de administração depende de vários fatores, como a espécie animal e seu temperamento, o processo inflamatório e se o tratamento irá ser contínuo ou pontual. É um fármaco de ação prolongada e trinta vezes mais potente que a hidrocortisona (Spinosa et al., 2017).

Os anti-inflamatórios esteroidais são glicocorticoides sintéticos em que a atividade anti-inflamatória e imunossupressora foi ampliada e a atividade mineralorreguladora foi diminuída ou abolida. Os glicocorticoides são hormônios esteroides, produzidos na porção cortical das glândulas adrenais a partir do colesterol e que estão presentes nos animais como cortisol e corticosterona (Behrend e Kemppainen, 1997).

Estes fármacos são indicados por serem capazes de bloquear desde sinais precoces do processo inflamatório até os mais tardios. Respostas inflamatórias de qualquer natureza serão afetadas pelos anti-inflamatórios esteroidais, que atuam modulando eventos celulares, vasculares e os mediadores pró-inflamatórios, afetando as células do sistema imune (Spinosa et al., 2017).

O processo inflamatório é um mecanismo de defesa do organismo e ocorre como uma resposta às injúrias e, apesar de complexo, manifesta-se de maneira essencialmente

padronizada, caracterizado pela reação de vasos sanguíneos, levando ao acúmulo de fluidos e células sanguíneas. O processo inflamatório atua destruindo (fagocitose e anticorpos), diluindo (plasma extravasado) e isolando ou sequestrando (malha de fibrina) o agente agressor, além de abrir caminho para os processos reparativos (cicatrização e regeneração) do tecido afetado (Bechara e Szabó, 2006).

A biotransformação dos glicocorticoides ocorre através da oxidação, redução, hidroxilação e conjugação, principalmente no fígado, que é responsável por 70% do metabolismo dos corticoides. Também é observada a biotransformação no tecido renal, sendo que a excreção dos metabólitos hidrossolúveis é feita, em sua maioria, pelos rins. Diversos fatores, como idade, doenças pré-existentes, associação medicamentosa, obesidade e fatores hormonais, podem interferir na biotransformação e excreção da dexametasona (Spinosa et al., 2017).

A dexametasona pode ser utilizada para o tratamento de diversas enfermidades, tais como o hipoadrenocorticismo, sendo um tratamento primário com a reposição de esteroides, doenças autoimunes, condições alérgicas, traumas e edemas cerebrospinais, choques e dores articulares (Spinosa et al., 2017). Assim, é um fármaco amplamente utilizado em animais de produção em processos inflamatórios, como mastite, laminites, artrites e cetoses primárias (Ferguson et al., 2009). Também teve seu uso como promotor de crescimento, pois quando utilizada em baixas doses pode promover o ganho de peso e reduzir a conversão alimentar, entretanto, hoje é uma prática proibida (Istasse et al., 1989; Duchatel al., 1993).

Dessa forma, o presente estudo teve o objetivo de determinar o período de carência do produto Dexametasona Biofarm em tecidos de suínos em dose única de 0,15 mg / kg de peso corporal (2,0 mL / 50 kg), pela via intramuscular.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção dos animais

Foram utilizados 20 suínos mestiços, machos e fêmeas, com idade de 97 dias e peso corporal entre 40 e 55 kg. Todos os animais apresentavam bom estado nutricional e boas condições clínicas de saúde, atestadas por exames clínicos e laboratoriais realizados anteriormente ao início do estudo. Para a identificação dos animais, foram utilizados brincos plásticos numerados e fixados à orelha.

Os animais foram alojados em baias construídas de paredes de alvenaria, portões de ferro vazado e cobertas de telha. As baias possuíam cochos para ração e bebedouros de água

coletivos. Durante o período do estudo, os animais receberam ração comercial farelada balanceada, ausente de aditivos, e água encanada *ad libitum* (Figuras 6 e 7).



Figura 6: Animais da espécie suína pertencentes ao estudo e alojados em baia de alvenaria, higienizadas, sem acúmulo de fezes e sujidades. Fonte: Science Vet.



Figura 7: Ração comercial para suínos distribuída em cocho coletivo. Fonte: Science Vet.

No D-7, os 20 animais foram alojados nas mesmas condições de realização do estudo para adaptação. Os animais foram aclimatados por sete dias antes do início do tratamento (D-7

ao D-1), sendo que neste período foram observados ao menos uma vez por dia para verificação da saúde. Ainda no D-7, os animais foram identificados, pesados, avaliados clinicamente através de exame físico geral e tiveram amostras de sangue coletadas para a realização de hemograma e análises bioquímicas. Os dados como idade, sexo, peso e raça dos animais do estudo estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Dados dos pesos (D-7), sexo, idade e raça dos suínos do estudo.

Animal	Idade (dias)	Sexo	Peso (kg) D-7	Raça
1	97	Macho	41	Mestiça
2	97	Macho	43	Mestiça
3	97	Macho	40	Mestiça
4	97	Macho	42	Mestiça
5	97	Macho	46	Mestiça
6	97	Macho	41	Mestiça
7	97	Macho	44	Mestiça
8	97	Macho	47	Mestiça
9	97	Macho	41	Mestiça
10	97	Macho	48	Mestiça
11	97	Fêmea	42	Mestiça
12	97	Fêmea	46	Mestiça
13	97	Fêmea	45	Mestiça
14	97	Fêmea	47	Mestiça
15	97	Fêmea	45	Mestiça
16	97	Fêmea	51	Mestiça
17	97	Fêmea	43	Mestiça
18	97	Fêmea	44	Mestiça
19	97	Fêmea	49	Mestiça
20	97	Fêmea	50	Mestiça

Durante todo o período experimental, incluindo a aclimação, nenhuma medicação (exceto o produto teste) ou vacina foi permitida nos animais participantes do estudo.

No D-1, os animais foram randomizados em cinco grupos (A, B, C, D e E), cada um contendo 4 animais e representando um momento de abate.

A randomização ocorreu através do sexo (dois machos e duas fêmeas em cada grupo) e do peso corporal em D-1, a fim de formar grupos homogêneos. Os cinco animais mais pesados de cada sexo foram alocados por sorteio em um dos cinco grupos e este procedimento foi realizado até que todos os animais fossem distribuídos (Tabela 5).

Tabela 5: Randomização e momentos de abate dos grupos experimentais.

Grupo	Animal	Sexo	Peso (Kg) D-1	Média do Peso por grupo (Kg)	Momento do abate
A	9	Macho	40	46,5	D+1
	10	Macho	50		
	16	Fêmea	53		
	18	Fêmea	43		
B	4	Macho	40	45,75	D+7
	5	Macho	49		
	11	Fêmea	43		
	19	Fêmea	51		
C	3	Macho	42	45,75	D+14
	8	Macho	48		
	15	Fêmea	44		
	20	Fêmea	49		
D	2	Macho	42	44,5	D+21
	6	Macho	43		
	12	Fêmea	48		
	17	Fêmea	45		
E	1	Macho	42	44,75	D+38
	7	Macho	43		
	13	Fêmea	48		
	14	Fêmea	46		

3.2 Exame Físico

O exame físico foi realizado no D-7 por um médico veterinário experiente na espécie suína. No exame clínico foram avaliados parâmetros descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros físicos avaliados no D-7 e determinação dos escores e faixas de normalidade.

Parâmetro	Determinação dos escores ou apresentação das faixas de normalidade
Padrão respiratório	1 (normal) 2 (dispneia)
Temperatura retal (TR)	38,5 a 40 °C
Coloração das mucosas	1 (rósea) 2 (rósea clara) 3 (avermelhada) 4 (esbranquiçada)
Tempo de preenchimento capilar (TPC)	1 (hidratado) 2 (desidratação leve)

	3 (desidratação moderada) 4 (desidratação intensa)
Palpação do linfonodo submandibular	1 (não palpável) 2 (palpável; alteração de tamanho, temperatura, mobilidade, consistência e/ou sensibilidade).
Comportamento dos animais	1 (normal) 2 (apático)
Estado geral	1 (bom) 2 (regular) 3 (ruim)

3.3 Exames Laboratoriais

No D-7, amostras de sangue foram coletadas de cada animal, em tubos siliconados estéreis (BD Vacutainer®), contendo ácido etileno diaminotetracetato dissódico (EDTA) para a realização de hemograma completo. Também foram coletadas amostras de sangue em tubos sem anticoagulante para a mensuração de parâmetros bioquímicos. O sangue foi colhido da veia jugular e, para que o procedimento fosse realizado, os animais foram adequadamente contidos.

A contenção para os tratamentos, avaliações físicas, colheitas de sangue ou qualquer procedimento realizado nos animais foi feita manualmente, com o uso de cordas e, quando necessário, através do uso de cachimbo.

Cada tubo foi identificado com o código do estudo, número do animal, data da colheita da amostra, dia do estudo e tipo da amostra. Foram realizados os seguintes exames:

- Hemograma e Leucograma: contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas, contagem de leucócitos (contagem global e diferencial de células brancas, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos).
- Análises Bioquímicas: ureia, creatinina, proteína total, albumina, fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST).

As amostras de sangue foram mantidas e transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável até a chegada ao laboratório clínico, e foram processadas em até 48h após a coleta.

3.4 Dosagem e Tratamento

No D0, todos os animais foram tratados com o produto Dexametasona Biofarm na dose de 0,15 mg / kg de peso corporal (2,0 mL / 50 kg), em única aplicação, pela via intramuscular (região da tábua do pescoço, lado esquerdo) (Figura 8).



Figura 8: Animal pertencente ao estudo no momento do tratamento com aplicação da Dexametasona Biofarm por via intramuscular na região da tábua do pescoço. Fonte: Science Vet.

Quando necessário, os volumes administrados foram arredondados para o decimal superior “par” do valor do volume calculado, ou seja, o dígito decimal arredondando para mais, no máximo, em intervalos de 0,2mL, de acordo com a graduação da seringa (por exemplo, 3,29 seriam arredondados para 3,4mL) (Tabela 7).

Tabela 7: Peso no momento D-1, volumes calculados e administrados do produto Dexametasona Biofarm.

Grupo	Animal	Peso (Kg) D-1	Volume calculado (mL)	Volume administrado (mL)
A	9	40	1,6	1,6
	10	50	2,0	2,0
	16	53	2,12	2,2
	18	43	1,72	1,8

B	4	40	1,6	1,6
	5	49	1,96	2,0
	11	43	1,72	1,8
	19	51	2,04	2,2
C	3	42	1,68	1,8
	8	48	1,92	2,0
	15	44	1,76	1,8
	20	49	1,96	2,0
D	2	42	1,68	1,8
	6	43	1,72	1,8
	12	48	1,92	2,0
	17	45	1,8	1,8
E	1	42	1,68	1,8
	7	43	1,72	1,8
	13	48	1,92	2,0
	14	46	1,84	2,0

3.5 Observações Gerais de Saúde

Durante todo o período experimental (D-7 ao D+38), um médico veterinário ou técnico experiente em manejo de suínos e familiarizado com o comportamento e saúde, realizou as OGS (Observações Gerais de Saúde) em todos os animais uma vez ao dia. As OGS consistem em observar a aparência física geral e comportamental, anormalidade no consumo de alimentos e água, aparência da urina e das fezes e demais parâmetros, de acordo com a espécie, que fossem indicativos da saúde dos animais.

3.6 Abate dos Animais e Coleta das Amostras

Os animais foram abatidos no Frigorífico Califórnia, para onde foram encaminhados um dia antes do abate. Os abates foram realizados para todos os grupos experimentais após o tratamento com o produto, seguindo os dias determinados do delineamento do estudo. Os abates ocorreram nos dias 1, 7, 14, 21 e 38 após o tratamento para os grupos A, B, C, D e E, respectivamente.

Durante o período pré-abate, todos os animais foram mantidos em jejum alimentar e dieta hídrica por, no mínimo, 12 horas, e transportados até o frigorífico.

O procedimento de abate seguiu o método do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, seguindo a Instrução Normativa nº 03 – Abate Humanitário de Animais de Açougue (Brasil, 2000). Foi realizada a insensibilização por choque, seguido de sangria pela secção dos grandes vasos para a eutanásia dos animais, sendo que a morte ocorreu por

hipovolemia. O local e as instalações destinadas ao abate pouparam os animais de qualquer excitação, dor ou sofrimento. Estes não foram acudados, excitados ou maltratados.

A colheita dos órgãos e tecidos foi realizada após evisceração da carcaça e retirada dos órgãos abdominais. As amostras coletadas foram músculo da região lombar (*Longissimus dorsi*), os dois rins inteiros e cortes transversais dos lobos do fígado.

No momento da colheita de cada um dos órgãos/tecidos, estes foram acondicionados em sacos individuais (por animal), previamente identificados com o código do estudo, número do animal, grupo, momento e data do abate.

Entre a manipulação de cada amostra, os materiais (bandejas descartáveis ou de plástico, tábua, facas e bisturis) utilizados nos procedimentos foram trocados. Para cada amostra foi utilizado um par de luvas, ou seja, as luvas foram trocadas antes da manipulação de cada amostra. Estes procedimentos possuem a finalidade de evitar contaminação cruzada entre as amostras dos animais.

Após a evisceração da carcaça, uma amostra de aproximadamente 500 gramas da musculatura do lombo (*Longissimus dorsi*), obtida pela secção longitudinal das massas musculares dorsais aderidas às seis vértebras lombares (L1 a L6), foi cuidadosamente colhida e posteriormente colocada em um duplo saco plástico.

No processamento, o músculo foi fracionado em cubos e duas frações aleatórias iguais foram colhidas. Cada alíquota foi acondicionada em dois sacos plásticos incolores com sistema de fechamento “Zip Lock”.

Os dois rins inteiros de cada animal foram cuidadosamente removidos e posteriormente colocados em duplo saco plástico identificado. No processamento das amostras, as membranas que circundam os rins foram cuidadosamente removidas e, em seguida, os mesmos foram cortados e divididos em duas porções iguais, no qual um pedaço compôs cada amostra (prova e contraprova). Cada porção continha um fragmento do rim direito e um do rim esquerdo e foram acondicionadas em dois sacos plásticos incolores fechados com sistema de fechamento “Zip Lock”.

O fígado inteiro de cada animal foi cuidadosamente removido intacto e posteriormente colocado em saco plástico identificado. Durante o processamento, foram coletadas frações de todos os lobos hepáticos (direito, esquerdo, caudado e quadrado) e acondicionadas em dois sacos plásticos incolores fechados com sistema de fechamento “Zip Lock”. Todas as sobras de tecidos de todas as amostras foram destinadas à vala séptica e, em hipótese alguma, foram destinadas ao consumo humano.

Terminada a colheita e o acondicionamento das amostras de cada animal, para o transporte do abatedouro até o centro de pesquisa, as amostras foram devidamente acondicionadas em caixas isotérmicas com tampa, contendo gelo reciclável, lacradas com fita adesiva e resfriadas entre 2 e 8 °C.

No Centro de Pesquisa, as matrizes biológicas foram registradas no controle de entrada de amostras e as amostras foram processadas e transferidas para freezer a temperatura menor que -20 °C até o envio ao laboratório analítico.

O transporte das amostras ao laboratório analítico foi realizado em caixa isotérmica com gelo seco e durante todo o transporte foram mantidas congeladas. Um documento descrevendo as amostras transportadas foi enviado junto.

3.7 Etapa Analítica

A quantificação do ativo marcador em cada amostra de tecido foi realizada pelo laboratório analítico Protheus Consultoria Química, sendo o método utilizado a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, que possui metodologia analítica específica e validada.

3.8 Análise Estatística

Após a finalização das análises pelo laboratório analítico, os relatórios analíticos (validações e análises) foram encaminhados à Science Vet para que fossem realizadas as avaliações estatísticas para a determinação do período de carência.

As avaliações foram realizadas conforme recomendações da EMA no *Note for Guidance Approach Towards Harmonisation of Withdrawal Periods, Committee for Veterinary Medicinal Products* – EMEA/CVMP/036/95.

De acordo com o EMA (2022) (*Guideline on determination of withdrawal periods for edible tissues*), os dados devem ser analisados por análise de regressão linear como método de primeira escolha para a determinação dos períodos de carência. Para o cálculo do período de carência, foi utilizado o programa WT 1.4 Withdrawal-time Calculation-Program, disponibilizado pela EMA. Os valores que deram abaixo do LQ (Limite de quantificação) foram referenciados como <LQ ou ½ LQ.

O período de carência foi calculado de acordo com os resultados obtidos na etapa analítica e correlacionados aos valores de Limites Máximos de Resíduos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Tabela 8) e segundo a Portaria nº 200, a qual cita que na inexistência de LMR estabelecido pela ANVISA, o Ministério da Agricultura e Pecuária

utilizaria LMR com base no Codex Alimentarius e, quando não definidos por esse, seriam utilizados como referência LMRs definidos pelo Mercosul, União Europeia, Estados Unidos e Japão, adotando-se sempre o mais restritivo por matriz.

Para os casos em que não haja LMR estabelecido pelas referências citadas, o Ministério da Agricultura e Pecuária adotaria o LMR de 10 (dez) microgramas por quilo. O período de carência nos tecidos circundantes ao local de administração do produto seria calculado a partir dos resultados obtidos na etapa analítica e correlacionados ao valor do Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecido para o princípio ativo, na matriz músculo.

Tabela 8: Valores de Limite Máximo de Resíduo (LMR) em tecidos estabelecido pela ANVISA, para a Dexametasona.

Princípio ativo	Tecido	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Dexametasona	Músculo	1
	Fígado	2
	Rim	1
	Gordura	não necessário

4. RESULTADOS

4.1 Exame clínico

Os exames físicos dos animais foram realizados em D-7 para avaliar o padrão respiratório, temperatura retal, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), palpação de linfonodo submandibular, comportamento dos animais e estado geral dos suínos a fim de incluir somente animais saudáveis no estudo.

Os dados individuais dos suínos demonstraram que todos os animais estavam saudáveis perante ao exame clínico, portanto, aptos a participarem do estudo (Tabela 9).

Tabela 9: Parâmetros clínicos dos animais utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Animal	Padrão respiratório	TR (°C)	Coloração das mucosas	TPC	Linfonodo submandibular	Comportamento	Estado Geral
1	1	38,9	1	1	1	1	1
2	1	38,7	1	1	1	1	1
3	1	38,5	1	1	1	1	1
4	1	38,5	1	1	1	1	1
5	1	38,7	1	1	1	1	1
6	1	38,8	1	1	1	1	1
7	1	38,6	1	1	1	1	1
8	1	39	1	1	1	1	1
9	1	38,6	1	1	1	1	1
10	1	38,9	1	1	1	1	1
11	1	39	1	1	1	1	1
12	1	38,7	1	1	1	1	1
13	1	38,7	1	1	1	1	1
14	1	38,6	1	1	1	1	1
15	1	38,9	1	1	1	1	1
16	1	38,8	1	1	1	1	1
17	1	38,5	1	1	1	1	1
18	1	38,7	1	1	1	1	1
19	1	38,6	1	1	1	1	1
20	1	38,5	1	1	1	1	1

4.2 Exames laboratoriais

Todos os exames laboratoriais realizados no D-7 demonstraram que os valores estavam dentro dos parâmetros de referência para a espécie suína. Os resultados individuais do hemograma estão apresentados nas Tabelas 10 e 11 e os resultados do bioquímico estão na Tabela 12.

Os valores de referência considerados para o hemograma foram (Weiss e Wardrop, 2011; Silva, 2017; Kahn et al., 2010):

- Hemácias (HE) de 5 a 8 x 10⁶/μl;
- Hemoglobina (HB) de 9 a 16g/dL;
- Hematócrito (HT) de 32 a 50%;
- Volume corpuscular médio (VCM) de 50 a 68 fL;
- Hemoglobina corpuscular média (HCM) 17 a 24 pg;
- Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) 29 a 34 g/dL;
- Leucócitos totais (LE) de 11 a 22 x 10³/μL;
- Bastonetes (BAST) de 0 a 4%;
- Segmentados (SEG) de 20 a 70%;
- Linfócitos (LINF) 35 a 75%;
- Monócitos (MON) de 0 a 10%;
- Eosinófilos (EOS) de 0 a 15%;
- Basófilos (BAS) de 0 a 3%.

Os valores de referência considerados para o bioquímico foram (Jackson e Cockcroft, 2002; Kanh et al, 2010):

- Albumina de 2,3 a 4,0 g/dL;
- Aspartato aminotransferase (AST) de 15,3 a 84U/L;
- Creatinina de 0,8 a 2,7 mg/dL;
- Fosfatase alcalina (FA) de 41 a 390 U/L;
- Proteína total (PT) de 5,8 a 8,3 g/DI;
- Ureia de 10 a 30 mg/dL.

Tabela 10: Parâmetros laboratoriais dos eritogramas (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina, corpuscular média) e quantificação de plaquetas dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Animal	HE (x10⁶/μl)	HB (g/dl)	HT (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)	Plaquetas (x10³/μl)
1	6,7	12,2	37,1	55,4	18,2	32,9	235
2	7,0	12,8	38,3	54,7	18,3	33,4	421
3	5,9	11,0	33,7	57,1	18,6	32,6	254
4	7,8	13,5	41,0	52,6	17,3	32,9	326
5	6,9	12,5	37,7	54,6	18,1	33,2	651
6	7,3	12,8	38,0	52,1	17,5	33,7	756
7	6,9	12,0	37,7	54,1	17,4	32,2	588
8	7,5	13,0	38,0	51,6	17,3	33,6	489
9	6,0	10,9	37,3	55,8	18,2	32,5	326
10	6,3	11,0	38,7	52,4	17,5	33,3	740
11	6,8	11,7	33,5	55,9	17,2	30,8	600
12	7,5	13,0	33,0	51,3	17,1	33,8	751
13	7,7	13,1	38,0	50,6	17,0	33,6	457
14	5,8	11,0	38,5	57,6	19,0	32,9	536
15	6,4	10,9	39,0	53,3	17,0	32,0	666
16	8,0	14,5	33,4	53,8	18,1	33,7	482
17	7,0	12,3	34,1	53,6	17,6	32,8	532
18	7,3	12,7	43,0	52,3	17,4	33,2	741
19	7,0	12,3	37,5	53,6	17,6	32,8	637
20	7,1	12,5	38,2	53,4	17,6	33,0	452

Tabela 11: Parâmetros laboratoriais da contagem total de leucócitos (bastonetes, segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Animal	LE (x10³/μl)	BAST (%)	SEG (%)	LINF (%)	MON (%)	EOS (%)	BAS (%)
1	15,3	0	22	70	2	6	0
2	20,1	0	25	68	2	5	0
3	14,3	0	30	59	4	7	0
4	12,0	0	43	38	8	11	0
5	12,8	0	31	60	4	5	0
6	14,0	0	32	53	8	7	0
7	15,1	0	33	58	5	4	0
8	13,3	0	38	45	8	9	0
9	14,5	0	32	57	3	8	0
10	11,9	0	29	65	2	4	0
11	13,0	0	40	53	2	5	0
12	16,2	0	43	55	1	1	0
13	15,1	0	35	49	6	10	0
14	14,0	0	28	60	6	6	0
15	17,5	0	42	45	5	8	0
16	13,1	0	32	60	4	4	0
17	18,0	0	31	58	3	8	0
18	11,9	0	32	60	2	6	0
19	16,0	0	29	60	2	9	0
20	15,2	0	36	50	3	11	0

Tabela 12: Parâmetros laboratoriais da avaliação bioquímica (albumina, aspartato aminotransferase, creatinina, fosfatase alcalina, proteína total e ureia) dos suínos utilizados no estudo, no momento D-7 do período experimental.

Animal	Albumina (g/dl)	AST (U/L)	Creatina (mg/dL)	FA (U/L)	PT (g/dl)	Ureia (mg/dL)
1	3,1	36,2	1,22	237,8	7,7	15,3
2	3,7	45,9	1,35	240,3	6,9	22,1
3	2,8	53,2	1,21	183,5	8	28
4	3,6	57,8	1,67	221,4	6,5	13,2
5	3,5	32,3	1,33	145,9	6,2	11
6	4,0	38,0	1,90	122,3	7,7	18,2
7	3,4	51,9	1,84	178,5	7,9	17,6
8	2,6	47,5	1,66	96,7	6,9	19
9	2,9	62,0	0,99	123,4	8,1	14,5
10	3,5	46,3	1,12	112,9	8	22
11	3,4	50,7	1,59	99,9	7,8	23,9
12	3,0	47,8	1,89	115,7	8,0	27
13	2,7	60,0	1,36	207,8	7,7	11,1
14	3,5	38,9	1,52	146,5	6,9	14,7
15	3,8	51,4	1,48	173	7,6	12,3
16	2,9	43,3	1,27	109,6	7,5	18
17	4,0	37,5	1,63	257	8,1	15,5
18	3,0	72,3	1,39	169,2	7,7	25
19	3,2	55,4	1,91	183,9	6,8	23,1
20	3,0	61,6	1,36	145,7	7,8	19,4

4.3 Cálculo do Período de Carência

Para a determinação do período de carência, foram analisados quatro diferentes intervalos de tempo de abate, adequadamente distribuídos, com o número de quatro animais por grupo, conforme estabelecido pelo VICH GL48. Os resultados das concentrações de dexametasona em cada matriz coletada de todos os grupos (A, B, C, D e E) estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13: Resultado analítico da concentração de dexametasona ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas matrizes músculos, fígado e rim de suínos.

Grupo	Animal	Músculo	Fígado	Rim
A (1 dia p.t.)	9	1,437	<LQ	0,456
	10	<LQ	<LQ	0,593
	16	<LQ	8,027	0,253
	18	0,634	<LQ	<LQ
B (7 dias p.t.)	4	<LQ	<LQ	<LQ
	5	<LQ	<LQ	<LQ

	11	<LQ	<LQ	<LQ
	19	<LQ	<LQ	<LQ
C (14 dias p.t.)	3	<LQ	<LQ	<LQ
	8	<LQ	<LQ	<LQ
	15	<LQ	<LQ	<LQ
	20	<LQ	<LQ	<LQ
D (21 dias p.t.)	2	<LQ	<LQ	<LQ
	6	<LQ	<LQ	<LQ
	12	<LQ	<LQ	<LQ
	17	<LQ	<LQ	<LQ
E (23 dias p.t.)	1	<LQ	<LQ	<LQ
	7	<LQ	<LQ	<LQ
	13	<LQ	<LQ	<LQ
	14	<LQ	<LQ	<LQ

p.t – pós tratamento LQ – limite de quantificação

Músculo

Através dos valores apresentados na Tabela 13, foi possível observar que no tempo de coleta D+7 (7 dias após a administração do produto Dexametasona Biofarm), todas as amostras estavam abaixo do LMR preconizado pela ANVISA, que é 1 µg/kg de dexametasona na matriz “músculo”.

Diante dos valores obtidos, foi possível traçar a curva de depleção a partir do software Withdrawal-time Calculation Program WT1.4. Na Figura 9, estão apresentados os resultados da regressão linear das concentrações de resíduos da dexametasona, na matriz “músculo”.

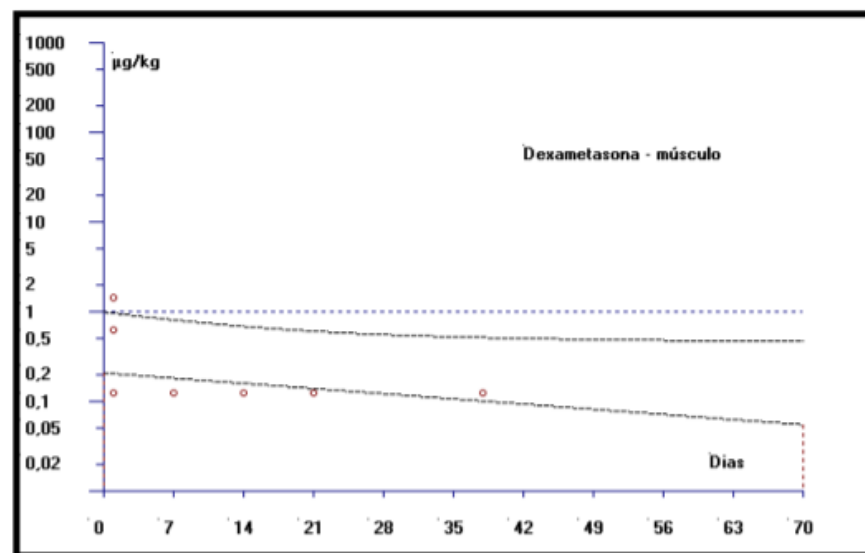


Figura 9: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz músculo.
Fonte: Science Vet.

Sobre o atendimento às premissas estatísticas, a análise dos dados comprovou a linearidade da regressão, uma vez que o teste F apresentou valores de $p > 0,05$. Contudo, houve desvio significativo na homogeneidade de variâncias e normalidade da distribuição dos erros, o que foi comprovado pelo teste de Cochran e o teste de Shapiro-Wilk, nos quais ambos apresentaram valor de $p < 0,01$.

Uma vez que não foram atendidas todas as premissas estatísticas preconizadas pelo guia da EMA, o período de carência para a matriz “músculo” foi estabelecido pelo método alternativo, aplicando-se um intervalo de segurança de 30% do tempo em que todas as concentrações estavam abaixo do LMR. Sendo assim, o período de carência para a dexametasona na matriz “músculo” é de 7 dias + 30 % = 9,1 dias, o equivalente a 10 dias.

Fígado

Através dos valores apresentados na Tabela 13, foi possível observar que no tempo de coleta D+7 (7 dias após a administração do produto Dexametasona Biofarm), todas as amostras estavam abaixo do LMR preconizado pela ANVISA, que é $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ de dexametasona na matriz “fígado”.

Diante dos valores obtidos, foi possível traçar a curva de depleção a partir do software Withdrawal-time Calculation Program WT1.4. Na Figura 10, estão apresentados os resultados da regressão linear das concentrações de resíduos da dexametasona na matriz “fígado”.

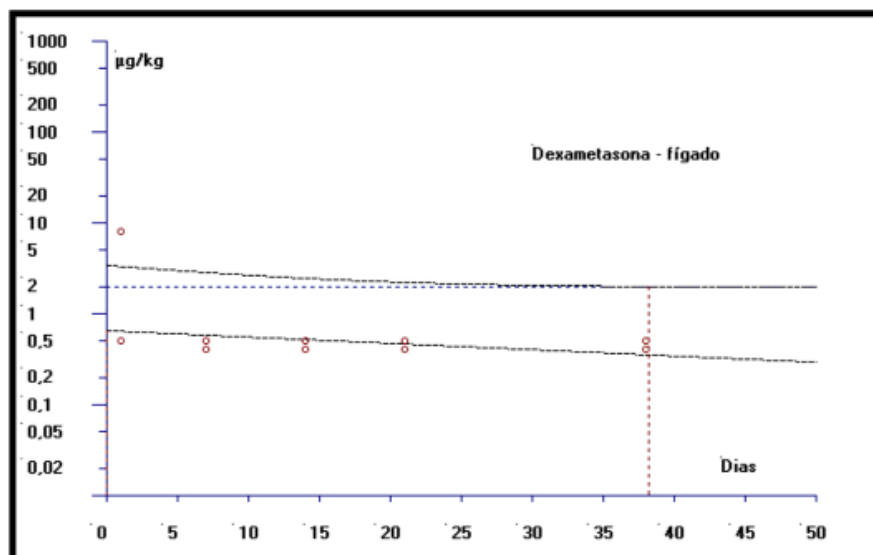


Figura 10: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz fígado. Fonte: Science Vet.

Sobre o atendimento às premissas estatísticas, a análise dos dados comprovou a linearidade da regressão, uma vez que o teste F apresentou valores de $p > 0,05$. Contudo, houve

desvio significativo na homogeneidade de variâncias e normalidade da distribuição dos erros, o que foi comprovado pelo teste de Cochran e o teste de Shapiro-Wilk, nos quais ambos apresentaram valor de $p < 0,01$.

Uma vez que não foram atendidas todas as premissas estatísticas preconizadas pelo guia da EMA, o período de carência para a matriz “fígado” foi estabelecido pelo método alternativo, aplicando-se um intervalo de segurança de 30% do tempo em que todas as concentrações estiveram abaixo do LMR. Sendo assim, o período de carência para a dexametasona na matriz “fígado” é de 7 dias + 30 % = 9,1 dias, o equivalente a 10 dias.

Rim

Através dos valores apresentados na Tabela 13, foi possível observar que no tempo de coleta D+1 (1 dia após a administração do produto Dexametasona Biofarm), todas as amostras estavam abaixo do LMR preconizado pela ANVISA, que é 1 µg/kg de dexametasona na matriz “rim”.

Diante dos valores obtidos, foi possível traçar a curva de depleção a partir do software Withdrawal-time Calculation Program WT1.4. Na Figura 11, estão apresentados os resultados da regressão linear das concentrações de resíduos da dexametasona na matriz “rim”.

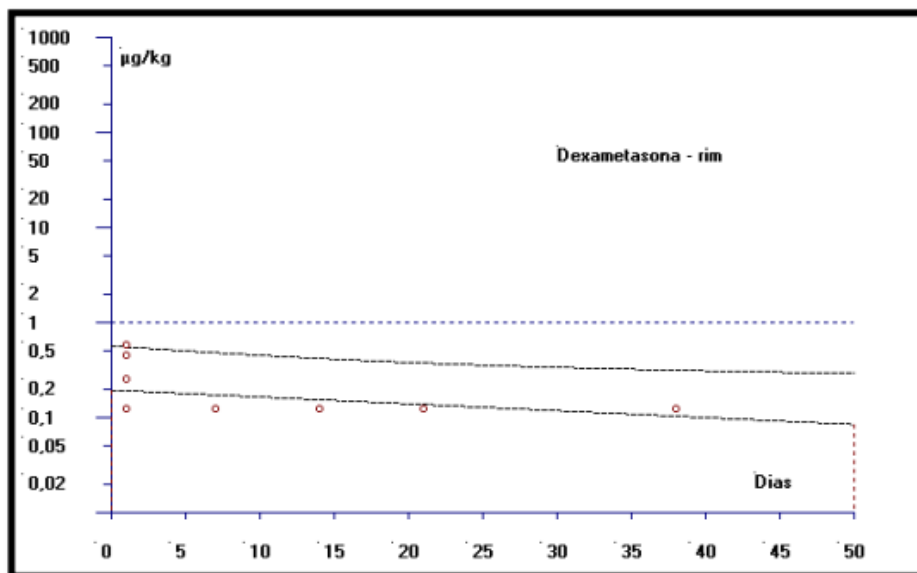


Figura 11: Determinação do período de carência de dexametasona na matriz rim. Fonte: Science Vet.

Sobre o atendimento às premissas estatísticas, a análise dos dados comprovou desvio significativo na linearidade da regressão, homogeneidade de variâncias e normalidade da distribuição dos erros, o que foi comprovado pelo teste F, teste de Cochran e o teste de Shapiro-Wilk, que apresentaram valor de $p < 0,025$, $p < 0,01$ e $p < 0,01$, respectivamente.

Uma vez que não foram atendidas todas as premissas estatísticas preconizadas pelo guia da EMA, o período de carência para a matriz “rim” foi estabelecido pelo método alternativo, aplicando-se um intervalo de segurança de 30% do tempo em que todas as concentrações estavam abaixo do LMR. Sendo assim, o período de carência para a dexametasona na matriz “rim” é de $1 \text{ dia} + 30\% = 1,3 \text{ dias}$, o equivalente a 2 dias.

5. DISCUSSÃO

O consumo de carne contendo resíduos de dexametasona é um perigo à saúde humana, por isso diversos países, como o Brasil e membros da União Europeia, adotam níveis máximos de resíduos desse ativo em produtos de origem animal para proteger os seus consumidores (EEC, 2000; Brasil, 2019).

A determinação do período de carência depende de diversos fatores, não fáceis de especificar, decididos pelo desenho do estudo, pela qualidade dos dados e, por fim, pelas propriedades farmacocinéticas de cada substância ativa (EMA, 2022).

Para a realização do teste de depleção de resíduos de dexametasona é necessário que haja um método analítico validado para a determinação do resíduo marcador nas amostras. Esse método deve ser capaz de determinar, de forma confiável, as concentrações do resíduo marcador que abrangem o ponto de tolerância, ou seja, o LMR, para cada tecido (VICH, 2015). No estudo objeto deste trabalho foi utilizada a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas como método analítico. Chen et al. (2010), demonstraram que este é um método satisfatório em relação à especificidade, precisão, exatidão e sensibilidade para a quantificação de resíduos de glicocorticoides em tecidos comestíveis.

Ao observar, os resultados do estudo com a Dexametasona Biofarm, em cada momento, as concentrações de resíduos de dexametasona nos diferentes tecidos, percebe-se que houve detecção apenas no grupo A, com abate um dia após o tratamento. Nesse momento, o fígado apresentou a maior detecção, seguido do músculo e, por fim, o rim, que apesar de ter ocorrido a detecção, esta permaneceu abaixo do LMR. Os LMRs estabelecidos para o fígado, em sua maioria, são maiores quando comparados com os limites para o músculo e o rim, o que sugere que são tecidos mais indicados para o monitoramento de resíduos (Danaher et al., 2006). Além disso, o limite superior estabelecido para o fígado pode ser justificado por ser um órgão no qual ocorre um acúmulo maior de dexametasona, já que é o órgão que irá realizar a sua metabolização e, devido à característica lipossolúvel do fármaco, o seu acúmulo ocorre mais facilmente no fígado e tecido adiposo (Spinosa et al., 2017).

Não foi possível encontrar em literatura estudos parecidos em suínos, isso se deve ao fato de serem estudos realizados por empresas farmacêuticas que não tiveram interesse em publicar os resultados. Entretanto, os resultados encontrados no presente estudo, podem ser considerados similares ao do estudo conduzido por Chicoine et al. (2024), que observaram a quantificação da dexametasona em vacas leiteiras; nos músculos e na gordura não ocorreu quantificação, enquanto nos rins no fígado a detecção ocorreu até o terceiro dia após o tratamento. Já, Botsoglou e Fletouris (2000) relataram que os resíduos de dexametasona, após administração intramuscular em vacas em lactação, eram rapidamente eliminados dos músculos e do leite, enquanto que os níveis mais altos foram encontrados no fígado.

Para a determinação do período de carência, o guia EMEA/CVMP/036/95 preconiza o método de regressão linear, em que se utiliza o mínimo de três pontos distintos de abate para a obtenção de uma reta de regressão linear com confiabilidade mínima. Entretanto, esse cálculo é impossível de ser aplicado quando não há formação do número mínimo de pontos para estabelecimento de uma reta de regressão confiável.

Isso foi observado no presente estudo nas três matrizes (músculo, fígado e rim), nas quais a partir do segundo grupo (B) as amostras alcançaram níveis menores que o limite de quantificação ($>LQ$). Dessa maneira, não ocorre a formação de três pontos confiáveis para a realização de uma reta de regressão linear. Além disso, os dados brutos também não seguiram as premissas estatísticas, as matrizes músculo e fígado não atenderam ao teste de Cochran (homogeneidade das variâncias) e ao teste de Shapiro-Wilk (distribuição normal), enquanto que o rim não atendeu a esses testes e ao teste F (linearidade dos dados).

Quando não é possível utilizar o método preconizado pela legislação, é possível a realização do método alternativo, no qual utiliza-se o período em que os valores ficaram abaixo do LMR e aplica-se um fator de segurança de 10% a 30%. O fator de segurança deve ser aplicado para compensar as incertezas inerentes a diversos parâmetros, tais como tamanho amostral, número, frequência e escolha dos momentos de abate, variabilidade dos dados e fatores analíticos, como o limite de detecção (EMEA/CVMP/036/95).

Ao utilizar o método alternativo, o fator de segurança de 10% é considerado seguro quando no primeiro ponto de coleta em que os resíduos estão abaixo do LMR todos os valores estão abaixo do limite de quantificação ou quando existem intervalos longos entre os pontos de coleta e se os níveis de resíduos estiverem já próximos ao LMR no ponto de tempo anterior àquele em que realmente caem abaixo do LMR. O fator de 30% de segurança deve ser considerado se houver alta variabilidade entre os animais em cada ponto de coleta ou se o

primeiro ponto de coleta em que todos os resíduos estão abaixo do LMR for inferior a 10 dias, e os dados subjacentes mostrarem um alto grau de variabilidade (EMA, 2022).

Dessa forma, foi calculada a carência das três matrizes utilizando o fator de segurança de 30%, utilizando os períodos de sete dias após o tratamento para músculo e para fígado e um dia após o tratamento para o rim, chegando assim ao período de carência de dez (10) dias.

No Brasil, diversas empresas comercializam formulações injetáveis de dexametasona, sendo que a maioria delas contém 2 mg de dexametasona por mL. Já a Dexametasona Biofarm possui 3,8 mg de dexametasona base por mL de produto. Os períodos de carência dos diversos produtos que estão no mercado variam de 2 até 21 dias. Essa variação ocorre, pois, mesmo tratando-se do mesmo princípio ativo, é possível encontrar diferenças nas composições, excipientes, dosagens e vias de administração (Escribano et al., 2012). Essas discrepâncias podem ser observadas já na escolha do princípio ativo, uma vez que a dexametasona pode ser apresentada nas formas de fosfato sódico, acetato e fosfato dissódico como base para suas formulações.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados das concentrações obtidas em cada matriz (músculo, fígado e rim) e considerando os valores de Limites Máximos de Resíduos preconizados pela ANVISA (2022), suínos medicados com o produto Dexametasona Biofarm, à base de Dexametasona na dose de 0,15 mg / kg de peso corporal (2 mL para cada 50 kg de peso vivo), em única aplicação, pela via intramuscular, requer período de carência de 10 dias para o abate, quando estes forem destinados ao consumo humano.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. Processo inflamatório. Jaboticabal, SPUNESP Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006.
- BEHREND, Ellen N.; KEMPPAINEN, Robert J. Glucocorticoid therapy: pharmacology, indications, and complications. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 27, n. 2, p. 187-213, 1997.
- BOTSOGLU, Nikolaos A.; FLETOURIS, Dimitrios J. *Drug residues in foods*. Marcel Dekker, 2000.
- BRASIL, Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. Instrução Normativa, v. 3, n. 00, p. 2016, 2000.
- BRASIL. Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo – PAMVet. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 5.053 de 22 de abril de 2004. Aprova o anexo Regulamento de Fiscalização de Produtos de Uso Veterinário e dos estabelecimentos que os fabriquem ou comercializem.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes. 2014.

BRASIL. Instrução normativa nº 51, de 19 de dezembro de 2019 – Estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Instrução Normativa Nº 162, de 1º de julho de 2022 - Estabelece a ingestão diária aceitável (IDA), a dose de referência aguda (DRfA) e os limites máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal.

CHEN, Dongmei et al. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the quantification of glucocorticoid residues in edible tissues of swine, cattle, sheep, and chicken. *Food Additives and Contaminants*, v. 27, n. 10, p. 1363-1371, 2010.

CHICOINE, Al et al. Depletion of dexamethasone in cattle: Food safety study in dairy and beef cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 47, n. 2, p. 80-86, 2024.

DAMTE, Dereje et al. Evaluation of linear regression statistical approaches for withdrawal time estimation of veterinary drugs. *Food and chemical toxicology*, v. 50, n. 3-4, p. 773-778, 2012.

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

DUCHATEL, Jean-Pierre et al. Glucocorticoids as doping agents in homing pigeons. In: *Annales De Medecine Veterinaire*. ULg-Université de Liège, Liège, Belgium, 1993.

EEC Council Regulation No. 2535/00, Off. J. Eur. Commun., 2000, p. L291.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on determination of withdrawal periods for edible tissues (EMA/CVMP/SWP/735325/2012Rev.2). Amsterdam: EMA, 2022.

EMEA. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Note for Guidance: Approach Towards Harmonisation of Withdrawal Periods, No. EMEA/CVMP/036/95, 1995.

ESCRIBANO, M.; SAN ANDRÉS, M.I.; de LUCAS, J.J.; GONZÁLEZ-CANGA, A. Ivermectin residue depletion in food producing species and its presence in animal foodstuffs with a view to human safety. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, Hilversum, n. 13, p. 987-998, 2012.

FERGUSON, D. C.; DIRIKOLU, L.; HOENIG, M. Glucocorticoids, mineralocorticoids and adrenolytic drugs. *Veterinary pharmacology and therapeutics*, v. 771, p. 802, 2009.

ISTASSE, Louis et al. Effects of dexamethazone injections on performances in a pair of monozygotic cattle twins. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 62, 1989.

JACKSON, P. G. G; COCKCROFT, P. D. Appendix 3, laboratory reference values: biochemistry. p. 303-305. In: Clinical examination of farm animals. Blackwell Science. 2002.

KAHN, Cynthia M. et al. 8th Ed. The Merck veterinary manual. Kenilworth, NJ: Merck, 2010; p. 1824 – 1828

KENNEDY, D. Glenn; CANNAVAN, Andrew; MCCRACKEN, Robert J. Regulatory problems caused by contamination, a frequently overlooked cause of veterinary drug residues. Journal of Chromatography A, v. 882, n. 1-2, p. 37-52, 2000.

LUETZOW, Manfred. Harmonization of exposure assessment for food chemicals: the international perspective. Toxicology letters, v. 140, p. 419-425, 2003.

MACLACHLAN, Dugald J.; MUELLER, Utz. A refined approach to estimate exposure for use in calculating the Maximum Residue Limit of veterinary drugs. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 62, n. 1, p. 99-106, 2012.

MARTIN, José Guilherme Prado. Resíduos de antimicrobianos em leite—uma revisão. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MARTINEZ et al. Response to criticisms of the US FDA parametric approach for withdrawal time estimation: rebuttal and comparison to the nonparametric method proposed by Concordet and Toutain. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, v. 23, n. 1, p. 21-35, 2000.

MILLER, J. Problems associated with drug residues in beef from feeds and therapy. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), v. 16, n. 2, p. 694-708, 1997.

SAN MARTÍN, Betty et al. Withdrawal time of four pharmaceutical formulations of enrofloxacin in poultry according to different maximum residues limits. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, v. 33, n. 3, p. 246-251, 2010.

SERRATOSA, J. et al. Residues from veterinary medicinal products, growth promoters and performance enhancers in food-producing animals: a European Union perspective. Rev Sci Tech, v. 25, n. 2, p. 637-653, 2006.

SILVA, Malena Noro. Hematologia veterinária. 2017. p. 109.

SPINOSA, Helenice de Souza; GÓRNIK, Silvana Lima; BERNARDI, Maria Martha. Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária. 6 ed – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

SPISSO, Bernardete Ferraz; NÓBREGA, Armi Wanderley de; MARQUES, Marlice Aparecida Sípoli. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. Ciência & Saúde Coletiva, v. 14, p. 2091-2106, 2009.

STORPIRTIS, Sílvia et al. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. Infarma, v. 16, n. 9-10, p. 51-56, 2004.

VICH GL 48 (2015) – “Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods”.

VILLAR, Jesús et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, v. 8, n. 3, p. 267-276, 2020.

WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Ed.). *Schalm's veterinary hematology*. John Wiley & Sons, 2011.