

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

Farmacocinética da gentamicina administrada pela via intravenosa regional em equinos com a utilização de dois modelos de torniquetes

Pharmacokinetics of gentamicin administered by intravenous regional in horses with the use of two models of tourniquets

KAROLINE ALVES RODRIGUES

BOTUCATU – SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**Farmacocinética da gentamicina administrada pela via intravenosa
regional em equinos com a utilização de modelos de torniquetes**

Pharmacokinetics of gentamicin administered by intravenous regional in
horses with the use of two models of tourniquets.

KAROLINE ALVES RODRIGUES

Orientador: Prof. Celso Antônio
Rodrigues

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Biotecnologia Animal para
obtenção do Título de mestre

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SULAMITA SELMA MARIA DE JESUS

Rodrigues, Karoline Alves.

Farmacocinética da gentamicina administrada pela via intravenosa regional em equinos com a utilização de dois modelos de torniquetes / Karoline Alves Rodrigues. – Botucatu: [s.n.], 2014

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014.

Orientador: Celso Antônio Rodrigues

Assunto CAPES: 50502034

1. Equinos – Perfusão Regional - Artropatias 2. Sulfato de Gentamicina

CDD 636.80896

Palavras-chave: Artrite séptica; Equinos; Perfusão regional.

Nome do Autor: Karoline Alves Rodrigues

Título: FARMACOCINÉTICA DA GENTAMICINA ADMINISTRADA PELA VIA INTRAVENOSA REGIONAL EM EQUINOS COM A UTILIZAÇÃO DE DOIS MODELOS DE TORNIQUETES

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Celso Antônio Rodrigues

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Antônio Carlos Paes

Membro

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP - Botucatu

Profa. Rosângela Gonçalves Peccinini

Membro

Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia

FcFar – UNESP - Araraquara

Data da Defesa: 08 de agosto de 2014.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, razão de todo o meu esforço.

“Deixe o mundo um pouco melhor do que você encontrou”

Baden Powell – Fundador do Escotismo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre fazer o melhor por mim, ainda que, na maioria das vezes, eu não reconheça tão prontamente.

Aos meus pais, por tudo. Vocês são minha fonte de orgulho e inspiração.

Ao meu avô Eduardo (In Memoriam) e minha avó Maria que me proporcionaram a melhor infância que uma criança poderia ter e por me ensinarem valores que tento seguir até hoje.

Aos meus irmãos queridos Keller, Karina e Kaoma, meus amores para a vida inteira.

Para minha irmã Karina, um agradecimento especial, pois em todos os momentos, você foi o meu apoio, com a sensibilidade de pequenos e grandes gestos que sempre me ajudaram a seguir em frente até mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos cunhados Sandro e Juliana por fazerem parte da minha vida e por todo apoio sempre, principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus sobrinhos Lucas, Ana Júlia, Isabela e Nicolas por me mostrarem uma nova forma de amar.

À minha irmã de coração e amiga Andréa (Pedigree) por estar presente em minha vida sempre.

À toda família Orelhana, principalmente Sandra e Dadá, por todo o carinho e apoio em todos os momentos desde que Deus os colocou em minha vida.

Ao meu melhor amigo Ivan (Dhalsin) por quem possuo um grande amor e carinho.

Ao amigo Rodolfo (Infra) que mesmo longe se faz presente através de sua sensibilidade, ajuda e paciência nos seus conselhos que por diversas vezes foram fundamentais para que eu seguisse em frente.

À amiga Carla (Stribo) por estar sempre ao meu lado.

Ao Prof. Celso, meu orientador, pela paciência e confiança desde a residência.

Ao Leandro, pelos ensinamentos e amizade, obrigada por tudo. Tenho imenso orgulho de ter participado um pouco da vida de um dos melhores veterinários que já conheci.

Ao Emiliano por toda ajuda, companheirismo e amizade.

Aos alunos de iniciação científica Vitória, Pedro e Renan pela ajuda e paciência nas longas madrugadas de experimento.

À Juliana (Mandrill) pela grande amizade, companheirismo e sinceridade nos momentos mais difíceis. Aos colegas da pós graduação Mirian, Dietrich, Luiz, Ana Lúcia e Vanessa.

À funcionária Clotilde por todo amor e carinho. É imensa a minha admiração por você.

As amigas da república FDP, Daniela, Bianca, Diana e Natália com quem compartilhei minha vida.

À cidade de Botucatu, cidade onde morei, 9 anos, sem dúvida, os melhores da minha vida.

Ao GEPA-27 por tantos ensinamentos e por mostrar a importância do voluntariado.

Ao ISMART e a FIA, pois nunca devemos nos esquecer de nossas origens e estes órgãos permitiram que eu desse início ao meu sonho de ingressar e me manter financeiramente em uma universidade pública.

Aos novos amigos da melhor equipe do Brasil VETNIL: Ricardo, Lídia, Cláudia, Amanda, Bruna, Déborah, Isabella e Fábio por me receberem ao grupo, fazendo com que a minha adaptação a esta nova fase da minha vida fosse mais fácil. Obrigada pelas conversas, ajudas e amizade.

À empresa Ouro Fino pelo auxílio através dos medicamentos utilizados neste estudo.

À FAPESP pelo financiamento e a CAPES pelo auxílio através da bolsa de mestrado.

À todos os meus amigos, pois eu tenho os melhores amigos que alguém poderia ter. Muito obrigada!

LISTA DE ABREVIACOES

AUC: rea sob a curva
CIM: concentração inibitória mínima
Cl: *clearance*
C_{max}: concentração máxima
kg: quilogramas
mg: miligramas
mL: mililitros
mmHg: milímetro de mercúrio
GTT: grupo torniquete tubular
GTE: grupo torniquete de Esmarch
LS: líquido sinovial
PL: plasma
LD: limite de detecção
LQ: limite de quantificação
MRT: tempo de residência médio
M0: momento antes da perfusão
M15': quinze minutos após a perfusão
M30': trinta minutos após a perfusão
M1h: sessenta minutos (1 hora) após a perfusão
M2h: cento e vinte minutos (2 horas) após a perfusão
M4h: duzentos e quarenta minutos (4 horas) após a perfusão
M6h: trezentos e sessenta minutos (6 horas) após a perfusão
M8h: quatrocentos e oitenta minutos (8 horas) após a perfusão
M12h: setecentos e vinte minutos (12 horas) após a perfusão
M24h: mil quatrocentos e quarenta minutos (24 horas) a perfusão
M48h: dois mil oitocentos e oitenta minutos (48 horas) a perfusão
PR: perfusão regional
PRIVA: perfusão regional intravenosa de antimicrobianos
RPM: rotações por minuto
T_{max}: tempo máximo
Vd: volume de distribução

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Relação dos animais submetidos ao tratamento com PRIVA (Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobianos) com sulfato de gentamicina na dose de 2,2mg/kg nos grupos GTT (Grupo Torniquete Tubular) e GTE (Grupo Torniquete Esmarch).	19
TABELA 2 - Concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$), média* e desvio padrão (DP) no líquido sinovial dos equinos (n=10) tratados por via intravenosa regional com gentamicina (2,2 mg/kg) ao longo do tempo (momentos) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete Esmarch (GTE).	29
TABELA 3 - Concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) média* e desvio padrão (DP) no plasma dos equinos (n=10) tratados por via intravenosa regional com gentamicina (2,2 mg/kg) ao longo do tempo com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete Esmarch (GTE).	32
TABELA 4 - Parâmetros farmacocinéticos individuais, média e desvio padrão (DP) da gentamicina no líquido sinovial, após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).	36
TABELA 5 - Parâmetros farmacocinéticos individuais, médias e desvio padrão (DP) da gentamicina no plasma após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).	37
TABELA 6 – Médias dos parâmetros farmacocinéticos e desvio padrão (DP) da gentamicina no líquido sinovial e plasma após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).	38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Bloqueio perineural dos nervos do membro torácico. a. nervo mediano. b. nervo ulnar e c. nervo músculo- cutâneo.....	21
FIGURA 2 - a. Torniquete tubular de látex número 202. b. torniquete de Esmarch.	22
FIGURA 3 – Torniquetes aplicados no terço médio do rádio de equinos para a realização da PRIVA (Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobianos) com gentamicina - a. Torniquete tubular de látex número 202. b. torniquete de Esmarch.	22
FIGURA 4 - a. Perfusão regional intravenosa na veia cefálica, com torniquete tubular (GTT). b. Perfusão regional intravenosa na veia cefálica com torniquete de Esmarch (GTE).....	23
FIGURA 5 – Artrocentese da articulação rádio cárpica para obtenção das amostras de líquido sinovial do membro tratado.	24
FIGURA 6 - Realização de exame ultrassonográfico da veia cefálica e artéria mediana do membro torácico a ser tratado.....	27
FIGURA 7 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes momentos, no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTT (dose 2,2 mg/kg, n=5)..	30
FIGURA 8 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5).	30
FIGURA 9 - Representação gráfica dos valores médios das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTT e GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5) e concentração inibitória mínima (CIM) = $2\mu\text{g/mL}$	31
FIGURA 10 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTT (dose 2,2 mg/kg, n=5). .	33

FIGURA 11 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5). . 33

FIGURA 12 - Representação gráfica dos valores médios das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTT e GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5) e concentração inibitória mínima (CIM) = $2\mu\text{g/mL}$ 34

FIGURA 13 - Representação gráfica do decaimento das concentrações médias (IC95) de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo em plasma e líquido sinovial dos animais no GTT (Grupo Torniquete Tubular), submetidos ao tratamento (dose 2,2 mg/kg, n=5). Escala logarítmica. 35

FIGURA 14 - Representação gráfica do decaimento das concentrações médias (IC95) de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo em plasma e líquido sinovial dos animais no GTE (Grupo Torniquete Esmarch), submetidos ao tratamento (dose 2,2 mg/kg, n=5). Escala logarítmica. 35

FIGURA 15 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando o fluxo sanguíneo da veia cefálica, antes da aplicação do torniquete (M0), demonstrando fluxo venoso normal. 39

FIGURA 16 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, antes da aplicação do torniquete (M0), demonstrando fluxo arterial normal..... 39

FIGURA 17 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando ausência de fluxo de fluxo sanguíneo da veia cefálica, aos 15 minutos de permanência do torniquete..... 40

FIGURA 18 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando ausência de fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, aos 15 minutos de permanência do torniquete..... 40

FIGURA 19 – Representação gráfica da imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando retorno de fluxo sanguíneo na veia cefálica, após a retirada do torniquete aos 30 minutos após PRIVA..... 41

FIGURA 20 – Representação gráfica da imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando retorno de fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, após a retirada do torniquete aos 30 minutos após PRIVA..... 41

SUMÁRIO

RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiii
1.REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1.INTRODUÇÃO	1
1.2.Infecções ortopédicas	2
1.2.1.Tratamento.....	3
1.2.2.Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobiano (PRIVA).....	4
1.3.Sulfato de Gentamicina	14
1.4.Farmacocinética e parâmetros farmacocinéticos	16
2.OBJETIVOS	18
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1.Animais e Grupos.....	19
3.2.Preparação dos animais.....	20
3.3.Procedimentos	20
3.4.Determinação da Concentração e Análise Farmacocinética da Gentamicina	25
3.5.Ultrassonografia Doppler.....	26
3.6.Análise Estatística	27
4.RESULTADOS	27
4.1.Animais e procedimentos	27
4.2.Análises Laboratoriais	28
4.3.Determinação da concentração do antimicrobiano nas amostras de plasma e Líquido sinovial.....	28
4.4.Análise Farmacocinética	34
4.5.Ultrassonografia Doppler.....	38
5.DISSCUSSÃO	42
6.CONCLUSÃO.....	50
7.REFERÊNCIAS.....	51

RESUMO

Os equinos são acometidos frequentemente por processos sépticos na porção distal dos membros. Dentre as mais variadas condutas terapêuticas, destaca-se a perfusão regional intravenosa de antimicrobianos (PRIVA) utilizada como opção para combater a infecção local. A técnica objetiva proporcionar uma concentração elevada do fármaco no local acometido. O procedimento se baseia no posicionamento de um torniquete na região proximal ao local infectado, proporcionando a oclusão do fluxo sanguíneo venoso e arterial, permitindo que o fármaco permaneça na região acometida por no mínimo 30 minutos. Dentre os antimicrobianos indicados para a PRIVA, destaca-se o sulfato de gentamicina. Objetivou-se com este estudo avaliar e comparar a farmacocinética da gentamicina, no plasma e líquido sinovial da articulação do carpo de equinos, submetidos a PRIVA, utilizando dois modelos de torniquetes. Foram utilizados dez equinos hígidos, divididos aleatoriamente em dois grupos de cinco animais, os torniquetes foram aplicados no terço médio do rádio, sempre pelo mesmo aplicador. O grupo GTT recebeu torniquete de látex tubular, enquanto que o grupo GTE, faixa de Esmarch. Após o posicionamento dos torniquetes, acessou-se a veia cefálica e administrou-se 2,2 mg/kg de sulfato de gentamicina, adicionado à solução fisiológica q.s.p. 40 mL. Previamente ao posicionamento do torniquete, procedeu-se avaliação ultrassonográfica color Doppler no membro tratado para visualização da veia cefálica e artéria mediana. Amostras de líquido sinovial do carpo e sangue foram obtidas nos momentos M0, M15', M30', M1h, M2h, M4h, M6h, M8h, M12h, M24h e M48h para a realização da análise de concentração de gentamicina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), bem como para os cálculos dos parâmetros farmacocinéticos em modelo monocompartimental. Não foram encontradas diferenças significativas dos parâmetros farmacocinéticos entre os grupos tratados ($P > 0,05$). Os resultados demonstraram que os dois modelos de torniquetes podem ser utilizados na PRIVA em região proximal de membro torácico em equinos, pois ambos, se aplicados corretamente, são capazes de obstruir os fluxos venoso e arterial e proporcionar concentrações acima da concentração inibitória mínima (CIM) de gentamicina em líquido sinovial para a maioria dos patógenos encontrados nas artrites sépticas por até 48 horas.

Palavras chave: perfusão regional, artrite séptica, gentamicina, equinos.

ABSTRACT

The horses are often affected by septic processes in the distal portions of the limbs. Among the various therapeutic approaches, there is intravenous regional perfusion of antimicrobials (IRPA) used as an option to combat local infection. The technique aims to provide a high concentration of the drug in the affected area. The procedure is based on placing a tourniquet proximal to the infected area in the region of providing the venous and arterial blood flow occlusion, allowing the drug to remain on the affected area at least 30 minutes. Among the antimicrobial agents indicated for IRPA, highlight the gentamicin sulfate. The objective of this study was to evaluate and compare the pharmacokinetics of gentamicin in plasma and synovial fluid of carpal joint of horses undergoing IRPA using two models of tourniquets. Were used ten healthy equines, randomly divided into two groups of five animals, the tourniquets were applied in the middle third of the radius, always by the same applicator. The tourniquet GTT group received latex tube, while the GTE group Esmarch bandage. After positioning the tourniquets, the cephalic vein had been accessed and administered 2.2 mg / kg gentamicin sulfate, added to 40 mL saline q.s.. Prior to placement of the tourniquet, proceeded color Doppler ultrasonographic evaluation in the treated limb for viewing the median artery and cephalic vein. Samples of synovial fluid and blood carpal were obtained in the moments M0, M15', M30', M1h, M2h, M4h, M6h, M8h, M12h, M24h and M48h to perform the analysis of concentration of gentamicin by high-performance liquid chromatography (HPLC), as well as calculations of pharmacokinetic parameters in monocompartment model. No significant differences in pharmacokinetic parameters were found between treatment groups ($P>0.05$). The results showed that the two types of tourniquets in IRPA can be used in a proximal region of forelimb in horses, if applied properly, both are capable of block the arterial and venous flows and provide for concentrations above the minimum inhibitory concentration (MIC) of gentamicin in synovial fluid for most septic arthritis pathogens found in up to 48 hours.

Keywords: limb regional perfusion, septic arthritis, gentamicin, equine.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. INTRODUÇÃO

As infecções na porção distal dos membros são comuns nos equinos e representam um grande desafio para os veterinários, principalmente quando acometem animais atletas (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006).

Dentre as infecções ortopédicas, ocorrem com frequência as artrites sépticas, caracterizadas pela colonização bacteriana da membrana sinovial (MCILWRAITH, 1983). O tratamento destas infecções, geralmente é prolongado e dispendioso, devendo ser iniciado rapidamente para minimizar suas complicações, como, por exemplo, a impossibilidade de retorno ao esporte ou óbito do animal (SCHNEIDER et al., 1992).

Os princípios básicos para o tratamento das artrites sépticas incluem: atingir e manter uma elevada concentração do antimicrobiano nas articulações acometidas pelo processo infeccioso (TROTTER, 1996); realizar a lavagem e debridamento cirúrgico para remover as bactérias, tecidos desvitalizados e demais debris inflamatórios (TROTER, 1996; RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006) e controlar a inflamação com fármacos sistêmicos ou locais (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006).

O sucesso do tratamento depende de muitos fatores, incluindo a virulência do agente causador, competência dos mecanismos de defesa do hospedeiro, eficácia do antimicrobiano escolhido e principalmente o alcance das concentrações inibitórias mínimas (CIM) do fármaco no local infectado. Sendo assim a escolha correta do antimicrobiano e sua via são fundamentais para o sucesso terapêutico (PARRA-SANCHEZ et al., 2006).

A perfusão regional intravenosa de antimicrobianos é uma técnica de administração local de fármacos de uso frequente na medicina de grandes animais. O procedimento visa aumentar a concentração do medicamento no local da infecção, contribuindo para eliminação do processo infeccioso, com a

vantagem de requerer baixas doses e minimizar o risco de toxicidade (BUTT et al., 2001; ORSINI, ELCE & KRAUS, 2004; RUBIO-MARTÍNEZ e CRUZ, 2006).

Dentre os antimicrobianos que podem ser utilizados na perfusão regional, destaca-se o sulfato de gentamicina, sendo este administrado com frequência nos processos sépticos da extremidade dos membros dos equinos (WERNER, HARDY & BERTONE, 2003). Assim, é necessário conhecer os parâmetros farmacocinéticos deste fármaco quando administrado pela via intravenosa regional, visando a utilização de uma terapia adequada que permita atingir elevadas concentrações do antimicrobiano na região acometida.

1.2. Infecções ortopédicas

As infecções ortopédicas podem ocorrer nos ossos e ou estruturas sinoviais como articulações e bainhas tendíneas. São caracterizadas pela presença, colonização e proliferação de uma ou mais espécies de bactérias. A colonização pode ocorrer através de duas rotas diferentes: via hematogena ou inoculação direta. Uma variedade de microorganismos é geralmente envolvida e a identificação do agente causador é útil para determinar o tratamento e a avaliação do prognóstico. (MOORE et al., 1992).

Dentre estas infecções, ocorre com frequência, a artrite séptica que pode ser definida como uma grave infecção das estruturas sinoviais. Esta enfermidade é decorrente de colonização e proliferação bacteriana que induz resposta inflamatória grave que pode causar trombose vascular e necrose, resultando em danos irreversíveis na cartilagem, fibrose capsular e aderências intrasinoviais. Caso esta doença não seja diagnosticada ou tratada corretamente, pode levar a perda da função do membro ou morte (MCILWRAITH, 1983).

Podemos definir como sinais clínicos clássicos de infecção articular o aumento de temperatura, edema e a rápida progressão para impotência funcional do membro afetado, muitas vezes em menos de 24 horas (BERTONE, 1996).

A etiologia das artrites sépticas pode ser iatrogênica, através da inoculação (injeções ou intervenções cirúrgicas intra-articulares), lesões traumáticas

penetrantes (inoculação direta) ou hematogena, mais frequente nos potros, sendo considerada como uma complicação comum de septicemia generalizada (JANSSON, 2003). Como causas mais comuns, Schneider et al. (1992) descrevem as feridas traumáticas (36,5%), seguidas por injeção intra-articular (34,1%), complicações pós-operatórias (19,8%) e idiopática (9,5%).

Os organismos comumente envolvidos nas infecções ortopédicas dos equinos são as enterobactérias, como a *Escherichia coli*, estreptococos, estafilococos e *Pseudomonas spp.* (MOORE et al., 1992; SCHNEIDER et al., 1992). Especificamente nas artrites sépticas os patógenos envolvidos são bactérias encontradas principalmente no ambiente, ocorrendo uma incidência elevada de bactérias gram-negativas, tais como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* e *Citrobacter spp.* (MEIJER, RIJKENHUIZEN & WEEREN, 2000). As infecções causadas por feridas penetrantes podem ter como causa uma enorme gama de organismos infecciosos potenciais, incluindo *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, membros da família *Enterobacteriaceae*, leveduras e outros fungos (JANSSON, 2003).

Moore et al. (1992) realizaram um estudo de 424 isolados bacterianos de 233 cavalos com artrite, tenossinovite ou osteíte séptica e concluíram que 91% eram microrganismos aeróbios ou facultativos. As enterobactérias foram os organismos causais mais comuns (28,8%), seguido por estreptococos (13%) e estafilococos (11,8%).

1.2.1. Tratamento

As infecções ortopédicas exigem tratamento apropriado de acordo com as diferentes localizações anatômicas e estruturas envolvidas. Quando as infecções acometem as estruturas sinoviais e ossos são de difícil tratamento, podendo apresentar um prognóstico desfavorável (KRAMER, 2006).

A administração sistêmica de antimicrobianos geralmente atinge a CIM em ossos, articulações ou tendões considerados normais (LLOYD et al., 1990).

Porém, as principais afecções ortopédicas como a osteomielite e a sinovite séptica podem produzir principalmente trombose vascular e isquemia, limitando a entrega sistêmica de antimicrobianos em concentrações suficientemente elevadas para combater a infecção nestes tecidos (MCILWRAITH, 1983). Em geral, quando estas regiões estão infectadas, ocorrem mudanças no pH local, que pode também inativar alguns antimicrobianos, assim como alterar o fluxo sanguíneo, devido obstrução capilar por fibrina e detritos, prejudicando a difusão do fármaco localmente (FITZGERALD, 1984). Assim, o ambiente séptico diminui a entrega e a eficácia do antimicrobiano, podendo levar ao fracasso terapêutico e resistência. (FITZGERALD, 1984; IVESTER & ADAMS, 2007).

1.2.2. Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobiano (PRIVA)

Frente aos desafios encontrados na administração sistêmica para o tratamento das infecções ortopédicas, métodos de administração local de antimicrobianos têm sido amplamente estudados e desenvolvidos, incluindo a via intra-articular, implantes impregnados e a perfusão regional de antimicrobianos em membros de equinos. (WHITEHAIR et al., 1992a).

A perfusão regional (PR) foi descrita pela primeira vez em 1908, como um método para promover a anestesia regional para determinados procedimentos cirúrgicos. Posteriormente foi utilizada para a administração de substâncias, tais como agentes antimicrobianos e citostáticos para humanos e animais (FINSTERBUSCH, ARGAMAN & SACKS, 1970). Na década de 90, a técnica de PR com antimicrobianos ganhou notoriedade, sendo melhor estudada sua utilização na espécie equina. Atualmente é considerada uma terapia eficaz para tratamento de infecções ortopédicas nesta espécie (FINSTERBUSH & WEINBERG, 1972; WHITEHAIR et al., 1992a; WHITEHAIR et al., 1992c; GAGNON et al., 1994 e MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999) e em bovinos (RODRIGUES et al., 2010;).

A PR consiste basicamente na administração de um fármaco sob duas formas: através do sistema venoso regional, denominado de perfusão regional

intravenosa (MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999) ou diretamente na cavidade medular, conhecido como perfusão regional intraóssea (WHITERHAIR et al., 1992a). Estas formas de PR são indicadas para o tratamento de infecções ósseas, articulares, tendíneas e de tecidos moles, localizados a partir da porção distal de rádio (WHITEHAIR et al., 1992a; KRAMER, 2006; KRAUS, 2006 e RUBIO-MARTÍNEZ e CRUZ, 2006) ou articulação tíbio társica (SCHEUCH et al., 2002 e RODRIGUES et al., 2010) até as estruturas digitais. A técnica foi utilizada com sucesso em equinos adultos, no tratamento de tenossinovite séptica, osteomielite, artrite e osteíte podal séptica (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006). Pode ser utilizada ainda como método preventivo de infecção, durante procedimentos cirúrgicos longos (WHITEHAIR et al., 1992b) e no tratamento de feridas crônicas localizadas nos membros (PILLE et al., 2005).

A perfusão regional intravenosa de antimicrobianos (PRIVA) tem sido descrita como uma terapia eficaz no tratamento de infecções da porção distal de membros de equinos (WHITEHAIR et al., 1992a; BUTT et al., 2001 e ORSINI, ELCE & KRAUS, 2004). O método fornece uma CIM satisfatória nos membros, utilizando doses mais baixas em comparação com a administração sistêmica, diminuindo o custo do tratamento e o risco de toxicidade (BUTT et al., 2001). Além disso, a concentração de antimicrobianos na região do membro submetido à PRIVA é considerada maior, quando comparada com a administração sistêmica (WHITEHAIR et al., 1992a e MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999).

A preparação da região para a realização da PRIVA deve ser criteriosa. O procedimento pode ser realizado sob anestesia geral ou com sedação associada à anestesia regional e bloqueios perineurais (BUTT et al., 2001; ORSINI, ELCE & KRAUS, 2004). A técnica é descrita com a realização do isolamento da circulação sistêmica, através da aplicação de um torniquete, resultando em elevados gradientes de pressão entre os compartimentos intra e extravascular. Desta forma, ocorre a melhora da difusão em torno dos tecidos como fluído sinovial, tecidos moles e ósseos, incluindo tecidos mal vascularizados, onde as bactérias se encontram protegidas dos antimicrobianos administrados pelas vias sistêmicas convencionais (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972).

Em 1999, Palmer e Hogan utilizaram xeroradiografia na aplicação de um contraste em um vaso digital. Este estudo demonstrou que havia perfusão completa de todo o sistema vascular no dígito, distal ao torniquete, após alguns segundos da aplicação e que, após 30 minutos se observa pouco contraste presente nos espaços vasculares e o mesmo se acumulava nos tecidos moles do dígito. Após 15 minutos da retirada do torniquete o contraste continuava presente nos tecidos, já não sendo mais visível nos vasos.

Estudos sobre a microvascularização dérmica revelam que durante a PR ocorre a dilatação de capilares venosos e vasos linfáticos, provocando o relaxamento entre as células endoteliais e pericitos, criando pequenas lacunas na parede vascular, que permitem uma maior difusão sem injúria celular. Portanto, além de promover elevados gradientes de concentração, ocorre um efeito mecânico que facilita a perfusão do fármaco para o interior da área alvo (LANGER, SEIDLER & PARTSCH, 1996).

A PRIVA deve ser realizada em vasos regionais, pois a administração nas arteríolas não contribui para o processo de difusão (LANGER, SEIDLER & PARTSCH, 1996). Há relatos da utilização de PR via intrarterial na porção distal do membro com miconazol para tratamento de equino com pitiose crônica (WORSTER et al., 2000), porém os efeitos tóxicos causados pelos fármacos sobre o endotélio são muito mais frequentes e graves nas artérias do que nas veias. Assim, sua utilização não é recomendada na prática clínica (GOTTLOB, 1972).

Sendo assim, a PRIVA deve ser realizada mediante aplicação de um torniquete proximalmente ao local acometido, seguido da punção de uma veia local superficial (WHITEHAIR et al., 1992a). As veias cefálica, digital palmar ou safena são utilizadas com sucesso (BUTT et al., 2001). Para a administração se usam scalpels de tamanhos 18 a 20 G para animais adultos e 22 G para potros, sendo que os menores diâmetros causam menos danos ao endotélio. As tentativas repetidas de cateterização da veia devem ser evitadas, no intuito de preservar a parede do vaso e prevenir o extravasamento da solução com acúmulo do fluido com antimicrobiano no espaço subcutâneo (RICHARDSON, 2003).

A principal vantagem da PRIVA é a facilidade de sua realização e por não requerer a necessidade de equipamento diferenciado ao da rotina clínica (BUTT et al., 2001). Porém, em muitos casos a palpação e a localização das veias são dificultadas pela presença de edema, devido à inflamação local. Além disso, caso haja a necessidade de múltiplas perfusões, sua execução se torna dificultosa, elevando o risco de trombose. Nestes casos, alguns profissionais optam pela cateterização, no entanto a manutenção de cateteres nas veias desta região é considerada difícil (SCOTT et al., 2000; BUTT et al., 2001).

A PRIVA pode ser realizada com o animal em posição quadrupedal ou em decúbito, submetido à anestesia geral. Apesar de o decúbito ser mais confortável e seguro para o cirurgião e possuir melhor controle da dor do torniquete para o animal, o procedimento anestésico tem um custo elevado e submete o paciente a riscos adicionais associados à anestesia (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006).

A realização da técnica em decúbito é recomendada quando o animal é submetido à cirurgia ortopédica, realizando-se assim a PRIVA concomitante ao procedimento cirúrgico (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006). O procedimento pode ser executado mesmo naqueles casos que se realizam lavagem articular, pois se comprovou que não há perdas significativas de antimicrobiano quando se realiza a PRIVA, distal ao carpo e a lavagem da articulação metacarpofalângica simultaneamente. Tais procedimentos são realizados comumente pelos cirurgiões, durante o ato operatório para combater infecções sinoviais (ALKABES et al., 2011).

Alternativamente, a técnica da PRIVA pode ser realizada em posição quadrupedal com segurança, com ou sem sedação e anestesia perineural, dependendo da índole do animal. (PALMER & HOGAN, 1999 e MATTSON et al., 2005). O estímulo provido da compressão aplicada pelo torniquete pode ser incômodo e poderá exigir uma dose adicional de sedativo, bloqueio perineural ou a administração de anestésico local antes da perfusão (MOORE et al., 1992).

Dependendo da localização da afecção e do conseqüente posicionamento do torniquete, algumas opções de bloqueio são sugeridas. Quando o objetivo é a

articulação cárpica, a veia cefálica é utilizada e por isto se recomenda o bloqueio dos nervos mediano, ulnar e musculo cutâneo, sendo o torniquete posicionado proximal ao carpo (PALMER & HOGAN, 1999; BASSAGE & ROSS, 2003).

Quando o equino está em posição quadrupedal, os tendões flexores estão estendidos, dificultando a aplicação do torniquete. Desta forma, recomenda-se colocar pequenos rolos de gaze sobre os sulcos estabelecidos pelos tendões com o objetivo que a pressão exercida pelo torniquete realize a completa oclusão do sistema venoso (PALMER & HOGAN, 1999). Deste mesmo modo, rolos de gaze ou compressas podem ser colocados sobre a veia cefálica ou safena (CIMETTI, MERRIAM & D'OENCH, 2004).

O sucesso da PRIVA pode ser determinado por fatores como as propriedades do torniquete (LEVINE et al., 2010, ALKABES et al., 2011), características do paciente (BECCAR-VARELA, EPSTEIN & WHITE, 2011) e características da perfusão, incluindo a seleção antimicrobiana (MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999; PARRA-SANCHEZ et al, 2006) e volume perfundido (CIMETTI, MERRIAM & D'OENCH, 2004).

O volume de perfusão ideal é desconhecido (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006) e pode variar entre 20 (MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999; PALMAR & HOGAN, 1999) a 250 mL (CIMETTI, MERRIAM & D'OENCH, 2004). Perfusões fazendo uso de volumes de 20 a 60 mL foram relatados em animais adultos, mas de forma geral, utilizam-se volumes de 20 mL para perfusão do dígito e até 60 mL para carpo e tarso (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006), sendo que o volume de 60 mL é a escolha da maioria dos autores (HYDE et al., 2013). Não há na literatura informações sobre o volume ideal a ser administrado, sendo mais coerente utilizar o volume do fluído a ser perfundido correlacionado com o tamanho do membro e da região alvo (BUTT et al., 2001). Ainda assim, é presuposto que um volume maior causaria uma maior pressão intravascular e conseqüentemente haveria uma melhor difusão do fármaco para os tecidos circundantes (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006). Por outro lado, um aumento excessivo na pressão intravascular pode interferir na eficácia do torniquete, resultando em extravazamento da perfusão para a circulação sistêmica (GRICE et

al., 1986) ou através do local de punção venosa e tecido subcutâneo (PARRA-SANCHEZ et al, 2006). A influência do volume do perfusato sobre a concentração de antimicrobiano no fluido sinovial, após a PRIVA com gentamicina foi estudada por Hyde et al. em 2013 e não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os grupos com 10, 20 e 60 mL de volume perfundido, embora a média do grupo com menor volume foi maior do que as demais, sugerindo que a difusão por um gradiente de concentração pode ser igualmente ou mais importante do que a distensão venosa.

Durante a administração do fármaco, a solução é injetada sob pressão (WHITEHAIR et al., 1992a) para que ocorra a difusão do antimicrobiano nos tecidos isquêmicos (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972). A solução pode ser administrada em bolus manualmente (BUTT et al., 2001) ou lentamente e de forma controlada, geralmente na taxa de 2 mL por minuto (WHITEHAIR et al., 1992b). A administração pode ser manual ou através de uma bomba de infusão, que pode ser utilizada devida sua facilidade e segurança (MCKENZIE & MURRAY, 2000).

Após a retirada do torniquete, os tecidos já perfundidos servem como um depósito para o fármaco, que continua se difundir. Estudos com venografia confirmam a ocorrência da penetração de substâncias nas áreas infectadas (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972), confirmando que o conteúdo é distribuído via sistema venoso, até mesmo na PR intraóssea (WHITEHAIR et al., 1992b).

A escolha do antimicrobiano a ser utilizado através da perfusão regional intravenosa deve ser realizada de acordo com uma série de características desejáveis e, portanto, suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas devem ser conhecidas (ZHANEL, 2001).

A seleção antimicrobiana inicial também pode ser realizada de acordo com os agentes patogênicos mais frequentemente associados com a infecção no local (SCHNEIDER et al., 1992; MOORE et al., 1992). Porém para auxiliar e nortear com mais precisão a seleção, testes de cultura e sensibilidade antimicrobiana são

desejáveis, preferencialmente, realizados antes do início do tratamento (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006).

A princípio, o fármaco deve ser solúvel em água para serem dissolvidos em solução isotônica equilibrada de NaCl 0,9% ou solução de Ringer com lactato (SCHNEIDER et al., 1992; MOORE et al., 1992) e possuir indicação de administração intravenosa (SANTSCHI, ADAMS & MURPHEY, 2003).

Nos equinos, a PRIVA tem sido realizada utilizando gentamicina, amicacina, cefazolina, ceftiofur, penicilina G sódica, vancomicina (GAGNON et al., 1994; NAVARRE et al., 1999; MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999; BUTT et al., 2001; PILLE et al., 2005; RUBIO-MARTÍNEZ et al., 2005) e marbofloxacina (LALLEMAND et al., 2013). Dentre eles os mais comumente utilizados através da PRIVA para o tratamento de infecções osteomusculares são os aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) (SCHNEIDER et al., 1992), pois são efetivos contra os patógenos causadores de infecções ortopédicas mais comuns (WERNER, HARDY & BERTONE, 2003), tornando-se uma alternativa terapêutica contra infecções por bactérias gram-negativas e algumas gram positivas (WHITTEM & HANLON, 1997). Estudos demonstram que a amicacina e a gentamicina são efetivas contra mais de 80% das bactérias isoladas de afecções musculoesqueléticas e também são ativas no líquido sinovial (SNYDER et al., 1992).

Ainda não se estabeleceu um número exato de perfusões a ser realizadas. Um estudo relatou que houve melhora de feridas crônicas purulentas em humanos depois de 4 a 6 sessões de PRIVA (FINSTERBUSH & WEINBERG, 1972). Porém, o número de perfusões necessárias para eliminar uma infecção articular e óssea em equinos é desconhecida, sendo dependentes da evolução do caso (BUTT et al., 2001).

Apesar de considerada eficaz, muitos profissionais utilizam a PRIVA como um tratamento adjuvante e isso torna difícil avaliar o grau de sua eficácia. Normalmente esta terapia é associada a outras como, por exemplo: administração sistêmica de antimicrobianos; lavagem articular; debridamento cirúrgico; terapia

antiinflamatória e repouso (PALMER & HOGAN, 1999). As estratégias e gestão de tratamento diferem amplamente entre os casos, impedindo comparações diretas entre os relatórios clínicos. Não há protocolo de tratamento geral estabelecido, observando-se amplas variações das doses, frequência e intervalo de aplicação. Reconhecidamente, observa-se de maneira concensual seu resultado positivo, no tratamento das infecções ortopédicas (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972).

Há variados relatos de protocolos que vem sendo utilizados em casos clínicos. Geralmente as perfusões são realizadas uma vez por dia ou a cada 2 ou 3 dias. Nos humanos com infecções crônicas se realiza a PRIVA duas vezes por dia durante 5 a 7 dias, dependendo do antimicrobiano escolhido (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972). Em alguns casos clínicos se observa a melhora após uma única perfusão. Estudos comparativos não foram realizados para determinar a duração ideal do procedimento. O período em que o torniquete deve ser mantido também é incerto, podendo ser dependente das características físico-químicas, farmacológicas e farmacodinâmicas dos antimicrobianos, fatores microbiológicos da infecção e individuais do paciente (RUBIO-MARTÍNEZ et al., 2005). Questões importantes ainda permanecem sobre a dose adequada de antimicrobianos, melhor volume de perfusão e intervalo adequado entre as perfusões em equinos, com infecções ortopédicas (BUTT et al., 2001).

O uso da PRIVA de forma profilática é descrita em humanos em procedimentos cirúrgicos complexos, demonstrando resultados satisfatórios previamente à implantação de próteses em joelhos (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006). Esta utilização é pouco descrita em cavalos, mas se acredita ser benéfica, principalmente em procedimentos cirúrgicos longos, como fraturas complexas ou artrodeses difíceis, que estão associadas a um maior risco de infecção sinovial (MACDONALD et al., 1994). Quando uma lesão é recente e não há infecção se recomenda de 1 a 3 perfusões em intervalos de 24 horas para prevenir um processo séptico (KELMER et al., 2009).

A utilização da PRIVA não está relacionada a grandes complicações em equinos, porém alguns efeitos indesejáveis são relatados como trombose parcial

da veia, principalmente quando ocorrem punções repetidas e raras irritações teciduais severas (KRAMER, 2006). Não há estudos que avaliaram com critério as alterações locais da perfusão (BUTT et al., 2001; SCHEUCH et al., 2002), embora em um estudo realizado por Rafael em 2012, a PRIVA com gentamicina em dose única de 2,2mg/kg, utilizando torniquete tubular, não provocou a formação de trombose na veia cefálica de equinos avaliados através da ultrassonografia duplex em cores.

1.2.2.1. Torniquetes

Os torniquetes são utilizados com frequência durante cirurgias ortopédicas distais ao carpo e tarso ou durante anestésias regionais nos equinos. Para a realização da PRIVA, o torniquete é um item essencial e pode ser definido como uma banda circunferencial apertada, que deve ser aplicada em torno de uma extremidade para comprimir vasos sanguíneos, obstruindo seu fluxo (ADAMS, 1998). Ele deve ser posicionado proximalmente ao local que apresenta infecção de modo que venha a obstruir satisfatoriamente os sistemas arterial e venoso local impedindo a perfusão sanguínea sistêmica (GRICE et al., 1986) e evitando a dissipação do fármaco fora da área alvo (FINSTERBUSCH & WEINBERG, 1972). Dependendo da localização do foco séptico é interessante a aplicação de dois torniquetes, um proximal e um distal ao foco, administrando-se a solução entre eles (WHITEHAIR et al., 1992c).

A eficácia de cada torniquete depende da sua capacidade de evitar extravasamento da região perfundida para a circulação sistêmica. Aspectos como a pressão da perfusão, largura do torniquete, características do paciente, local e taxa de injeção, volume de infusão e a exsanguinação prévia podem determinar a sua eficiência (GRICE et al., 1986).

Para realização da PRIVA é relatado o uso de diferentes modelos de torniquetes, sendo que os principais utilizados em equinos são os de látex (borracha tubular elástica), faixas elásticas (conhecidas como faixa de Esmarch) e os torniquetes pneumáticos (ADAMS, 1998).

Os torniquetes pneumáticos permitem um melhor controle da pressão e a sua aplicação é mais uniforme, sendo por isso considerado o torniquete que oferece menor risco de danos aos tecidos (GRICE et al., 1986). De acordo com Levine et al. (2010) este torniquete proporciona níveis mais elevados de antimicrobiano no líquido sinovial em comparação aos outros dois modelos.

A faixa de Esmarch é uma borracha elástica semelhante a uma atadura que pode variar de 5 a 12 cm de largura (MCLAREN & RORABECK, 1985). São comumente utilizados na rotina clínica por serem mais baratos e acessíveis do que os torniquetes pneumáticos (PALMER & HOGAN, 1999) e quando utilizado por até 30 minutos, não se observou nenhum tipo de complicação (ALKABES et al., 2011).

Os torniquetes mais estreitos como os de látex tubular foram utilizados com sucesso (NAVARRE et al., 1999; BUTT et al., 2001; RODRIGUES, 2010 e RAFAEL, 2012), porém são considerados menos eficientes (EL-HASSAN, HUTTON & BLACK, 1984) e mais traumáticos para os tecidos subjacentes (ADAMS, 1998; RODRIGUES et al., 2014). Há relatos que discordam sobre a sua utilização e desaconselham o seu uso, pois se acredita que este material é incapaz de proporcionar a CIM no líquido sinovial de equinos (LEVINE et al., 2010). Entretanto, foi demonstrado que quando corretamente aplicado na região do antebraço de equinos, este modelo de torniquete pode ser eficiente na PRIVA obstruindo completamente o fluxo arterial e venoso, sendo esta observação comprovada através da ultrassonografia Doppler (RAFAEL, 2012).

Outros torniquetes testados, que não os de borracha tubular, obtiveram concentrações 25 e 50 vezes acima da CIM para os principais patógenos associados a infecções articulares interfalângica distal e metacarpo falângica, respectivamente (MURPHEY, SANTACHI & PAPICH, 1999).

Em relação ao tempo ideal de permanência do torniquete, períodos de 30 minutos são clinicamente práticos e eficazes (WHITEHAIR et al., 1992c; PALMER & HOGAN, 1999), embora períodos mais longos (até 1 hora) foram utilizados sem apresentar efeitos adversos (KETTNER, PARKER & WATROUS, 2003).

A pressão aplicada por um torniquete é muito variável, sendo considerada totalmente aplicador-dependente e por isso difícil de padronizar. A aplicação ideal é a que possui um pressão mínima necessária para a completa obstrução do sistema venoso local, que tem sido definido como cerca de 100 mmHg (ADAMS, 1998). No entanto, os valores de pressão não são conhecidos quando utilizado torniquetes de borracha (GAGNON et al., 1994 e SCHEUCH et al., 2002).

O uso de torniquetes tem sido associado com inúmeras complicações. O torniquete pneumático é considerado mais seguro do que o torniquete de Esmarch, devido à sua estrutura contornar o membro mais uniformemente (GRICE et al., 1986). As principais alterações relatadas após a aplicação do torniquete incluem edema, atraso da recuperação da força muscular, compressão por neuropraxia, hematoma, lesão vascular, necrose do tecido e síndrome compartimental (WAKAI et al., 2001).

É comum a realização da exsanguinação ou sangria antes da infusão. Geralmente, utiliza-se a faixa de Esmarch para exsanguinação, aplicando-a a partir da porção mais distal do membro. A faixa é esticada de maneira uniforme e enrolada no membro, sobrepondo-se a metade da largura da faixa de baixo até o local onde se realiza a punção e a retirada de sangue quando se opta também pela sangria (MATTSON et al, 2005). Nestes casos, recomenda-se cateterizar a veia superficial antes da sangria do membro, pois após a sangria pode haver colapso e o acesso para cateterização se torna mais difícil. A PRIVA pode ser realizada com sucesso sem a necessidade da exsanguinação ou sangria (MATTSON et al., 2005), entretanto, o volume total da perfusão deve ser reduzido porque o volume combinado do sangue e o fármaco podem diminuir a eficácia do torniquete por aumentar a pressão (GRICE et al., 1986).

1.3. Sulfato de Gentamicina

O sulfato de gentamicina é um aminoglicosídeo produzido por actinomicetos do genero *Micromonospora purpúrea*. Sua composição é um complexo constituído por três componentes principais: gentamicina C1, C2 e C1a,

além de outros dois componententes C2a e C2b em menor quantidade (MARTINDALE,2002).

Possui ação bactericida contra bactérias gram-negativas aeróbicas, alguns estafilococos como *Staphylococcus aureus* e outras bactérias gram-positivas (MARTINDALE, 2002). O fármaco promove inibição da síntese proteica, ligando-se irreversivelmente à subunidade 30S do ribossoma bacteriano, que interfere com os vários mecanismos do processo de inibição da tradução do mRNA e consequentemente, na síntese de proteínas (CHAMBERS, 2010). Assim como nos demais aminoglicosídeos, o efeito bactericida da gentamicina é concentração dependente (MOORE, LIETMAN & SMITH, 1987 e CHAMBERS, 2010) e apresenta um efeito pós-antibiótico significativo. Assim, a administração sob a forma de uma dose alta única, pode apresentar maior eficácia do que em múltiplas doses baixas (CHAMBERS, 2010). Portanto tratamentos através da PR são preferíveis, pois diminuem o risco de toxicidade renal, uma vez que concentrações altas são alcançadas com doses menores por esta via, em comparação com a necessidade da administração sistêmica (WERNER, HARDY & BERTONE, 2003).

Apesar de ser comum o relato de resistência bacteriana durante a utilização da gentamicina (MOORE et al., 1992; ORSINI et al., 1989), este aminoglicosídeo é utilizado frequentemente na PRIVA em equinos, podendo ser administrado nas doses de 100 mg (SANTSCHI, ADAMS & MURPHEY, 1998; BUTT et al., 2001) a 1 g (WHITEHAIR et al., 1992b) ou calculada através da massa corporal na dose de 2,2 mg/kg (MATTSON et al., 2005). Em potros se recomenda utilizar 50 mg por perfusão (SANTSCHI, ADAMS & MURPHEY, 1998).

Cerca de 70% a 85% das bactérias isoladas de articulações sépticas de equinos são susceptíveis à gentamicina (MOORE et al., 1992). Um estudo que investigou infecções experimentais por *Staphylococcus aureus*, na articulação cárpica de cavalos relatou uma significativa diminuição do número de leucócitos médios e cultura negativa em alguns animais por 24 horas, após uma única PR com gentamicina (WHITEHAIR et al, 1992c).

Na concentração de 2 a 10 µg/mL, inibiu *in vitro*, várias cepas de estafilococos, coliformes e outras bactérias gram-negativas (CHAMBERS, 2010). A CIM de gentamicina contra os principais patógenos encontrados na artrite séptica de equinos pode variar de 1 a 8 µg/mL (BAGGOT&PRESCOTT, 1987; DOWLING, 2010). Em um isolado bacteriano comum nos equinos a CIM pode ser considerada de 2 µg / mL (LLOYD et al., 1988).

Em relação as propriedades farmacocinéticas, a gentamicina é pouco absorvida no trato intestinal normal, porém possui boa absorção após injeção intramuscular ou subcutânea e logo após administração parenteral, obtém-se concentração efetiva no líquido sinovial em equinos. A sua excreção é exclusivamente renal, através da filtração glomerular e a meia vida é de aproximadamente 1,4 a 1,8 horas em bovinos, ovinos e caprinos, 1,9 horas em suínos e 2,2 a 2,8 horas em equinos e humanos (BAGGOT, 2010).

Assim como os demais aminoglicosídeos, a gentamicina pode provocar os mais variados graus de ototoxicidade e nefrotoxicidade, quando utilizados por mais de 5 dias em doses elevadas (DOWLING, 2010 e KATZUNG, 2010).

1.4. Farmacocinética e parâmetros farmacocinéticos

Segundo a definição, farmacocinética é o estudo do curso das concentrações dos fármacos e dos metabólitos ao longo do tempo, nos diversos líquidos e tecidos do organismo. Além disso, estuda em termos quantitativos, os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, correspondendo a mensuração do que o organismo faz com os fármacos, diferenciando-se da farmacodinâmica, que se ocupa do estudo do que os fármacos fazem com o organismo. Para tal, desenvolveram-se modelos matemáticos que permitem estas interpretações (WAGNER, 1975; BENET et al., 1996; SCHELLACK, 2005; ARANCÍBIA, 2010).

É possível através dos conhecimentos da farmacocinética dos antimicrobianos e das características do microorganismo alvo, estimar a posologia

(alcance de um nível de concentração eficaz, acima da CIM), via de administração, intervalo de administração (manutenção acima da CIM) e duração da terapia mais adequada. Desta forma, busca-se alcançar o melhor resultado terapêutico e reduzir a probabilidade de efeitos tóxicos potenciais (SANCHEZ & LANUSSE, 1996 e ANVISA, 2008).

Para a análise farmacocinética, praticamente todos os fluidos orgânicos como plasma, sangue, soro, leite e urina podem ser utilizados (TOZER & ROWLAND, 2009). Os dados mais importantes na avaliação da eficácia dos antimicrobianos são: concentração máxima (C_{max}) e a área sob a curva (AUC). Além disso, os parâmetros como depuração, volume de distribuição, meia-vida, tempo de residência médio e relação de áreas devem ser considerados. Os cálculos destes parâmetros permitem estimar dose, via e intervalo de aplicação mais indicados (BARRAGRY, 1994).

A depuração ou *clearance* (Cl) indica a capacidade do organismo em eliminar o fármaco, o volume de distribuição (Vd) representa o espaço aparente no organismo disponível para receber o medicamento, a meia vida ($t_{1/2}$) expressa a taxa de redução da concentração durante a fase de excreção em função do tempo e é utilizada para definir o intervalo entre doses, a área sob a curva (AUC) indica a taxa de absorção do fármaco e o tempo de residência médio (MRT) corresponde ao tempo médio que as moléculas de um medicamento permanecem no organismo após a administração de uma única dose (BAGGOT, 2010).

Após a administração de uma única dose, por qualquer via, a AUC pode ser estimada pela regra trapezoidal linear, do momento zero até a última medição da concentração plasmática do medicamento, com extrapolação para o infinito, assumindo um declínio log-linear (BAGGOT, 2010).

A principal medida de atividade antimicrobiana é a concentração inibitória mínima (CIM). Pode ser definida como a concentração mais baixa de antibiótico que inibe 50% (CIM₅₀) ou 90% (CIM₉₀) do crescimento de microrganismos *in vitro*. A CIM é um bom indicador da eficiência de um antimicrobiano, porém não indica o tempo que o fármaco permanece ativo (BAGGOT, 2010). As características

farmacocinéticas como a concentração sérica ao longo do tempo e a AUC tempo-concentração sérica, quando associadas aos valores da CIM, podem prever a probabilidade de erradicação bacteriana e de sucesso clínico (GIGUÈRE, 2010).

2. OBJETIVOS

- Determinar e comparar a farmacocinética do sulfato de gentamicina, no plasma e líquido sinovial da articulação do carpo de equinos submetidos a PR na veia cefálica em dose única de 2,2 mg/kg, com a utilização de dois modelos de torniquetes;
- Comparar as concentrações de gentamicina no líquido sinovial com a concentração inibitória mínima, preconizada para as principais bactérias causadoras de artrites sépticas em equinos;
- Avaliar a eficácia e segurança de dois modelos de torniquetes rotineiramente utilizados para a PRIVA, através da avaliação da farmacocinética da gentamicina e ultrassonografia Doppler triplex da veia cefálica e artéria mediana.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Botucatu. A pesquisa contou com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Campus Botucatu, protocolo nº 113/2013.

3.1. Animais e Grupos

Foram utilizados dez equinos adultos, sem raça definida, de idade variando entre 10 e 15 anos, sadios, sem histórico prévio de afecções no aparelho locomotor. Os equinos ficaram alojados em baias individuais e foram alimentados com ração comercial na proporção de 1% do peso vivo, dividida em duas porções, oferecidas no período matutino e vespertino, além de receberem feno e água *ad libitum*.

Os animais foram divididos em dois grupos escolhidos aleatoriamente (Tabela 1), sendo um grupo de cinco equinos submetidos ao torniquete tubular de látex (GTT) e outros cinco animais que receberam o torniquete de Esmarch (GTE). Objetivando minimizar variações vasculares individuais, foram designados aleatoriamente o tratamento do membro torácico direito ou esquerdo, sendo o mesmo procedimento adotado para o GTE.

No intuito de proteger os tecidos musculares e nervosos da região de possíveis danos causados pelo torniquete do GTT, devido as suas características que permite uma estreita superfície de contato entre o membro e o torniquete, no momento da aplicação o mesmo foi posicionado sobre uma compressa cirúrgica em todos os animais do GTT.

TABELA 1 – Relação dos animais submetidos ao tratamento com PRIVA (Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobianos) com sulfato de gentamicina na dose de 2,2mg/kg nos grupos GTT (Grupo Torniquete Tubular) e GTE (Grupo Torniquete Esmarch).

	Animal	Sexo	Membro tratado	Peso (kg)
GTT	A1	Fêmea	MTD	343
	A2	Macho	MTD	384
	A3	Fêmea	MTD	390
	A4	Macho	MTE	390
	A5	Fêmea	MTE	362
GTE	A6	Macho	MTE	335
	A7	Macho	MTE	351
	A8	Fêmea	MTE	286
	A9	Fêmea	MTD	345
	A10	Macho	MTD	370

MTD = Membro Torácico Direito, MTE= Membro Torácico Esquerdo.

3.2. Preparação dos animais

Todos os animais foram pesados e identificados e aleatoriamente distribuídos nos grupos e sequência de realização. A tricotomia do membro torácico direito ou esquerdo foi realizada 24 horas antes do início do experimento, a partir da região mais proximal do rádio até a quartela.

Coletas de sangue através de venopunção jugular com sistema à vácuo¹ foram realizadas em dois momentos, sendo 24 horas antes do início do experimento e 24 horas após o término do experimento. Em cada momento foram coletadas duas amostras, sendo uma em tubo contendo anticoagulante para análise hematológica e outra em tubo seco com ativador de coagulação para análise bioquímica, sendo o soro transferido para tubo ependorf logo após a centrifugação do tubo a 3.000 rotações por minuto (RPM) durante 10 minutos. Ambas as amostras foram enviadas ao laboratório para a realização de hemograma completo: hemoglobina; número de hemácias; hematócrito; contagem total e diferencial de leucócitos; proteína total e fibrinogênio e exame bioquímico das enzimas hepáticas (incluindo gama glutamina transferase, aspartato amino transferase e fosfatase alcalina), função renal (uréia e creatinina) e proteína total sérica e albumina de todos os animais. Esta prática objetivou o acompanhamento clínico e laboratorial, até o término da fase de coleta das amostras com o objetivo de certificar a manutenção da higidez articular, considerando as artrocenteses seriadas realizadas.

3.3. Procedimentos

Os animais foram mantidos em posição quadrupedal e contidos em tronco específico para equinos, onde permaneceram durante todo o procedimento.

¹ Tubos, agulhas e adaptador Vacutainer® – BD Brasil, São Paulo/SP

Um cateter calibre 14G² foi colocado na veia jugular, sendo seu posicionamento correspondente ao lado contrário do escolhido para a PRIVA. Em seguida, administrou-se cloridrato de detomidina³ na dose de 30 µg/kg.

No intuito de amenizar o desconforto dos animais sem interferir nos parâmetros farmacocinéticos como demonstrado por Mahne et al (2013), optou-se pela realização de bloqueios perineurais dos nervos mediano, ulnar e músculo cutâneo (Figura 1). Estes foram realizados com a administração de 20 mL de cloridrato de lidocaína 2%⁴ (sem vasoconstritor) em cada bloqueio, através de uma seringa plástica de 20 mL⁵ e agulha hipodérmica 30X8⁶, ambas descartáveis.



FIGURA 1 - Bloqueio perineural dos nervos do membro torácico. **a.** nervo mediano. **b.** nervo ulnar e **c.** nervo músculo- cutâneo.

Após 10 minutos da realização do bloqueio perineural, aplicou-se o torniquete correspondente ao grupo definido. No GTT foi utilizado o torniquete tubular de látex número 202 (Figura 2a e 3a) e no GTE o torniquete de Esmarch 10 cm (Figura 2b e 3b).

² NIPRO®, Sorocaba/SP

³ Dormiun® – Agener União, São Paulo/SP

⁴ Xylestesin 2%® - Cristália, Itapira/SP

⁵ BD Plastipak® com Luer Slip descartável sem agulha – BD Brasil, São Paulo/SP

⁶ BD Precision Glide® – BD Brasil, São Paulo/SP

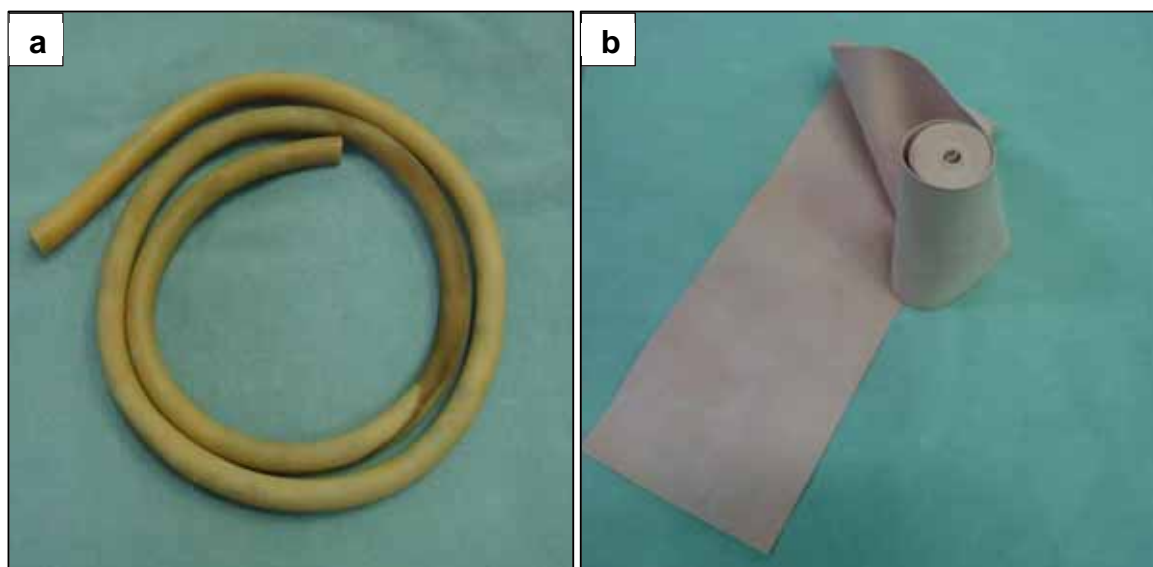


FIGURA 2 - a. Torniquete tubular de látex número 202. **b.** torniquete de Esmarch.



FIGURA 3 – Torniquetes aplicados no terço médio do rádio de equinos para a realização da PRIVA (Perfusão Regional Intravenosa de Antimicrobianos) com gentamicina - **a.** Torniquete tubular de látex número 202. **b.** torniquete de Esmarch.

Todos os torniquetes foram aplicados pelo mesmo indivíduo em ambos os grupos, com a padronização de quatro voltas do material elástico ao redor do

membro, no sentido anti-horário (aplicador destro), posicionados no terço médio do rádio e mantidos durante 30 minutos.

A seguir foi acessada a veia cefálica (*v. cephalica*) através da venopunção com um escalpe 19G⁷, acoplado a uma torneira de três vias⁸ e não foi realizada exsanguinação.

O volume do fármaco a ser perfundido foi calculado utilizando-se a dose de 2,2 mg/kg de sulfato de gentamicina⁹. O volume foi dividido igualmente em duas seringas e adicionada solução salina fisiológica (NaCl 0,9%), até obter o volume total de 20 mL em cada uma das duas seringas. A administração da solução, contendo sulfato de gentamicina e solução salina fisiológica foi realizada de forma contínua, com duração de 1 a 5 minutos, através da torneira de três vias, acoplada ao escalpe (Figura 4a/b). O torniquete foi retirado do local após 30 minutos da infusão completa do antimicrobiano.

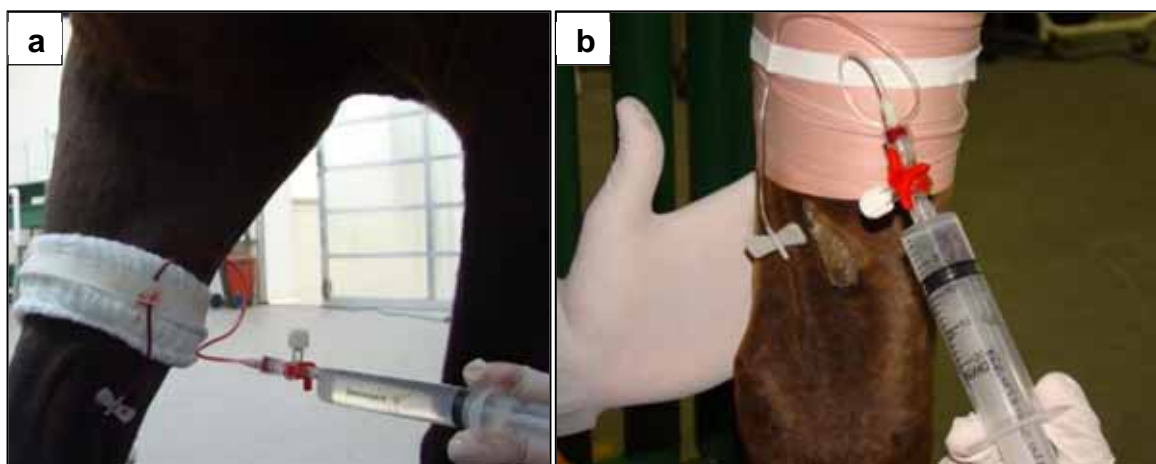


FIGURA 4 - a. Perfusão regional intravenosa na veia cefálica, com torniquete tubular (GTT). **b.** Perfusão regional intravenosa na veia cefálica com torniquete de Esmarch (GTE).

As amostras de líquido sinovial da articulação rádio cárpica (*articulatio radiocarpea*) e sangue da veia jugular dos animais foram coletadas antes do início do tratamento (M0), 15 minutos (M15'), 30 minutos (M30'), 1 hora (M1h), 2 horas

⁷ BD 19G – dispositivo para infusão intravenosa - BD Brasil, São Paulo/SP

⁸ Torneira 3 vias bico Luer Lock – Injex, Ourinhos/SP

⁹ Gentrin – Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos/SP.

(M2h), 4 horas (M4h), 6 horas (M6h), 8 horas (M8h), 12 horas (M12h), 24 horas (M24h) e 48 horas (M48h) após a administração do sulfato de gentamicina. As amostras colhidas no M15' e M30' foram realizadas antes da retirada do torniquete.

As amostras foram obtidas através de artrocenteses seriada (Figura 5), por meio de agulhas hipodérmicas 30 x 0,8mm e seringa de 5 mL, ambas descartáveis, onde frações contendo 0,5 a 1 mL foram acondicionadas imediatamente em tubos ependorf e armazenadas a uma temperatura de -20 °C. O local da artrocentese foi precedido de antissepsia com solução de digluconato de clorexidina a 0,5%¹⁰.



FIGURA 5 – Artrocentese da articulação rádio cárpica para obtenção das amostras de líquido sinovial do membro tratado.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo heparina, centrifugadas imediatamente e o plasma obtido armazenado em tubos ependorf. As amostras ficaram sob congelação a -20°C até o envio para análise.

¹⁰ Riohex 0,5%® - Rioquímica, São José do Rio Preto.

3.4. Determinação da Concentração e Análise Farmacocinética da Gentamicina

A determinação das concentrações de gentamicina e análise farmacocinética foram realizadas no laboratório de toxicologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - FcFar – UNESP – Araraquara.

Um método bioanalítico para a determinação de gentamicina em plasma e líquido sinovial por HPLC-MS/Ms foi desenvolvido e validado. Os limites de confiança do método analítico foram determinados de acordo com a resolução da ANVISA (RDC nº27, de 17 de maio de 2012) para a validação de métodos bioanalíticos.

Foi utilizado sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) Waters Alliance[®] equipado com detector de massas, coluna Symmetry[®] C₁₈, 3,5 µm, 2,1 mm x 50 mm, com injetor automático. A fase móvel foi constituída dos solventes acetonitrila e solução de ácido fórmico a 0,1% em modo isocrático (80:20) com fluxo de 0,2mL/min e o volume de injeção de 20µL. A detecção espectrométrica de massa foi realizada através de um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Íons foram gerados em modo de ionização positiva, utilizando uma interface de eletro-spray. Os parâmetros utilizados foram: capilaridade 3,5 kV, extrator 3V, voltagem do cone 20V, colisão 15V, temperatura da interface 120°C e temperatura de dessolvatação 450°C. O fluxo de gás de dessolvatação (nitrogênio) foi de 800L/h.

As transições monitoradas, obtidas a partir do MRM da gentamicina foram m/z 478,3- 322,3. Para o padrão interno estreptomicina, a transição monitorizada foi m/z 582,0 -263,25. O processamento das amostras foi feito pela acidificação da matriz biológica com HCl 10% seguida por precipitação de proteínas com MeOH.

O método bioanalítico desenvolvido neste trabalho atendeu aos requisitos necessários para ser aplicado na quantificação dos fármacos em amostras de

plasma e líquido sinovial para análise farmacocinética, sendo linear, preciso, exato e sensível. A faixa de linearidade do método para foi de 1,0 a 150 µg/mL em plasma ($r^2=0,998$) e de 1,0 a 75 µg/mL em líquido sinovial ($r^2=0,9994$). Os resultados de precisão e exatidão indicam valores adequados de coeficiente de variação (inferiores a 15%), demonstrando repetibilidade e reprodutibilidade satisfatórias para a aplicação do método. Os valores de limite de quantificação e limite de detecção foram igualmente considerados satisfatórios para a aplicação do método em estudo de farmacocinética. O fármaco apresentou estabilidade nas amostras biológicas por um período de até 6 horas quando mantidos em temperatura ambiente, por 24 horas após o processamento e também após 3 ciclos de congelamento e descongelamento.

Os parâmetros farmacocinéticos foram estimados por uma análise monocompartimental utilizando o programa Phoenix WinNonLin (Pharsigth Corporation).

3.5. Ultrassonografia Doppler

Foi utilizado um aparelho ultrassonográfico MyLab30 Vet Gold¹¹ (Processo FAPESP: 2010/01560-4) com transdutor linear multifrequencial de 8-13 MHz para avaliação da presença ou ausência de fluxo vascular na veia cefálica e artéria mediana, após a aplicação do torniquete para a execução dos procedimentos (Figura 6).

O membro torácico tratado foi avaliado através da ultrassonografia em modo B e Doppler triplex antes do procedimento (M0), 15 minutos após a PRIVA (M15´) e 15 minutos, após a retirada do torniquete em ambos os grupos.

¹¹ Aparelho Ultrassom MyLab 30 Vet Gold - Esaote Health Care do Brasil, São Paulo/SP.



FIGURA 6 - Realização de exame ultrassonográfico da veia cefálica e artéria mediana do membro torácico a ser tratado.

3.6. Análise Estatística

As análises estatísticas da comparação entre as concentrações de gentamicina por momentos entre os grupos foram realizadas empregando-se o teste t-student através do programa R (R Project, 2008). Os parâmetros farmacocinéticos foram analisados através do programa Graphpad Prism 6. O nível de significância estatística foi definido como $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Animais e procedimentos

A realização dos procedimentos com o animal em tronco de contenção permitiu o decorrer do experimento de forma segura e adequada ao procedimento de perfusão e as artrocenteses, possibilitando segurança tanto ao técnico quanto ao animal.

Os bloqueios perineurais minimizaram o desconforto causado pelos torniquetes de forma adequada, quando associados à sedação, possibilitando a

realização do procedimento com segurança. Apenas um animal (A15) apresentou sinais de desconforto moderado, próximo ao período de 30 minutos, após a aplicação do torniquete, sendo necessário repetir a sedação.

As coletas das amostras de líquido sinovial do carpo, através das artrocenteses ocorreram sem dificuldades e o volume coletado por amostra foi suficiente, apesar das punções seriadas em curto intervalo de tempo e com presença de contaminação por sangue, especialmente nas primeiras horas de experimento. Não foram observadas complicações graves decorrentes das artrocenteses, exceto moderado edema na região da articulação, que retornaram a normalidade em até 72 horas, prolongando-se apenas no animal A9, onde foi necessário um período maior para a resolução completa do edema.

Considerando-se os aspectos clínicos gerais e locais, não foram observadas complicações clínicas relevantes, devido aos procedimentos de perfusão nos animais de ambos os grupos, com exceção de discreto edema da veia cefálica no local da perfusão de alguns animais, com resolução espontânea após algumas horas.

4.2. Análises Laboratoriais

A análise individual dos hemogramas, leucogramas e enzimas hepáticas e renais de todos os animais se mantiveram dentro dos padrões de normalidade, não apresentando alterações significativas, previamente e posteriormente ao experimento.

4.3. Determinação da concentração do antimicrobiano nas amostras de plasma e líquido sinovial

O limite de detecção (LD) da concentração de gentamicina foi de 0,5 µg/mL e o limite de quantificação (LQ) foi de 1 µg/mL. As concentrações individuais, médias e desvio padrão no líquido sinovial da articulação do carpo nos dois

grupos estão representadas na Tabela 2, porém não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($P>0,05$).

A C_{max} experimental obtida no líquido sinovial foi de 1.100,01 $\mu\text{g/mL}$ e 559,18 $\mu\text{g/mL}$, ambas no M15' no GTT e GTE, respectivamente. O fármaco foi detectado até 48 horas (2,10 $\mu\text{g/mL}$) em apenas um animal (A4) no GTT e em três animais (A6, A7 e A9) no GTE, com a média de 3,90 $\mu\text{g/mL}$ entre eles. Apesar de haver detecção do fármaco em ambos grupos em M48h, no GTT obteve-se um valor muito próximo a CIM desejada para a gentamicina (2 $\mu\text{g/mL}$) e no GTE um valor de até 3 vezes maior que a CIM foi encontrada no mesmo momento em um dos animais (A9). Os valores individuais estão representados nas Figuras 7 e 8 para os grupos GTT e GTE respectivamente e a média das concentrações entre os grupos na Figura 9.

TABELA 2 - Concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$), média* e desvio padrão (DP) no líquido sinovial dos equinos ($n=10$) tratados por via intravenosa regional com gentamicina (2,2 mg/kg) ao longo do tempo (momentos) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete Esmarch (GTE).

		Concentração de gentamicina no líquido sinovial										
		M15'	M30'	M1h	M2h	M4h	M6h	M8h	M12h	M24h	M48h	M72h
GTT	A1	124,73	169,93	43,75	21,53	18,56	12,11	7,54	2,67	ND	ND	ND
	A2	426,39	238,55	167,32	39,1	15,73	12,41	8,99	8,3	ND	ND	ND
	A3	349,38	159,78	71,47	41,4	25,77	11,27	7,1	4,19	ND	ND	ND
	A4	931,87	803,82	199,9	58,38	40,02	20,54	15,35	10,52	3,54	2,1	ND
	A5	1.100,01	507,02	53,12	39,31	41,8	28,46	27,86	19,68	7,32	ND	ND
	Média*	586,48	375,82	107,11	39,94	28,38	16,96	13,37	9,07	5,43	2,1	-
(DP)	($\pm 411,72$)	($\pm 277,62$)	($\pm 71,48$)	($\pm 13,06$)	($\pm 12,03$)	($\pm 7,44$)	($\pm 8,75$)	($\pm 6,71$)	($\pm 2,67$)	-	-	
GTE	A6	56,98	50,07	74,84	35,3	23,88	21,85	16,57	9,99	3,88	1,99	ND
	A7	162,77	146,82	42,32	41,04	31,67	36,95	52,87	36,33	13,6	2,4	ND
	A8	56,78	309,82	162,09	55,55	18,24	14,25	10,18	5,67	2,39	ND	ND
	A9	559,18	289,35	64,36	110,56	76,51	41,08	28,97	14,44	5,06	7,31	ND
	A10	100,76	232,78	103,88	64,64	42,24	20,76	12,82	14,45	1,85	ND	ND
	Média*	187,29	205,77	89,5	61,42	38,51	26,98	24,28	16,17	5,35	3,9	-
(DP)	($\pm 212,37$)	($\pm 107,54$)	($\pm 46,23$)	($\pm 29,82$)	($\pm 23,07$)	($\pm 11,46$)	($\pm 17,53$)	($\pm 11,84$)	($\pm 4,78$)	($\pm 2,96$)	-	

* Média entre as concentrações de gentamicina acima do limite de detecção (LD = 0,5 $\mu\text{g/mL}$). ND = Não detectado. DP = Desvio Padrão. Não houveram diferenças estatísticas entre os grupos ($P>0,05$).

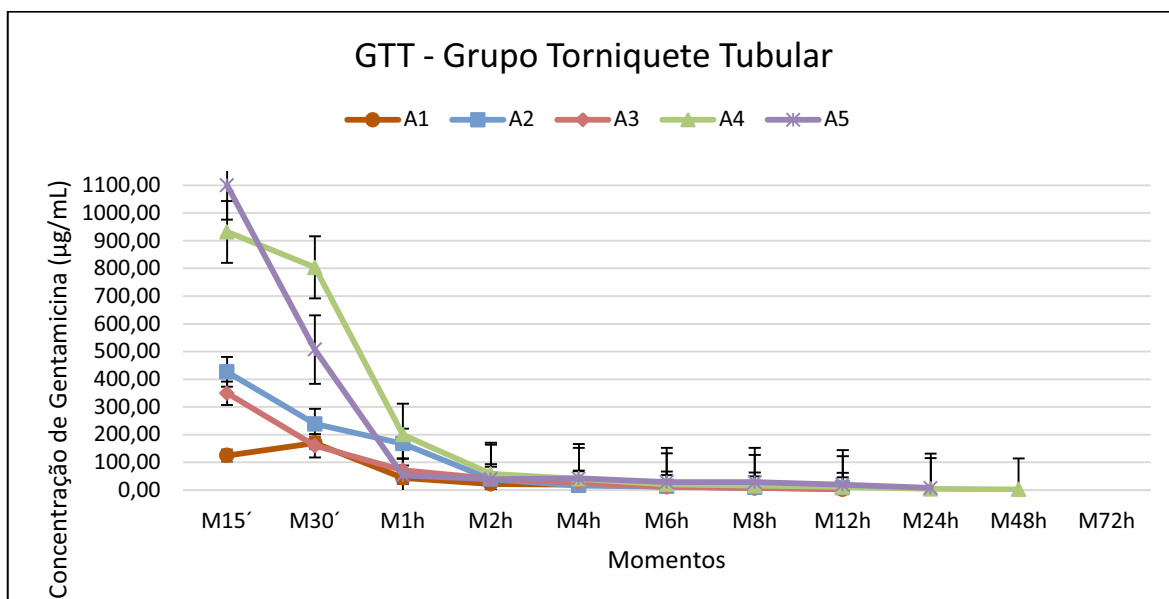


FIGURA 7 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes momentos, no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTT (dose 2,2 mg/kg, n=5).

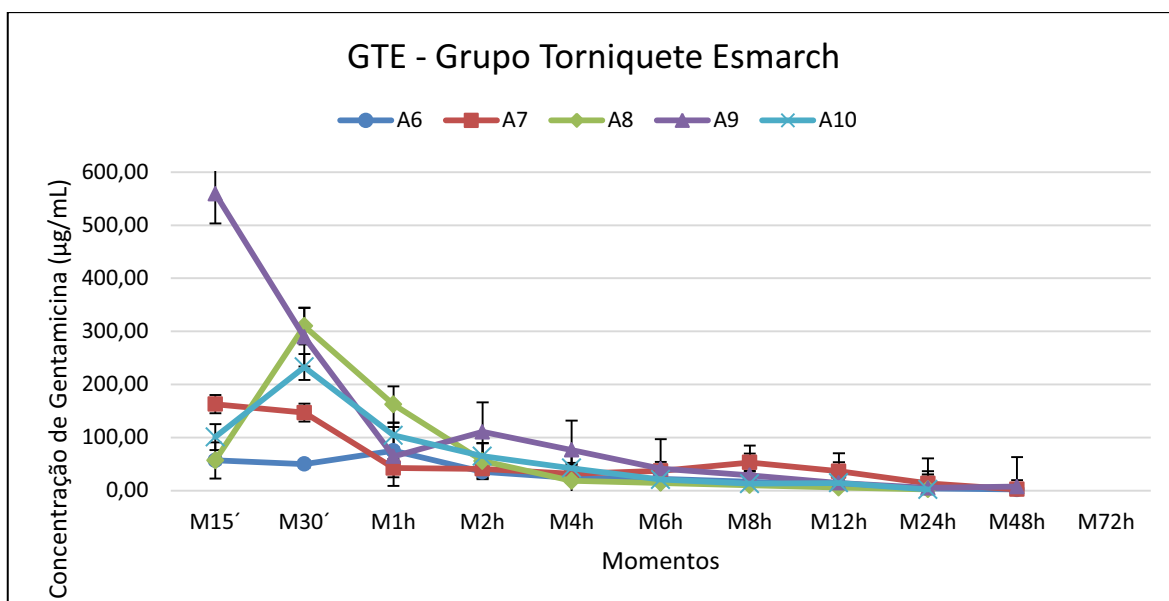


FIGURA 8 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5).

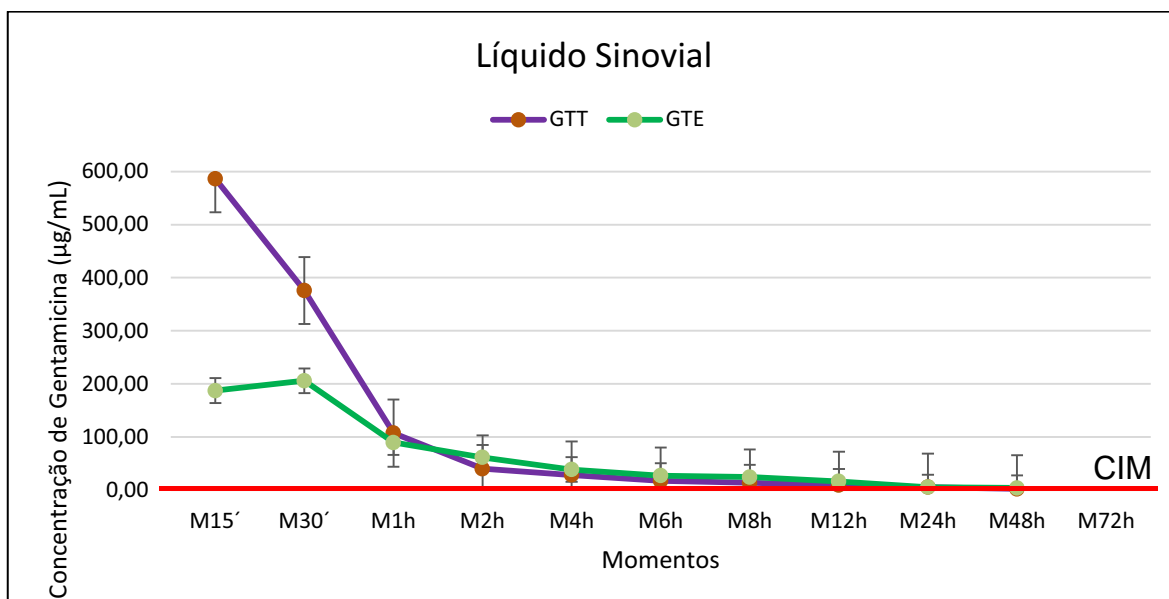


FIGURA 9 - Representação gráfica dos valores médios das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento do GTT e GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5) e concentração inibitória mínima (CIM) = $2\mu\text{g/mL}$.

No líquido sinovial, entre os momentos compreendidos entre M15' e M1h, foi possível observar que os valores médios da concentração de gentamicina foram superiores no GTT em relação ao GTE, seguido de uma inversão, onde os valores de GTE foram maiores entre os períodos M2h e M12h. Até 48 horas (M48h) após a administração, se observa animais com concentração acima da CIM ($2\mu\text{g/mL}$) em ambos os grupos.

Na Tabela 3 encontram-se as concentrações individuais de gentamicina, médias e desvio padrão no plasma, durante os momentos nos dois grupos. Não foi observada diferença estatística entre os grupos ($P>0,05$).

TABELA 3 - Concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) média* e desvio padrão (DP) no plasma dos equinos ($n=10$) tratados por via intravenosa regional com gentamicina (2,2 mg/kg) ao longo do tempo com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete Esmarch (GTE).

		Concentração de gentamicina no plasma										
		M15´	M30´	M1h	M2h	M4h	M6h	M8h	M12h	M24h	M48h	M72h
GTT	A1	12,20	17,42	16,39	11,83	5,81	5,29	0,71	ND	ND	ND	ND
	A2	8,30	23,27	26,10	24,08	16,00	3,68	3,40	0,94	ND	ND	ND
	A3	ND	0,70	7,63	4,64	6,89	5,25	3,19	1,73	0,54	ND	ND
	A4	ND	ND	3,51	10,82	12,48	10,25	6,99	2,04	0,17	ND	ND
	A5	3,49	3,05	5,55	8,66	8,76	5,74	6,66	3,51	0,60	ND	ND
	Média* (DP)	8,00 ($\pm 4,37$)	11,11 ($\pm 10,97$)	11,84 ($\pm 9,36$)	12,00 ($\pm 7,29$)	9,99 ($\pm 4,21$)	6,04 ($\pm 2,48$)	4,19 ($\pm 2,63$)	2,06 ($\pm 1,08$)	0,43 ($\pm 0,23$)	-	-
GTE	A6	ND	0,83	9,21	8,44	11,32	5,92	5,31	2,14	1,32	ND	ND
	A7	2,44	35,24	19,89	9,21	8,54	3,31	1,64	ND	ND	ND	ND
	A8	ND	ND	5,20	6,83	5,55	3,59	2,25	1,96	ND	ND	ND
	A9	ND	ND	10,51	4,36	3,32	2,21	ND	ND	ND	ND	ND
	A10	ND	ND	11,86	10,77	7,17	6,02	3,87	1,50	ND	ND	ND
	Média* (DP)	2,44 -	18,04 ($\pm 24,33$)	11,33 ($\pm 5,39$)	7,92 ($\pm 2,44$)	7,18 ($\pm 3,02$)	4,21 ($\pm 1,69$)	3,27 ($\pm 1,66$)	1,87 ($\pm 0,33$)	1,32 -	-	-

* Média entre as concentrações de gentamicina acima do limite de detecção (LD = 0,5 $\mu\text{g/mL}$). ND = Não detectado. DP = Desvio Padrão. Não houveram diferenças estatísticas entre os grupos ($P > 0,05$).

No plasma, a C_{max} encontrada foi de 26,10 $\mu\text{g/mL}$ no M1h no GTT e 35,24 $\mu\text{g/mL}$ no M30´ no GTE. Concentrações acima da CIM foram encontradas no plasma em até 12 horas após a aplicação em ambos os grupos. No período correspondente a permanência do torniquete (até M30´), somente em 1 animal (A4) do GTT e em 3 animais (A8, A9 e A10) do GTE não foram detectados gentamicina no plasma. Os valores individuais estão representados nas Figuras 10 e 11 para os grupos GTT e GTE respectivamente e a média das concentrações entre os grupos na Figura 12.

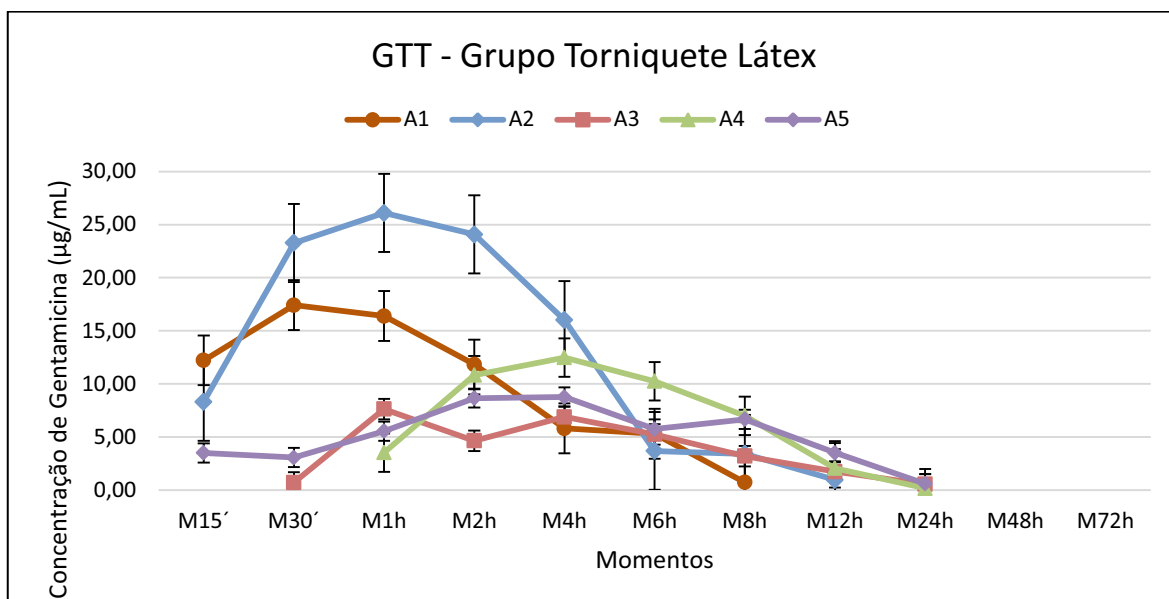


FIGURA 10 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina (µg/mL) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTT (dose 2,2 mg/kg, n=5).

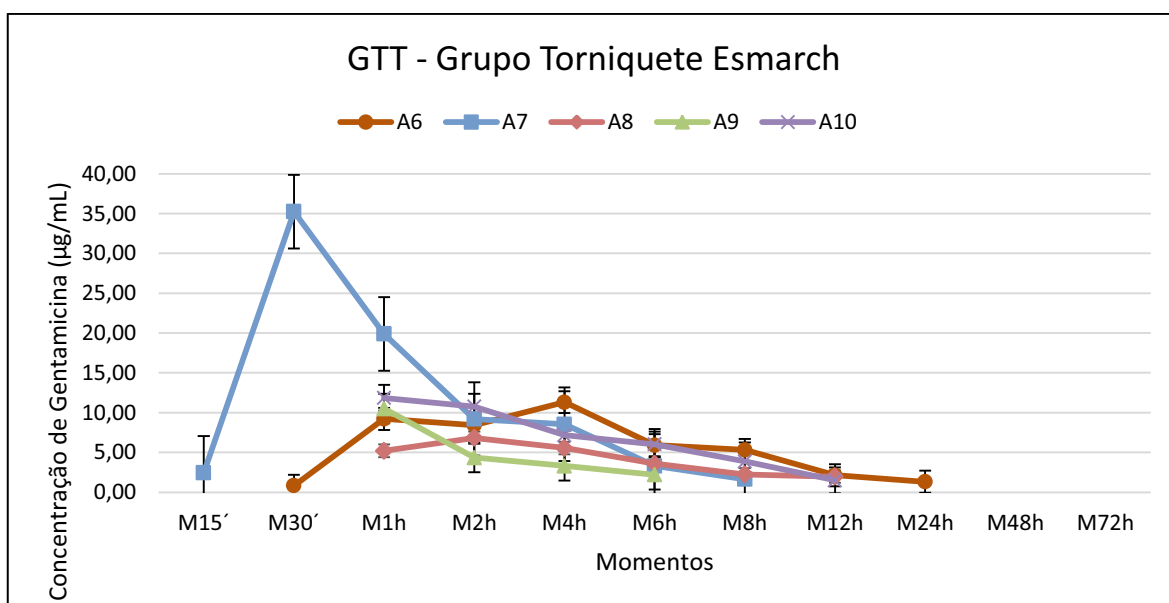


FIGURA 11 - Representação gráfica dos valores individuais das concentrações de gentamicina (µg/mL) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5).

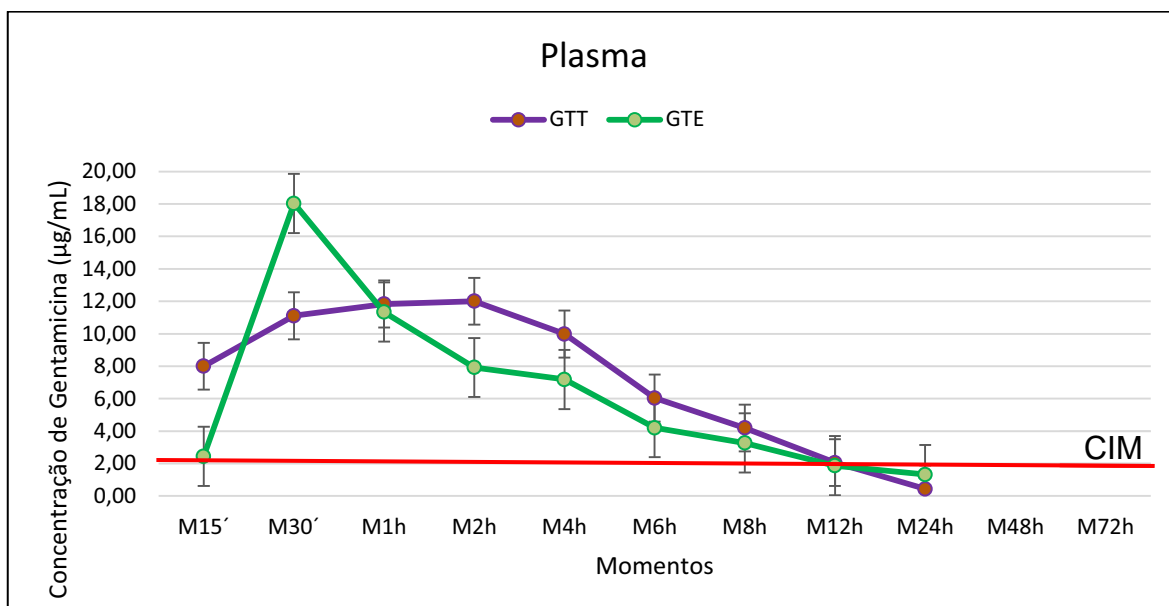


FIGURA 12 - Representação gráfica dos valores médios das concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no plasma dos animais submetidos ao tratamento do GTT e GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5) e concentração inibitória mínima (CIM) = 2 $\mu\text{g/mL}$.

No plasma, observa-se no GTT o aumento da concentração até o M2h seguido pelo decaimento até o M24h. No GTE observa-se um elevado pico em M30', com a diminuição a partir deste momento até o M24h. Até 12 horas (M12h) após a administração, se observa concentração acima da CIM (2 $\mu\text{g/mL}$) em ambos os grupos.

4.4. Análise Farmacocinética

A partir da análise das concentrações da gentamicina no GTT e no GTE, aplicou-se modelos matemáticos que apontaram a análise farmacocinética monocompartimental, como adequada para avaliar os dados obtidos, considerando o comportamento do fármaco no organismo animal. As curvas de concentração plasmática e sinovial *versus* tempo estão representadas nas Figuras 13 e 14 para os grupos GTT e GTE, respectivamente.

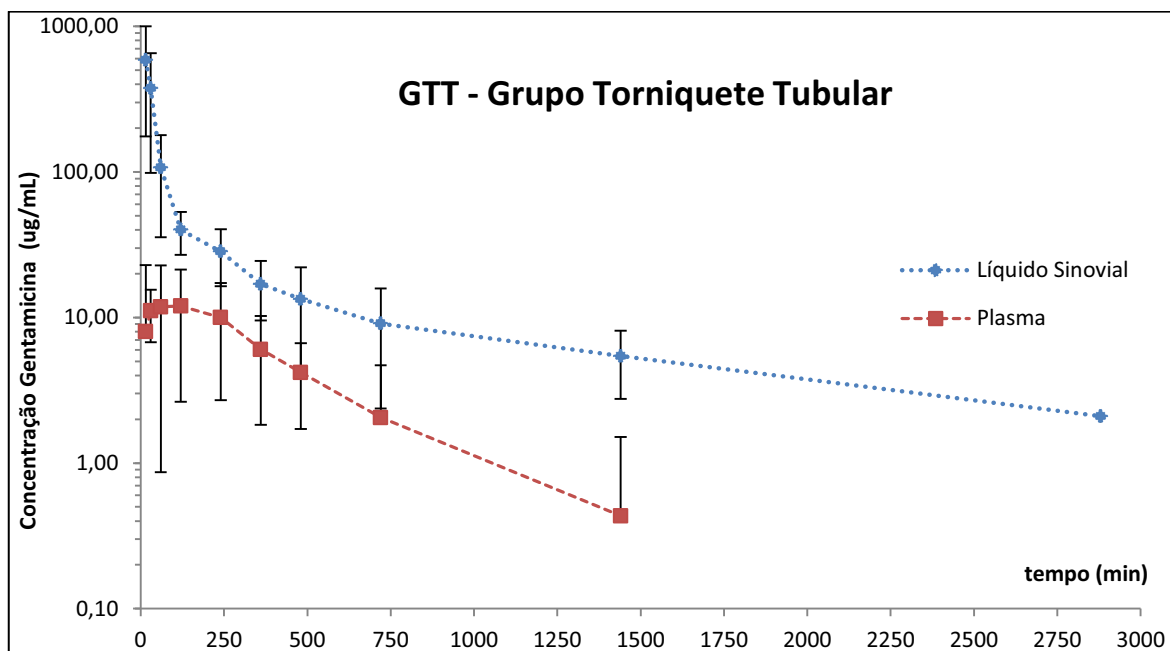


FIGURA 13 - Representação gráfica do decaimento das concentrações médias (IC95) de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo em plasma e líquido sinovial dos animais no GTT (Grupo Torniquete Tubular), submetidos ao tratamento (dose 2,2 mg/kg, n=5). Escala logarítmica.

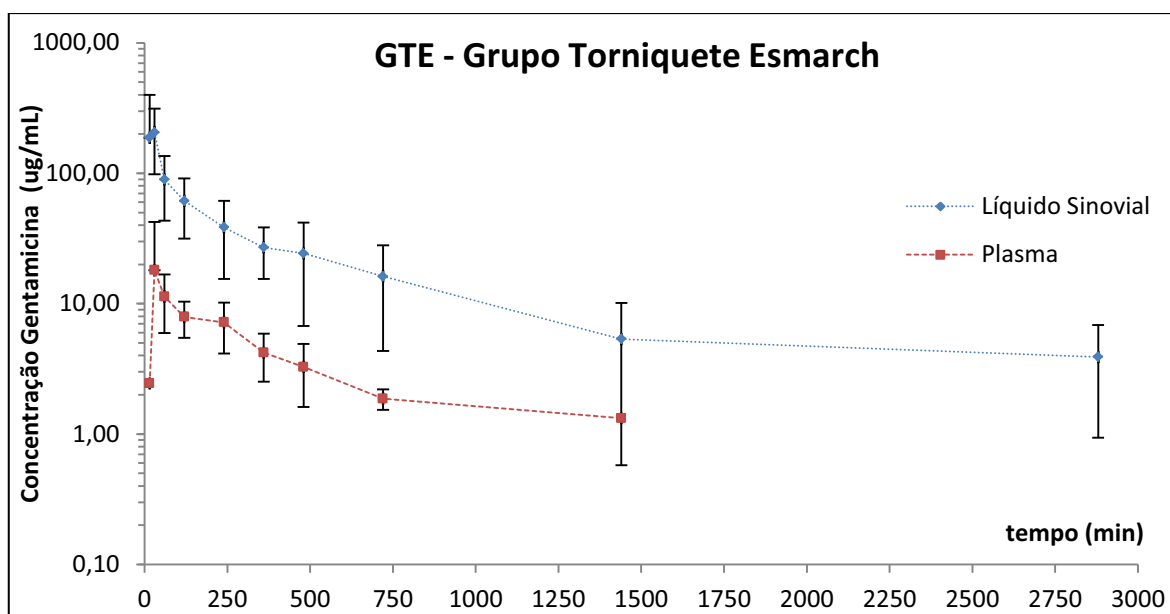


FIGURA 14 - Representação gráfica do decaimento das concentrações médias (IC95) de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo em plasma e líquido sinovial dos animais no GTE (Grupo Torniquete Esmarch), submetidos ao tratamento (dose 2,2 mg/kg, n=5). Escala logarítmica.

Os valores individuais dos parâmetros farmacocinéticos da gentamicina, a partir das curvas de concentração, no líquido sinovial e plasma versus tempo estão representados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

TABELA 4 - Parâmetros farmacocinéticos individuais, média e desvio padrão (DP) da gentamicina no líquido sinovial, após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).

Parâmetros farmacocinéticos no líquido sinovial						
		kel (min ⁻¹)	Meia vida eliminação (min)	Cl (ml/ min.kg)	Vd (ml/kg)	MRT (min)
GTT	A1	0,0040	173,2500	0,1498	37,4570	214,1375
	A2	0,0010	693,0000	0,0516	51,6030	589,9003
	A3	0,0050	138,6000	0,1166	23,3203	158,6054
	A4	0,0040	173,2500	0,5670	141,7492	356,3120
	A5	0,0008	866,2500	0,0205	25,5703	271,5291
	Média (DP)	0,0030 (±0,0019)	408,8700 (±344,2404)	0,1811 (±0,2217)	55,9400 (±49,2697)	318,0969 (±168,6350)
GTE	A6	0,0007	990,0000	0,0738	105,3861	990,3248
	A7	0,0010	693,0000	0,0343	34,3102	869,2641
	A8	0,0020	346,5000	0,0689	34,4693	275,2529
	A9	0,0006	1155,0000	0,0303	50,4254	1258,4985
	A10	0,0020	346,5000	0,0534	26,7104	294,3492
	Média (DP)	0,0013 (±0,0007)	706,2000 (±367,7317)	0,0521 (±0,0197)	50,2603 (±32,0048)	737,5379 (±436,6854)

Onde kel - constante de eliminação; Cl – clearance; Vd – volume de distribuição e MRT – tempo de residência médio.

TABELA 5 - Parâmetros farmacocinéticos individuais, médias e desvio padrão (DP) da gentamicina no plasma após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).

Parâmetros farmacocinéticos no plasma						
		kel (min ⁻¹)	Meia vida eliminação (min)	Cl (ml/ min.kg)	Vd (ml/kg)	MRT (min)
GTT	A1	0,0063	110,0000	0,5429	86,1786	166,5670
	A2	0,0056	123,7500	0,2909	51,9432	197,4264
	A3	0,0020	346,5000	0,5202	260,0917	512,1618
	A4	0,0039	177,6923	0,2982	76,4708	325,4738
	A5	0,0025	277,2000	0,3795	151,8198	422,0664
	Média (DP)	0,0041 (±0,0019)	207,0285 (±101,9642)	0,4064 (±0,1197)	125,3008 (±83,9168)	324,7391 (±146,4815)
GTE	A6	0,0017	407,6471	0,3389	199,3793	640,6158
	A7	0,0061	113,6066	0,5087	83,3951	181,9557
	A8	0,0023	301,3043	0,6544	284,5352	519,9726
	A9	0,0050	138,6000	1,3099	261,9788	271,6401
	A10	0,0030	231,0000	0,5137	171,2222	372,1025
	Média (DP)	0,0036 (±0,0019)	238,4316 (±120,6127)	0,6651 (±0,3774)	200,1021 (±79,7069)	397,2573 (±185,1011)

Onde kel - constante de eliminação; Cl – clearance; Vd – volume de distribuição e MRT – tempo de residência médio.

As médias dos parâmetros farmacocinéticos em plasma e líquido sinovial não apresentaram diferenças estatísticas em nenhum dos parâmetros analisados entre os grupos ($P > 0,05$).

No entanto, as médias em cada grupo (Tabela 6) entre as amostras de líquido sinovial e plasma, representadas na Tabela 6, apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$) entre os parâmetros de Cl e Vd no GTT e em kel, meia vida de eliminação, Cl e Vd no GTE.

TABELA 6 – Médias dos parâmetros farmacocinéticos e desvio padrão (DP) da gentamicina no líquido sinovial e plasma após a perfusão regional intravenosa (2,2 mg/kg) em equinos (n=10) com a utilização de dois modelos de torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete de Esmarch (GTE).

			kel (min ⁻¹)	Meia vida eliminação (min)	Cl (ml/min.kg)	Vd (ml/kg)	MRT (min)
GTT	Líquido Sinovial	Média (DP)	0,00296 (±0,00193)	408,87000 (±344,24038)	0,18110 (±0,22172)	55,93996 (±49,26971)	318,09688 (±168,63504)
	Plasma	Média (DP)	0,00406 (±0,00188)	207,02846 (±101,96420)	0,40636 (±0,11974)	125,30083 (±83,91677)	324,73906 (±146,48154)
	P		0,52310	0,35510	0,04997*	0,04996*	0,72290
GTE	Líquido Sinovial	Média (DP)	0,00126 (±0,0069)	706,20000 (±367,73166)	0,05214 (±0,01968)	50,26028 (±32,00483)	737,53791 (±436,68541)
	Plasma	Média (DP)	0,00362 (±0,00186)	238,43159 (±120,61273)	0,66513 (±0,37737)	200,10211 (±79,70690)	397,25732 (±185,10109)
	P		0,02890*	0,02740*	0,00670*	0,00450*	0,14730

Onde kel - constante de eliminação; Cl – clearance; Vd – volume de distribuição e MRT – tempo de residência médio. *médias onde houve diferença significativa (P<0,05).

4.5. Ultrassonografia Doppler

A ultrassonografia Doppler triplex da veia cefálica e artéria mediana dos membros tratados de todos os animais foram realizadas com sucesso. A avaliação no M0 (antes da aplicação do torniquete) em um dos animais está representada nas Figuras 15 e 16 demonstrando fluxo sanguíneo normal.

Durante a segunda avaliação realizada imediatamente após a aplicação do torniquete foi observada a oclusão total de fluxo tanto venoso quanto arterial, comprovada pela ausência de color e ondas espectrais em todos os animais. As Figuras 17 e 18 representam a ausência de fluxo sanguíneo em um dos animais avaliados.

Na avaliação realizada 15 minutos após a retirada dos torniquetes se constatou o retorno do fluxo sanguíneo em todos os animais, representado nas figuras 19 e 20. Não foram observados trombos, no entanto, foi observada redução do lúmen da veia cefálica, além de formação de edema perivascular no local de aplicação, após a retirada do torniquete em todos os animais do GTT, com retorno ao diâmetro e características de fluxo normais, após algumas horas.

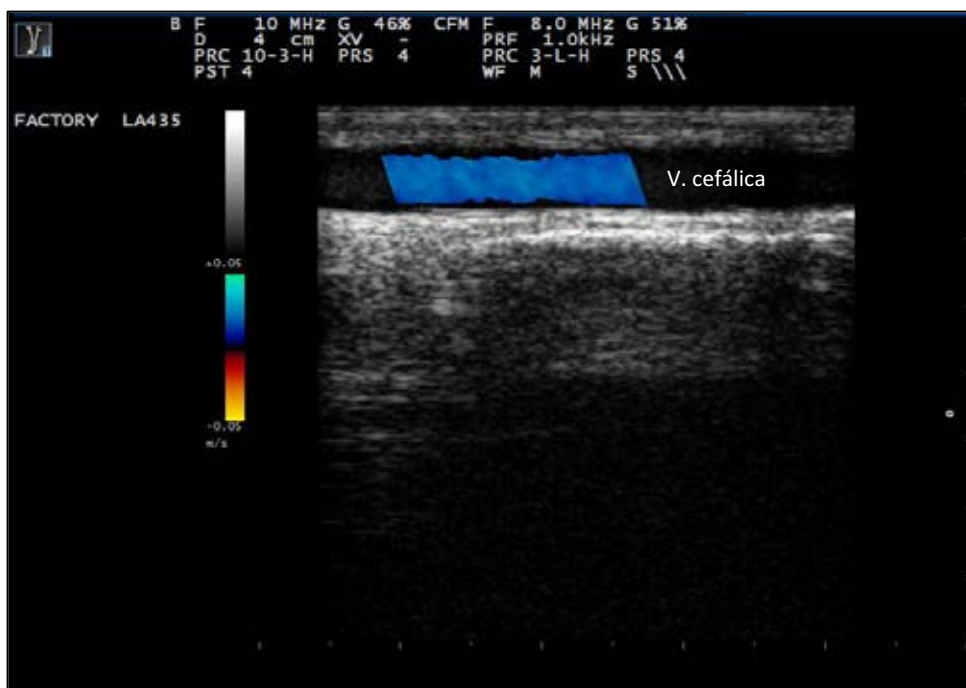


FIGURA 15 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando o fluxo sanguíneo da veia cefálica, antes da aplicação do torniquete (M0), demonstrando fluxo venoso normal.

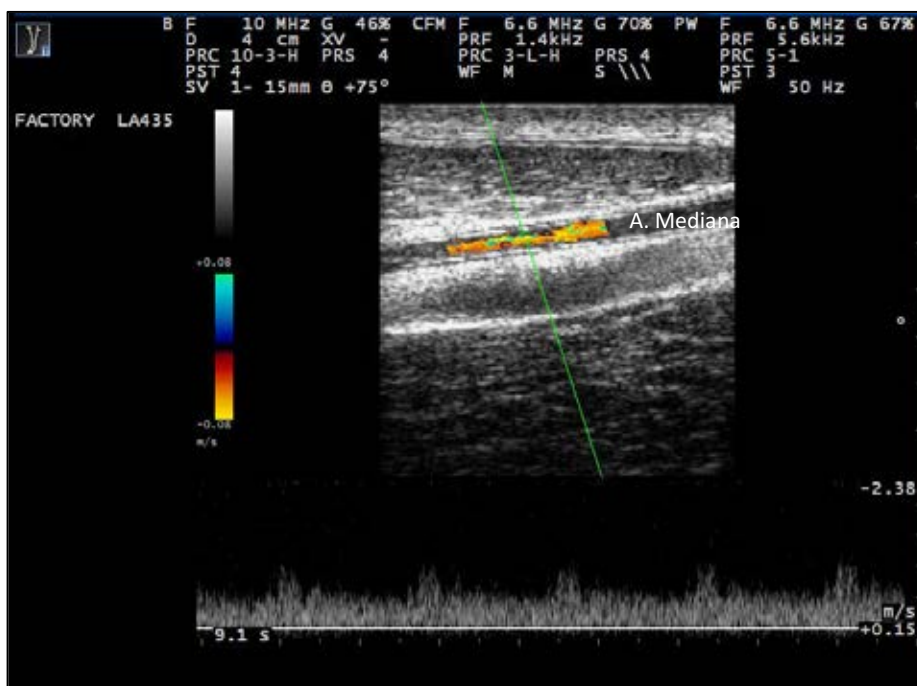


FIGURA 16 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, antes da aplicação do torniquete (M0), demonstrando fluxo arterial normal.

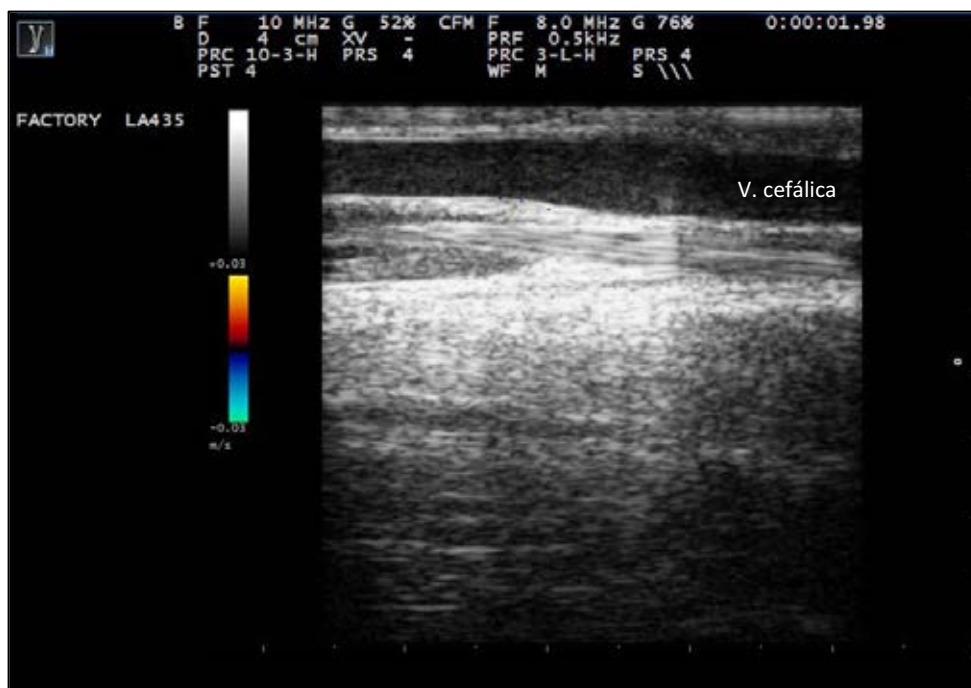


FIGURA 17 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando ausência de fluxo de fluxo sanguíneo da veia cefálica, aos 15 minutos de permanência do torniquete.

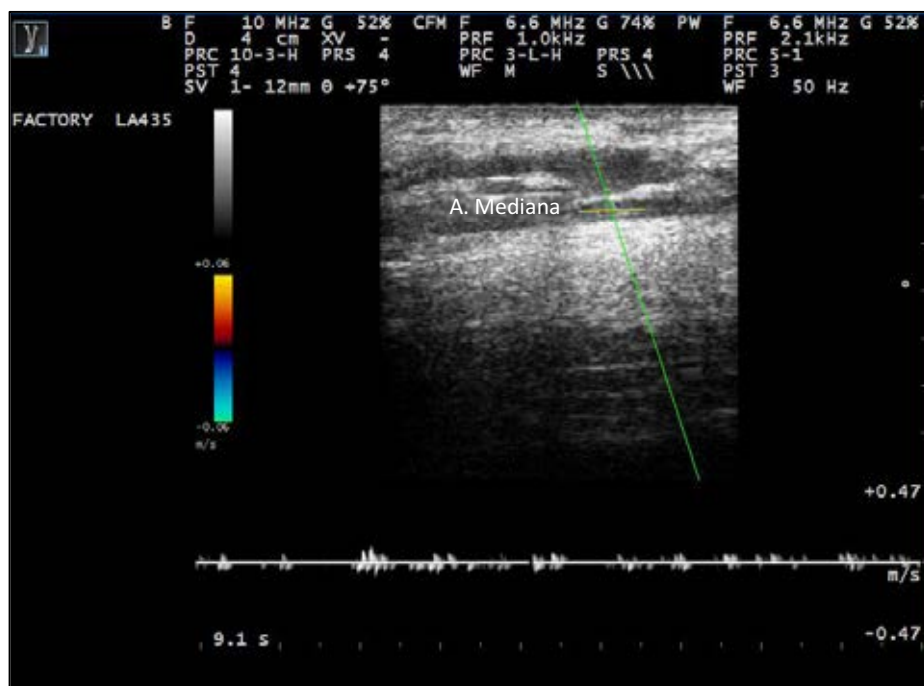


FIGURA 18 – Imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando ausência de fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, aos 15 minutos de permanência do torniquete.

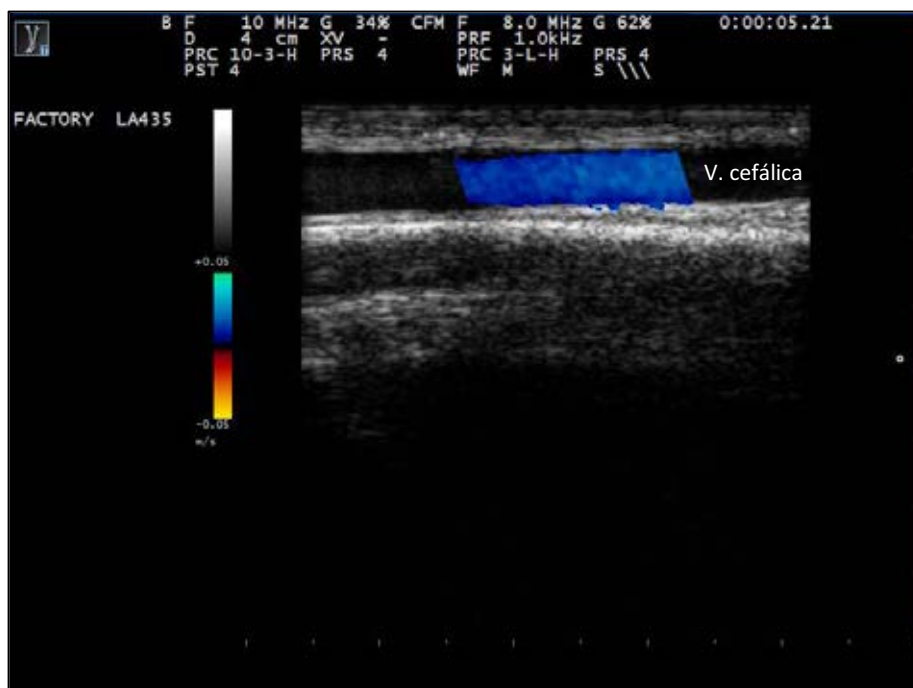


FIGURA 19 – Representação gráfica da imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando retorno de fluxo sanguíneo na veia cefálica, após a retirada do torniquete aos 30 minutos após PRIVA.

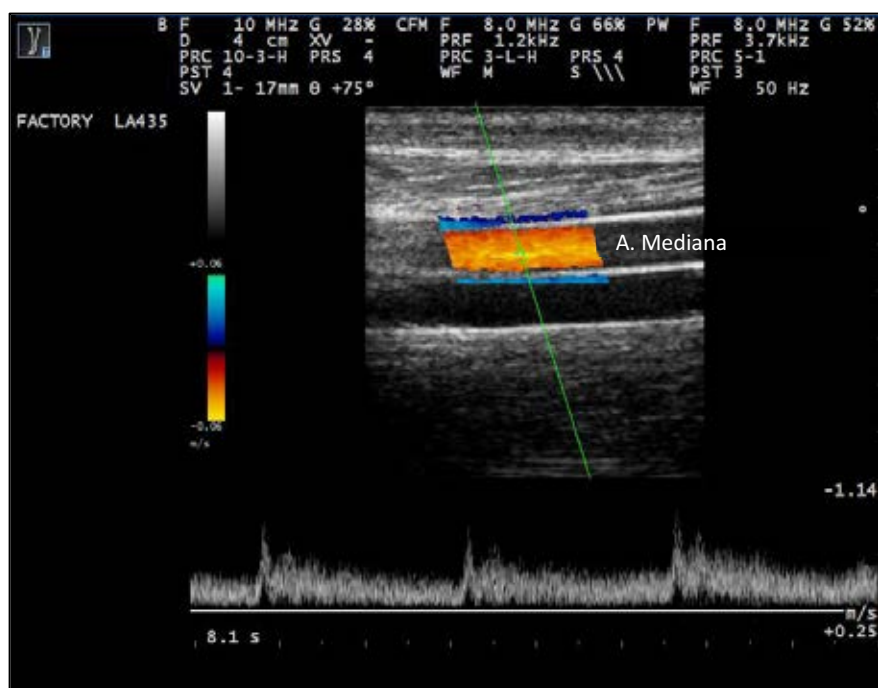


FIGURA 20 – Representação gráfica da imagem ultrassonográfica Color Doppler, evidenciando retorno de fluxo e ondas espectrais da artéria mediana, após a retirada do torniquete aos 30 minutos após PRIVA.

5. DISCUSSÃO

A realização dos bloqueios perineurais com o intuito de reduzir o desconforto dos animais durante a permanência do torniquete foi prática, segura e eficaz e deve ser a técnica preferida para a realização da perfusão na região proximal do membro torácico, pois é mais eficiente do que a anestesia intravenosa regional, além de não interferir nos parâmetros farmacocinéticos do antimicrobiano e não requerer a necessidade de anestesia geral para a realização da PRIVA com segurança como demonstrado por Mahne et al., 2013.

Edema discreto a moderado foi observado na articulação cárpica em alguns animais após as primeiras artrocenteses com resolução espontânea, em média, 72 horas após o término das coletas, descartando uma possível infecção articular iatrogênica devido às sucessivas coletas. Estes achados são corroborados por outros estudos que fizeram uso de artrocentese seriada para quantificação de fármacos no líquido sinovial (RODRIGUES et al. 2010).

Não foram observados efeitos adversos locais ou sistêmicos graves promovidos pela dose ou volume utilizados no estudo, como demonstrado pelos exames laboratoriais realizados e ultrassonografia Doppler. Isto confirma a opção por este antimicrobiano na rotina clínica, podendo ser considerado um fármaco de primeira escolha para a realização da PRIVA (DOWLING, 2010). Apenas foram observadas complicações leves, como discreto edema na veia cefálica devido à punção venosa como previamente descrito por Levine et al. 2010. Este efeito adverso poderia ter sido evitado, com a aplicação de pomada de diclofenaco sódico, após a realização da perfusão, conforme sugere o mesmo autor.

As imagens obtidas através da ultrassonografia Doppler auxiliaram na avaliação da eficácia dos torniquetes, sendo possível constatar que ambos modelos de torniquetes são eficazes para a realização de perfusão regional intravenosa no terço médio do rádio de equinos, contradizendo o estudo de Levine et al. 2010. Contudo, observou-se que o torniquete de Esmarch foi o menos traumático, pois não promoveu edema transitório da parede da veia

cefálica e conseqüente redução de seu lúmen, como constatado no grupo com torniquete tubular.

No estudo, apesar de não haver diferença significativa entre as médias das concentrações de gentamicina entre os grupos, pode-se afirmar que ambos os torniquetes utilizados podem ser utilizados na PRIVA de forma eficaz, pois em até 48 horas foi possível obter concentrações acima da CIM em alguns animais. Estes dados novamente contradizem os resultados de Levine et al. 2010, que desaconselha o uso do torniquete tubular, relatando que quando este torniquete é utilizado para PRIVA em região proximal de membro de equinos, não promove concentrações no líquido sinovial que possam atingir a CIM. O coeficiente de variação no estudo é alto, indicando que possivelmente o número de animais utilizados colaborou para que não fosse encontrado diferenças significativas entre os grupos. Assim, deveria ser considerada a hipótese de aumentar o número de animais por grupo em estudos semelhantes. Todavia, isto elevaria consideravelmente os custos e o grau de dificuldade.

Deve-se ressaltar que a eficácia do torniquete é dependente da pressão de aplicação, ou seja, com exceção do torniquete pneumático onde se pode regular a pressão (GRICE et al., 1986), os torniquetes são aplicadores-dependentes. Assim, podem resultar em uma variação de sua eficácia, devido a pressão não padronizada exercida pelo aplicador. No entanto, estudos demonstram que o torniquete tubular de látex pode ser utilizado eficazmente para realização da PRIVA, sendo a eficiência, neste estudo, também comprovada pela ultrassonografia Doppler, com interrupção dos fluxos venoso e arterial (RAFAEL, 2010; LALLEMAND, et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014).

No presente estudo optou-se por utilizar apenas um torniquete durante a PRIVA. Alguns autores indicam a utilização de um segundo torniquete abaixo da articulação onde se deseja elevar a concentração de fármaco (WHITEHAIR et al., 1992a; LALLEMAND et al., 2013). Acredita-se que concentrações maiores de gentamicina, poderiam ter sido encontradas, em ambos os grupos, se fosse utilizado um segundo torniquete, localizado na região proximal do metacarpo,

isolando a porção mais distal do membro com o intuito de concentrar o fármaco na região da articulação do carpo.

Assim como ocorre com outros fármacos relatados por vários autores (GRICE et al., 1986; WHITEHAIR et al., 1992; GAGNON et al., 1994; MURPHEY, SANTSCHI & PAPICH, 1999; BUTT et al., 2001; SCHEUCH et al., 2002; PILLE et al., 2005; RUBIO-MARTINEZ et al., 2005; LEVINE et al., 2010; ALKABES et al., 2011; LALLEMAND et al., 2013), uma grande variação das concentrações de gentamicina ocorreu neste estudo. Algumas hipóteses incluem a opção pela venopunção com escalpe, comportamento individual dos animais, movimentação do membro para a coleta e a diluição das amostras de líquido sinovial.

O escalpe pode ter facilitado o extravasamento do fármaco pelo local de punção para região perivascular, devido à alta pressão intravascular proporcionada pela infusão com o volume de 40 mL administrado sem a exsanguinação. A exsanguinação não foi realizada no estudo, por não ser uma prática utilizada rotineiramente, quando a técnica é feita em posição quadrupedal. Porém este fato pode ter influenciado nas concentrações de gentamicina no líquido sinovial devido à alta pressão intravascular proporcionada pelos torniquetes (GAGNON et al., 1994). A opção pelo escalpe intensionou reproduzir com realidade as situações enfrentadas pelos veterinários a campo na realização da técnica, onde dificilmente se utiliza cateter para a realização da PRIVA. Assim, utilizar cateteres seria mais indicado para evitar o extravasamento e as variações na concentração observadas (PILLE et al., 2005; PARRA-SANCHEZ et al., 2006; LALLEMAND et al., 2013). Outra possibilidade seria reduzir o volume da solução, mantendo a dose total de gentamicina, conforme relatado por Hyde et al. em 2013. Estes autores não encontraram diferenças estatísticas significativas entre os grupos com 10, 20 e 60 mL de volume perfundido, embora a média do grupo com menor volume foi maior do que as demais, sugerindo que a difusão por um gradiente de concentração pode ser igualmente ou mais importante do que por gradiente de pressão.

As veias periféricas situadas nas regiões dos membros podem apresentar válvulas, que são prolongamentos semilunares da túnica íntima, que possuem a

função de impedir o retorno venoso (SAMUELSON, 2007). Observou-se durante a aplicação, principalmente em animais do GTE, ingurgitamento da veia cefálica sem extravasamento perivascular, provavelmente ocorrido devido ao fechamento das válvulas venosas quando submetidas à alta pressão. Hipotetiza-se que este fator pode ter atrasado o processo de distribuição do fármaco, influenciando diretamente o pico de concentração neste grupo. Porém um estudo específico seria necessário para avaliar a influência das válvulas na distribuição e o motivo da prevalência do ingurgitamento nos animais com torniquete de Esmarch.

O comportamento individual dos animais quando a PRIVA é realizada com o animal em posição quadrupedal, pode reduzir a eficácia do torniquete, pois a movimentação do membro pode resultar na liberação venosa parcial, com extravasamento para a circulação sistêmica (GRICE et al., 1986; GAGNON et al., 1994). Durante o estudo, devido à sedação, poucos animais realizaram movimentos voluntários que pudessem justificar o extravasamento de sangue para a circulação sistêmica. Ainda assim, um fato contraditório ocorreu com o animal A5 que apresentou desconforto devido ao torniquete, com agitação e movimentações constantes do membro. Neste equino ocorreu um pico mais elevado de concentração no líquido sinovial, comparando com os demais animais de seu grupo, durante os primeiros momentos. Este dado fez com que a maior diferença entre os grupos na concentração de gentamicina fosse observada no momento M15', onde a média do GTT apresentou um pico elevado de concentração em relação ao GTE no líquido sinovial.

Apesar da maioria dos animais não se movimentarem durante o estudo, procedeu-se à manipulação dos animais, flexionando-se o membro tratado para coleta de líquido sinovial da articulação do carpo. Este fator pode ter influenciado a curva de concentração, pois o extravasamento do fármaco para a circulação sistêmica no período com o torniquete ocorreu em alguns animais, como observado na Tabela 3, mesmo após a avaliação ultrassonográfica que confirmou obstrução venosa e cefálica com o membro em estação.

Ainda que a ocorrência do extravasamento do fármaco para a circulação sistêmica durante a PRIVA seja considerada frequente (BROWN et al., 1982;

GILLIAM et al., 2008), a quantidade extravasada no experimento, foi mínima e não interferiu na eficácia da realização da técnica. No intuito de evitar as falhas de eficácia, preconiza-se que o torniquete deva ser no mínimo 20% mais largo em comparação ao diâmetro do membro a ser aplicado (GAGNON et al., 1994). Assim, para o torniquete tubular, esta movimentação do membro pode ter prejudicado consideravelmente a sua avaliação, pois por possuir uma menor espessura e conseqüente menor superfície de contato com o membro em relação ao Esmarch, supõe-se que a probabilidade de perda de contato com liberação venosa parcial é maior. Isto explicaria porque o GTT apresentou maior número de animais com o extravasamento de gentamicina para o plasma, durante o período em que o torniquete esteve aplicado, ao contrário do que ocorreu no GTE, onde apesar de exposto as mesmas situações de movimentação, observou-se extravasamento apenas em um animal no M15' e 2 animais no M30', sendo considerado, portanto, mais efetivo.

Outra hipótese para a diferença observada entre as concentrações, seria a contaminação por sangue das amostras de líquido sinovial devido às artrocenteses seriadas que podem diluir a amostra como também observado por Pille et al. 2005, interferindo na avaliação. A cateterização da articulação com o intuito de prevenir lesões, devido às punções seriadas e conseqüente contaminação por sangue foi utilizada em outros estudos que envolviam a PRIVA em equinos submetidos à anestesia geral ou em vacas (GAGNON et al., 1994).

Altos valores de C_{max} são importantes para a eficácia dos antimicrobianos concentração-dependente, como a gentamicina (MOORE et al., 1992; ERRICO et al., 2008). Em alterações ortopédicas, onde objetiva-se elevadas concentrações de gentamicina para atingir a CIM, a administração sistêmica pode não ser efetiva (LLOYD et al., 1990), pois a administração intravenosa na dose de 2,2 mg/kg resultou em uma C_{max} no líquido sinovial de apenas 5,1 µg/mL na articulação radiocárpica de equinos adultos (LLOYD et al., 1990) e 2,41 µg/mL em 2 horas, por via intramuscular (BROWN et al.; 1982). Em contrapartida, através de administrações locais como a PR intraóssea, elevadas concentrações em líquido sinovial podem ser obtidas com a mesma dose, onde uma C_{max} de 385 µg/mL foi observada na articulação metacarpofalangeana após 30 minutos de remoção do

torniquete (MATTSON et al., 2004). No presente estudo, através da PRIVA, a C_{max} experimental obtida foi 216 vezes maior em GTT (1.100 $\mu\text{g/mL}$) e 110 vezes maior em GTE (559 $\mu\text{g/mL}$), ambos no T_{max} experimental de 15 minutos quando comparados com a administração sistêmica intravenosa, confirmando a vantagem da utilização da técnica.

O valor da CIM de 2 $\mu\text{g/mL}$ foi estabelecido como adequado para tratar frequentes infecções bacterianas em equinos. O ideal é que a administração do fármaco seja capaz de fornecer concentrações cerca de 10 vezes superiores a CIM estipulada (LLOYD et al., 1988). Foram observadas, em ambos os grupos deste estudo, concentrações 10 vezes superiores a CIM no líquido sinovial em até 4 horas após a perfusão. Após este período, concentrações abaixo do ideal, porém ainda acima da CIM, foram encontradas após 24 até 48 horas da administração do antimicrobiano. Estas concentrações são adequadas para o tratamento de infecções causadas por várias cepas de estafilococos, coliformes e outras bactérias gram-negativas, que demandam concentrações a partir de 2 $\mu\text{g/mL}$ (BAGGOT&PRESCOTT, 1987; CHAMBERS, 2010; DOWLING, 2010).

A baixa concentração sistêmica encontrada nos grupos, confirma que a gentamicina pode ser administrada localmente de forma segura, sem o potencial para nefrotoxicidade em uma única dose de 2,2 mg/kg de gentamicina, através da PRIVA (WERNER, HARDY & BERTONE, 2003).

A gentamicina é o aminoglicosídeo mais utilizado de forma terapêutica e profilática na clínica e cirurgia equina. Por isso, a disposição e farmacocinética deste fármaco, após administração sistêmica em cavalos adultos é bem documentada (PEDERSOLI et al, 1980; LLOYD et al.; 1988). Este dados, combinados com a CIM, tem sido utilizados para cálculos de regime de dosagem (ANDERSON, FIRTH & WHITTEM, 1995). Apesar de haver relatos da farmacocinética de antimicrobianos através da PRIVA em vacas (GILLIAM et al., 2008, RODRIGUES et al., 2010) e equinos, não há relatos utilizando a gentamicina para que uma comparação equivalente com o estudo na espécie equina seja realizada.

Através da via intravenosa, alguns autores determinaram os parâmetros farmacocinéticos da gentamicina em plasma utilizando a dose de 2,2mg/kg (BOWMAN et al., 1986; SNYDER et al.; 1986; LLOYD et al., 1988; SALVADORI & TOSI, 2006).

O Vd pode determinar a dose do fármaco a ser utilizada, assim como a meia vida, sendo diretamente proporcionais. Os estudos encontrados na literatura relatam para a gentamicina em equinos um Vd de 0,15 L/Kg (BOWMAN et al., 1986), Vd 0,227L/Kg (SNYDER et al.; 1986), Vd 0,297 L/kg (LLOYD et al., 1988), Vd 0,18 a 0,3 L/Kg (SALVADORI & TOSI, 2006). No presente estudo, utilizando-se a mesma dose de administração sistêmica, obteve-se valores mais elevados no líquido sinovial (Vd_{GTT} 55,95 L/Kg e Vd_{GTE} 50,26 L/Kg) e plasma (Vd_{GTT} 125,30 L/Kg e Vd_{GTE} 200,10 L/Kg).

Em relação a depuração, alguns autores apresentam CI 0,83 mL/min/Kg (BOWMAN et al., 1986), CI 1,12 mL/min/Kg (SNYDER et al.; 1986), CI 2,18 mL/min/Kg (LLOYD et al., 1988) e CI 1,1 a 2,2 ml/min/Kg (SALVADORI & TOSI, 2006). Contrariamente, obtivemos valores menores em líquido sinovial (CI_{GTT} 0,18 e CI_{GTE} 0,05 mL/min/Kg em líquido sinovial e e CI_{GTT} 0,40 e CI_{GTE} 0,66 mL/min/Kg em plasma.

O estudo de farmacocinética de gentamicina em cavalos adultos tem indicado uma meia-vida sérica média de 152 minutos, sendo este tempo considerado maior do que outras espécies (PEDERSOLI et al., 1980). Utilizando a dose de 2,2 mg/kg, encontra-se na literatura resultados para o parâmetro de meia vida sérica em equinos de 241,8 minutos (BOWMAN et al., 1986), 132 minutos (SNYDER et al., 1986), 91,8 minutos (LLOYD et al., 1988), 90 a 240 minutos (SALVADORI & TOSI, 2006) através de vias sistêmicas de administração. A meia vida em líquido sinovial determinada neste estudo apresentou valores no mínimo 4,5 e 7,8 vezes superiores (408,87 e 706,20 minutos para GTT e GTE, respectivamente) aos encontrados em plasma na literatura, indicando um período maior do fármaco no organismo através da administração por PRIVA e consequentemente sugerindo um intervalo maior de aplicação do que necessitaria a administração sistêmica.

Devido aos parâmetros farmacocinéticos da gentamicina não apresentarem diferenças significativas entre os grupos GTT e GTE, considera-se que ambos os torniquetes foram equivalentes em sua função. No entanto, como esperado, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre alguns parâmetros obtidos entre plasma e líquido sinovial em cada um dos grupos, indicando o comportamento do fármaco no organismo quando administrado pela técnica da PRIVA.

A meia vida sinovial e plasmática diferiram significativamente ($P < 0,05$) apenas no grupo GTE, onde o valor sinovial correspondeu a 2,9 vezes maior do que no plasma (238 minutos). Estes valores indicam que a taxa de redução da concentração, durante a fase de excreção em função do tempo foi maior no líquido sinovial, auxiliada provavelmente pela presença do torniquete.

As diferenças entre o clearance e volume de distribuição plasmáticos e sinoviais encontrados em ambos os grupos podem sugerir que os torniquetes foram eficazes, pois se obteve valores de Cl e Vd maiores em plasma do que líquido sinovial, ou seja, a capacidade de eliminação do fármaco e espaço aparente para receber o medicamento em plasma é maior do que no líquido sinovial, devido à presença de um torniquete. As diferenças do valor médio do Cl demonstram que a depuração é maior no plasma do que no líquido sinovial em ambos os grupos.

A dose de 2,2 mg/kg de gentamicina utilizada neste estudo foi baseada na utilização clínica rotineira, respaldada pela literatura que estabelece relação com o peso dos animais (MATTSON et al., 2004). Contudo, algumas doses de antimicrobianos utilizadas a campo na PRIVA são consideradas empíricas, sendo frequente a utilização de um terço da dose sistêmica ou 1 a 2g de gentamicina por animal (FINSTERBUSH & WEINBERG, 1972; RICHARDSON, 2003).

Os intervalos de administração da gentamicina pela via intravenosa regional não são relatados. No entanto, preconiza-se utilizar intervalos maiores entre as aplicações, objetivando aumentar a eficácia e reduzindo o desenvolvimento de resistência adaptável (BARCLAY & BEGG, 2001). Considerando que neste estudo, foi possível detectar concentrações adequadas

de gentamicina até 48 horas após a administração no líquido sinovial, a perfusão não deve ser realizada no período anterior as 48 horas no intuito de se evitar o desenvolvimento de resistência, bem como evitar danos vasculares devido às punções venosas.

6. CONCLUSÃO

- 1) A perfusão regional de gentamicina em equinos pode ser realizada de forma eficaz com torniquete tubular ou de Esmarch;
- 2) Ambos os torniquetes foram capazes de promover concentrações acima da CIM de 2µg/mL de gentamicina por até 48 horas, considerando os patógenos causadores de artrite séptica nos equinos;
- 3) O torniquete de Esmarch foi considerado mais seguro, por não causar danos vasculares como observado com o torniquete tubular.
- 4) Não foram encontradas diferenças farmacocinéticas, entre os grupos GTT e GTE, submetidos a perfusão regional intravenosa com gentamicina.

7. REFERÊNCIAS

- ADAMS, S.B. Tourniquets. In: WHITE, N.A.; MOORE, J.N. **Current techniques in equine surgery and lameness**. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998. p.385–389.
- ALKABES, S.B.; ADAMS, S.B.; MOORE, G.E.; ALKABES, K.C. Comparison of two tourniquets and determination of amikacin sulfate concentrations after metacarpophalangeal joint lavage performed simultaneously with intravenous regional limb perfusion in horses. **Am. J. Vet. Res.** v.72, n.5, p.613- 619, may 2011.
- ANVISA. Propriedades farmacológicas dos antimicrobianos. Disponível em <www.anvisa.gov.br>. Atualizado em 2008. Acesso em: 19 de Junho de 2014.
- BAGGOT, J.D. Princípios de biodisponibilidade e disposição (distribuição e excreção) de medicamentos antimicrobianos. In: GIGUÉRE, S. et al. **Terapia Antimicrobiana em Medicina Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2010. p.51.
- BARRAGRY, T. Veterinary drug therapy. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994.
- BASSAGE, L.; ROSS, M. Diagnostic analgesia. In: ROSS M.; DYSON S. **Lameness in the Horse**. Philadelphia: W. B. Saunders Co, 2003. p.93-124.
- BECCAR-VARELA, A.M.; EPSTEIN, K.L.; WHITE, C.L. Effect of experimentally induced synovitis on amikacin concentrations after intravenous regional limb perfusion. **Vet Surg.**, v.40, p.891–897, 2011.
- BENET, L.Z.; KROETZ, D.L.; SCHEINER, L.B. Pharmacokinetics. The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: HARDMAN et al. **Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9 ed., New York: McGraw-Hill, 1996, p.3-27.
- BERTONE, A.L. Infectious arthritis. In: MCILWRAITH, C.W.; TROTTER, W.B. **Joint Disease in the Horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. p.397-409.

BUTT, T.D.; BAILEY, J.V.; DOWLING, P.M.; et al. Comparison of 2 techniques for regional antibiotic delivery to the equine forelimb: intraosseous perfusion vs. intravenous perfusion. **Can. Vet. J.**, v.42, p.617–622, 2001.

CHAMBERS, H.F. Aminoglicosídeos e espectinomicina. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Porto Alegre: AMGH, 2010. p.681-687.

CIMETTI, L.J.; MERRIAM, J.; D'OENCH, SN. How to perform intravenous regional limb perfusion using amikacin and DMSO, In: ANNUAL CONVENTION AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTICE, 50., 2004, Denver. **Proceedings...** Colorado: USA, 2004. p.1429.

DOWLING, P.M. Aminoglicosídeos. In: GIGUÉRE, S. et al. *Terapia Antimicrobiana em Medicina Veterinária*. 4 ed. São Paulo: Roca, 2010. p.213-220.

EL-HASSAN, K.M.; HUTTON, P.; BLACK, A.M. Venous pressure and arm volume changes during simulated Bier's block. **Anaesthesia**, v.39, p.229–235, 1984.

ERRICO, J.A.; TRUMBLE, T.N.; ALOISIO, C.D.; et al. Comparison of two indirect techniques for local delivery of a high dose of an antimicrobial in the distal portion of forelimbs of horses. **Am J Vet Res.** v.69, p.334–342, 2008.

FINSTERBUSCH, A.; WEINBERG, H. Venous perfusion of the limb with antibiotics for osteomyelitis and other chronic infections. **J. Bone Jt. Surg.** v.54, p.1227-1233, 1972.

FINSTERBUSCH, A.; ARGAMAN, M.; SACKS, T. Bone joint perfusion with antibiotics in the treatment of experimental staphylococcal infection in rabbits. **J. Bone Jt. Surg.** v.52, p.1424–1432, 1970.

FITZGERALD, R.H. Antibiotic distribution in normal and osteomyelitic bone. **Orthop. Clin. North. Am.**, v.15, p.537-546, 1984.

GAGNON, H.; FERGUSON, J.G.; PAPICH, M.G.; et al. Single-dose pharmacokinetics of cefazolin in bovine synovial fluid after intravenous regional injection. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.17, p.31–37, 1994.

GIGUÉRE, S. Ação e interação do medicamento antimicrobiano: Introdução. In: GIGUÉRE, S. et al. **Terapia Antimicrobiana em Medicina Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2010. p.6.

GOTTLOB, R. Endothelschäden nach intravasalen Injektionen und Infusionen. **Verh. Dtsch. Ges. Pathol.**, v.56, p.563–565, 1972.

GRICE, S.C.; MORELL, R.C.; BALESTRIERI, F.J.; et al. Intravenous regional anesthesia: evaluation and prevention of leakage under the tourniquet. **Anesthesiology.**, v.65, p.316–320, 1986.

WHITTEM, T.; HANLON, D. Dihydrostreptomycin or streptomycin in combination with penicillin in dairy cattle therapeutics: a review and re-analysis of published data, Part 1: Clinical pharmacology. **New Zealand Vet. J.** v.45, p.178–184, 1997.

HYDE, R.M.; LYNCH, T.M.; CLARK, C.K.; SLONE, D.E.; HUGHES, F.E. The influence of perfusate volume on antimicrobial concentration in synovial fluid following intravenous regional limb perfusion in the standing horse. **CVJ.** v. 54, p. 363-367, 2013.

IVESTER, K.M.; ADAMS, S.B. Orthopedic infection: the use of antimicrobial therapy. **Compend. Equine.**, v.2, p.82–90, 2007.

JANSSON In: use of tenoscopy for management of septic tenosynovitis and focal osteomyelitis of the medial proximal sesamoid bone in a horse. **Svensk veterinärtidning.** v. 55, n.19, 2003.

KELMER G.; CATASUS C.T.; SAXTON A.M.; et al. Evaluation of indwelling intravenous catheters for the regional perfusion of the limbs of horses. **Vet Rec.**, v.165, p.496–501, 2009.

KETTNER, N.U.; PARKER, J.E.; WATROUS, B.J. Intraosseous regional perfusion for treatment of septic physitis in a two-week-old foal. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.222, p.346–350, 2003.

KRAUS, B. M. Lacerations involving synovial structures: Initial treatment and novel therapy for infectious arthritis/tenosynovitis. **Clinical Techniques in Equine Practice**. v. 5, p. 82-92, 2006.

KRAMER, J. Distal limb perfusion. In: WILSON, D.A. et al. **Manual of equine field surgery**. Philadelphia: Saunders, cap. 8, p. 55-59, 2006.

LANGER, K.; SEIDLER, C.; PARTSCH, H. Ultrastructural study of the dermal microvasculature in patients undergoing retrograde intravenous pressure infusions. **Dermatology**., v.192, p.103–109, 1996.

LEVINE, G.; EPSTEIN, K.; AHERN, B.J.; RICHARDSON, D.W. Efficacy of three tourniquet types for intravenous antimicrobial regional limb perfusion in standing horses. **Vet. Sur.**, v.39, p.1021-1024, 2010.

LLOYD, K.C.; STOVER, S.M.; PASCOE, J.R.; et al. Synovial fluid pH, cytologic characteristics and gentamicin concentration after intraarticular administration of the drug in an experimental model of infectious arthritis in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.51, p.1363–1369, 1990.

LLOYD, K.C.; STOVER, S.M.; PASCOE, J.R.; et al. Effect of gentamicin sulfate and sodium bicarbonate on the synovium of clinically normal equine antebrachiocarpal joints. **Am J Vet Res.**, v.49, p.650–657, 1988.

MACDONALD, D.G.; MORLEY, P.S.; BAILEY, J.V.; et al. An examination of the occurrence of surgical wound infection following equine orthopaedic surgery (1981–1990). **Equine Vet. J.**, v.26, p.323–326, 1994.

MAHNE, A.T.; RIOJA, E.; MARAIS,H.J.; VILLARINO, N.F.; RUBIO-MARTINEZ, L.M. Clinical and pharmacokinetic effects of regional or general anaesthesia on intravenous regional limb perfusion with amikacin in horses. **Equine Vet. J.**, v.46, p.375–379, 2013.

MATTSON, S.E.; BOURÉ, L.P.; PEARCE, S.G.; et al. Comparison of intraosseous and intravenous infusion of technetium Tc 99m pertechnetate in the distal portion of

forelimbs in standing horses by use of scintigraphic imaging. **Am. J. Vet. Res.**, v.66, p.1267–1272, 2005.

MATTSON, S.E.; BOURÉ, L.P.; ; PEARCE, S.G.; HURTIG, M.; BURGUER, J.; BLACK, W. Intraosseous Gentamicin Perfusion of the Distal Metacarpus in Standing Horses. **Vet. Surg.** V.33, p.180–186, 2004.

MEIJER, M.C.; VAN WEEREN, P.R.; RIJKENHUIZEN, A.B. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. **J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.**, v.47, p.351-365, 2000.

MCILWRAITH, C.W. Treatment of infectious arthritis. **Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.**, v.5, p.363-379, 1983.

MCKENZIE, H.C.; MURRAY, M.J. Concentrations of gentamicin in serum and bronchial lavage fluid after intravenous and aerosol administration of gentamicin in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.61, p.1185-1190, 2000.

MCLAREN, A.C.; RORABECK, C.H. The pressure distribution under tourniquets. **J. Bone Jt. Surg. Am.**, v.67, p.433–438, 1985.

MOORE, R.D.; LIETMAN, P.S.; SMITH, C.R. Clinical response to aminoglycoside therapy: Importance of the ratio of peak concentration to minimal inhibitory concentration. **J. Infect. Dis.**, v.155, p.93–99, 1987.

MOORE, R.M.; SCHNEIDER, R.K.; KOWALSKI, J.; et al. Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from 233 horses with musculoskeletal infection during 1979–1989. **Equine Vet. J.**, v.24, p.450– 456, 1992.

MURPHEY, E.D.; SANTSCI, E.M.; PAPICH, M.G. Regional intravenous perfusion of the distal limb of horses with amikacin sulfate. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.22, p.68-71, 1999.

NAVARRE, C.B; ZHANG, L.; SUNKARA, G.; et al. Ceftiofur distribution in plasma and joint fluid following regional limb injection in cattle. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.22, p.13–19, 1999.

NOMINA ANATOMICA VETERINARIA. 4. ed. Ithaca: Word Association on Veterinary Anatomists, 1994. Disponível em : < <http://www.wava-amav.org>>. Acesso em : 10 mai. 2014.

ORSINI, J.A.; BENSON, C.E.; SPENCER, P.A.; et al. Resistance to gentamicin and amikacin of gram-negative organisms isolated from horses. **Am J Vet Res.** v.50, p.923–925, 1989.

ORSINI, J. A.; ELCE, Y.; KRAUS, B., Management of severely infected wounds in the equine patient. **Clin. Tech. Equine Pract.**, v.3, p.225-236, 2004.

PALMER, S.E.; HOGAN, P.M. How to perform regional limb perfusion in the standing horse, In: ANNUAL CONVENTION AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTICE, 45., 1999, Lexington. **Proceedings...** Lexington: KY, 1999, p.124–127.

PARRA-SANCHEZ, A.; LUGO, J.; BOOTHE, D.M.; et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of enrofloxacin and a low dose of amikacin administered via regional intravenous limb perfusion in standing horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.67, p.1687–1695, 2006.

PILLE, F.; DE BAERE, S.; CEELLEN, L.; et al. Synovial fluid and plasma concentrations of ceftiofur after regional intravenous perfusion in the horse. **Vet. Surg.**, v.34, p.610–617, 2005.

RAFAEL, L.A. **Avaliação do efeito trombogênico da perfusão regional intravenosa com gentamicina em equinos.** 2012. 98f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012. Disponível em : < <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2012/rafaellamebotfmvz.pdf> >. Acesso em: 18 jan. 2014.

RODRIGUES, C.A.; HUSSNI, C.A.; NASCIMENTO, E.S.; ESTEBAN, C.; PERRI, S.H.V. Pharmacokinetics of tetracycline in plasma, synovial fluid and milk using single intravenous and single intravenous regional doses in dairy cattle

with papillomatous digital dermatitis. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.33, n.4, p.363-370, 2010.

RODRIGUES, K.A.; RAFAEL, L.A.; ALVAREZ, L.E.C.; RODRIGUES, M.; MERENDA, V.R.; BERNADINO, P.N.; MODESTO, R.R.; RODRIGUES, C.A. Utilização da ultrassonografia Doppler na avaliação da eficácia de dois tipos de torniquetes utilizados para a perfusão regional intravenosa em equinos. In: XV Conferência Anual ABRAVEQ, 2014, Campos do Jordão. **Anais Revista Brasileira de Medicina Veterinária Equina**, v.29, n.1, p.176, 2014.

RICHARDSON, D.W. Local antimicrobial delivery in equine orthopedics, In: ANNUAL AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY SURGEONS VETERINARY SYMPOSIUM, 13., 2003, Washington. **Proceedings...** Washington, 2003, v.74.

RUBIO-MARTÍNEZ, L.; LÓPEZ-SANROMÁN, J.; CRUZ, A.M.; et al. Evaluation of safety and drug pharmacokinetics of vancomycin after intravenous regional limb perfusion in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.66, p.2107–2113, 2005.

RUBIO-MARTÍNEZ, L. M.; CRUZ, A. M. Antimicrobial regional limb perfusion in horses. **Vet. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.228, p.706 – 712, n.5, 2006.

SANTSCHI, E.M.; ADAMS, S.B.; MURPHEY E.D. How to perform equine intravenous digital perfusion, In: ANNUAL CONVENTION AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTICE., 44.. 1998 **Proceedings...** , 1998, p.198–201.

SCHELLACK G. Farmacologia. Uma abordagem didática. São Paulo: **Fundamento Educacional**, 2005.

SCHEUCH, B.C.; VAN HOOOGMOED, L.M.; WILSON, W.D.; et al. Comparison of intraosseous or intravenous infusion for delivery of amikacin sulfate to the tibiotarsal joint of horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.63, p.374–380, 2002.

SCHNEIDER, R.K.; BRAMLAGE, L. R.; MOORE, R. M.; et al. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. **Equine Vet. J.**, v.24, p.436–442, 1992.

SNYDER, J.R.; PASCOE, R.; HIRSH, D.C. Antimicrobial susceptibility of microorganism isolated from equine orthopedic patients. **Vet. Surg.**, v.24, n.6, p.436-442, 1992.

SCOTT, W.M.; BUTT, T.D.; FRETZ, P.B.; HURTIG, M.B. Daily intramedullary infusion: A practical treatment for orthopedic infections in horses. In: ANNUAL CONFERENCE VETERINARY ORTHOPEDIC SOCIETY, 27., 2000, France. **Proceedings...** France, 2000.

STORPIRTIS, S.; CAMPOS, G.N.; GONÇALVES, D. Eduardo. **Farmacocinética Básica e Aplicada**. Guanabara Koogan, 07/2011. VitalBook file.

TROTTER, G.W. Osteomyelitis. In: NIXON A.J. **Equine fracture repair**. Philadelphia: Wb Saunders, 1996, p.359-366.

WAGNER, J.G. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. IN: HAMILTON, I.L. **Drug Intelligence Publications**, 1975, p.57-120.

WAKAI, A.; WINTER, D.C.; STREET J.T.; et al. Pneumatic tourniquets in extremity surgery. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.**, v.9, p.345–351, 2001.

WERNER, L.A.; HARDY, J.; BERTONE, A.L. Bone gentamicin concentration after intra-articular injection or regional intravenous perfusion in the horse. **Vet. Surg.**, v.32, p.559–565, 2003.

WHITEHAIR, K.J.; ADAMS, S.B.; PARKER, J.E.; et al. Regional limb perfusion with antibiotics in three horses. **Vet. Surg.**, v.21, p.286–292, 1992a.

WHITEHAIR, K.J.; BLEVINS, W.E.; FESSLER, J.F.; VAN SICKLE, D.C.; WHITE, M.R.; BILL, R.P. Regional perfusion of the equine carpus for antibiotic delivery. **Vet. Surg.**, v.21, p.279-285, 1992b.

WHITEHAIR, K.J.; BOWERSOCK, T.L.; BLEVINS, W.E.; et al. Regional perfusion for antibiotic treatment of experimentally induced septic arthritis. **Vet. Surg.**, v.21, p.367–373, 1992c.

WORSTER, A.A.; LILLICH, J.D.; COX, J.H.; et al. Pythiosis with bone lesions in a pregnant mare. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.216, p.1795–1798, 2000.

ZHANEL, G.G. Influence of pharmacokinetic and pharmacodynamics principles on antibiotic selection. **Curr. Infect. Dis. Rep.**, v.3, p.29–34, 2001.

ARTIGO CIENTÍFICO: Trabalho a ser submetido à revista Ciência Rural

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.
7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.
8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).
9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.
10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.
11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).
12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.
13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).
14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.
15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.
16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

1 **ARTIGO CIENTÍFICO: Trabalho a ser submetido à revista Ciência Rural**

2 **Avaliação da concentração da gentamicina administrada através de perfusão regional**
3 **intravenosa em equinos com a utilização de dois modelos de torniquetes**

4 Evaluation of concentration of gentamicin by intravenous regional perfusion in
5 horses with the use of two models of tourniquets

6 **Karoline Alves Rodrigues¹, Leandro Américo Rafael², Luis Emiliano Cisneros**
7 **Alvarez³, Rosângela Gonçalves Peccinini, Celso Antônio Rodrigues⁵**

8 **RESUMO**

9 Os equinos são acometidos frequentemente por processos sépticos na porção distal
10 dos membros. Dentre as mais variadas condutas terapêuticas, destaca-se a perfusão
11 regional intravenosa de antimicrobianos (PRIVA) utilizada como opção para combater a
12 infecção local. A técnica objetiva proporcionar uma concentração elevada do fármaco no
13 local acometido. O procedimento se baseia no posicionamento de um torniquete na região
14 proximal ao local infectado, proporcionando a oclusão do fluxo sanguíneo venoso e
15 arterial, permitindo que o fármaco permaneça na região acometida por no mínimo 30
16 minutos. Objetivou-se com este estudo avaliar e comparar a concentração de gentamicina,
17 fármaco utilizado com frequência na PRIVA, na dose de 2,2 mg/kg, através da
18 administração por via intravenosa regional em equinos, empregando dois modelos de
19 torniquetes frequentemente utilizados pelos veterinários a campo. Os resultados
20 demonstraram que os dois modelos de torniquetes podem ser utilizados na PRIVA em
21 região proximal de membro torácico em equinos, pois ambos, se aplicados corretamente,
22 são capazes de proporcionar concentrações acima da concentração inibitória mínima (CIM)
23 de gentamicina em líquido sinovial para a maioria dos patógenos encontrados na artrite
24 sépticas por até 48 horas.

25 **Palavras chave:** perfusão regional, artrite séptica, gentamicina, equinos

26 **ABSTRACT**

27 The horses are often affected by septic processes in the distal portions of the limbs.
28 Among the various therapeutic approaches, there is intravenous regional perfusion of
29 antimicrobials (IRPA) used as an option to combat local infection. The technique aims to
30 provide a high concentration of the drug in the affected area. The procedure is based on
31 placing a tourniquet proximal to the infected area in the region of providing the venous and
32 arterial blood flow occlusion, allowing the drug to remain on the affected area at least 30
33 minutes. The objective of this study was to evaluate and compare the concentration of
34 gentamicina, drug frequently used in IRLPA, in dose of 2.2 mg/kg, through the regional
35 administration by intravenous route in horse, using two models of tourniquets often used
36 by veterinarians in the field. The results showed that two types of tourniquets in IRLPA
37 can be used in a proximal region of the limb in horses, since both, if applied properly, are
38 capable of provide concentrations above the minimum inhibitory concentration (MIC) of
39 gentamicin in synovial fluid for most pathogens found in septic arthritis for 48 hours.

40 **Keywords:** limb regional perfusion, septic arthritis, gentamicin, equine.

41 **INTRODUÇÃO**

42 As infecções na porção distal dos membros são comuns nos equinos e representam
43 um grande desafio para os veterinários (RUBIO-MARTÍNEZ & CRUZ, 2006). Dentre as
44 infecções ortopédicas, ocorrem com frequência as artrites sépticas, caracterizadas pela
45 colonização bacteriana da membrana sinovial (MCILWRAITH, 1983). O tratamento destas
46 infecções, geralmente é prolongado e dispendioso, devendo ser iniciado rapidamente para
47 minimizar suas complicações (SCHNEIDER et al., 1992). Para o sucesso terapêutico, a
48 administração de antimicrobianos deve atingir e manter uma elevada concentração nas

49 articulações acometidas (TROTTER, 1996). A administração sistêmica destes fármacos,
50 geralmente atinge a CIM em ossos, articulações ou tendões considerados normais (LLOYD
51 et al., 1990). Porém, as principais afecções ortopédicas como a sinovite séptica podem
52 produzir principalmente trombose vascular e isquemia, limitando a entrega sistêmica de
53 antimicrobianos em concentrações suficientemente elevadas para combater a infecção
54 nestes tecidos (MCILWRAITH, 1983). Em geral, quando estas regiões estão infectadas,
55 ocorrem mudanças no pH local, que pode também inativar alguns antimicrobianos, assim
56 como alterar o fluxo sanguíneo, devido obstrução capilar por fibrina e detritos,
57 prejudicando a difusão do fármaco localmente (FITZGERALD, 1984). Assim, o ambiente
58 séptico diminui a entrega e a eficácia do antimicrobiano, podendo levar ao fracasso
59 terapêutico e resistência bacteriana. (FITZGERALD, 1984; IVESTER & ADAMS, 2007).

60 A perfusão regional intravenosa de antimicrobianos é uma técnica de administração
61 local de fármacos de uso frequente, na medicina de grandes animais. O procedimento visa
62 aumentar a concentração do medicamento no local da infecção, contribuindo para
63 eliminação do processo infeccioso, com a vantagem de requerer baixas doses e minimizar
64 o risco de toxicidade (BUTT et al., 2001; ORSINI, ELCE & KRAUS, 2004; RUBIO-
65 MARTÍNEZ e CRUZ, 2006). A técnica é descrita com a realização do isolamento da
66 circulação sistêmica, através da aplicação de um torniquete, resultando em elevados
67 gradientes de pressão entre os compartimentos intra e extravascular. Desta forma, ocorre a
68 melhora da difusão em torno dos tecidos como fluído sinovial, tecidos moles e ósseos,
69 incluindo tecidos mal vascularizados, onde as bactérias se encontram protegidas dos
70 antimicrobianos administrados pelas vias sistêmicas convencionais (FINSTERBUSCH &
71 WEINBERG, 1972). Dentre os antimicrobianos que podem ser utilizados na perfusão
72 regional, o sulfato de gentamicina é utilizado com frequência (WERNER, HARDY &
73 BERTONE, 2003). O conhecimento da concentração atingida é necessária para avaliar se a

74 dose e o torniquete utilizados alcançam a CIM através desta via de administração, onde em
75 um isolado bacteriano comum nos equinos a CIM pode ser considerada de 2 µg / mL
76 (LLOYD et al., 1988). Objetiva-se com este estudo, comparar a concentração da
77 gentamicina administrada pela via intravenosa regional em equinos no intuito de investigar
78 a eficácia de dois modelos de torniquetes utilizados retineiramente pelos veterinários a
79 campo.

80 MATERIAL E MÉTODOS

81 Foram utilizados dez equinos adultos, sem raça definida, de idade variando entre 10
82 e 15 anos, sadios, sem histórico prévio de afecções no aparelho locomotor. Os animais
83 foram divididos em dois grupos escolhidos aleatoriamente, sendo um grupo de cinco
84 equinos submetidos ao torniquete tubular de látex (GTT) e outros cinco animais que
85 receberam o torniquete de Esmarch (GTE). Objetivando minimizar variações vasculares
86 individuais, foram designados aleatoriamente o tratamento do membro torácico direito ou
87 esquerdo, sendo o mesmo procedimento adotado para o GTE. No intuito de proteger os
88 tecidos musculares e nervosos da região de possíveis danos causados pelo torniquete do
89 GTT, devido as suas características que permitem uma estreita superfície de contato entre o
90 membro e o torniquete, no momento da aplicação o mesmo foi posicionado sobre uma
91 compressa cirúrgica em todos os animais do GTT.

92 Os animais foram mantidos em posição quadrupedal e contidos em tronco
93 específico para equinos, onde permaneceram durante todo o procedimento. A sedação com
94 cloridrato de detomidina^a na dose de 30 µg/kg e bloqueio perineural dos nervos mediano,
95 ulnar e músculo cutâneo foram realizados. Após 10 minutos da realização do bloqueio,
96 aplicou-se o torniquete correspondente ao grupo definido. Todos os torniquetes foram
97 aplicados pelo mesmo indivíduo em ambos os grupos, com a padronização de quatro voltas

98 do material elástico ao redor do membro, no sentido anti-horário (aplicador destro),
99 posicionados no terço médio do rádio e mantidos pelo período mínimo de 30 minutos. A
100 veia cefálica foi acessada através da venopunção com um escalpe 19G^b, sem a realização
101 da exsanguinação. A seguir, administrou-se sulfato de gentamicina^c na dose de 2,2 mg/kg
102 adicionado à solução salina fisiológica (NaCl 0,9%^d), até obter-se o volume total de 40 mL
103 divididos em duas seringas. O torniquete foi retirado do local após 30 minutos da infusão
104 completa do antimicrobiano.

105 As amostras de líquido sinovial da articulação rádio cárpica e sangue da veia
106 jugular dos animais foram coletadas antes do início do tratamento (M0), 15 minutos
107 (M15'), 30 minutos (M30'), 1 hora (M1h), 2 horas (M2h), 4 horas (M4h), 6 horas (M6h), 8
108 horas (M8h), 12 horas (M12h), 24 horas (M24h) e 48 horas (M48h) após a administração
109 do sulfato de gentamicina. As amostras colhidas no M15' e M30' foram realizadas antes da
110 retirada do torniquete. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo heparina,
111 onde foram imediatamente centrifugadas e o plasma obtido, armazenados em ependorf e
112 caixas identificadas. As amostras ficaram em freezer a -20°C até o envio para análise.

113 A determinação das concentrações de gentamicina foram realizadas no laboratório
114 de toxicologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia da Faculdade
115 de Ciências Farmacêuticas - FcFar – UNESP – Araraquara. Um método bioanalítico para a
116 determinação de gentamicina em plasma e líquido sinovial por HPLC-MS/Ms foi
117 desenvolvido e validado. Os limites de confiança do método analítico foram determinados
118 de acordo com a resolução da ANVISA (RDC nº27, de 17 de maio de 2012) para a
119 validação de métodos bioanalíticos. As análises estatísticas foram realizadas empregando-
120 se o teste t-student através do programa R (R Project, 2008) e com significância estatística
121 definida como $P < 0,005$.

122 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

123 A realização dos procedimentos com o animal em tronco de contenção permitiu o
124 decorrer do experimento de forma segura e adequada ao procedimento de perfusão e as
125 artrocenteses, proporcionando um eficiente método de contenção, possibilitando segurança
126 tanto ao técnico quanto ao animal.

127 Os bloqueios perineurais minimizaram o desconforto causado pelos torniquetes de
128 forma adequada, quando associados à sedação, possibilitando a realização do procedimento
129 com segurança. Apenas um animal (A15) apresentou sinais de desconforto moderado,
130 próximo ao período de 30 minutos, após a aplicação do torniquete, sendo necessário repetir
131 a sedação. Portanto, assim como demonstrado por Mahne em 2013, deve ser a técnica
132 preferida para a realização da perfusão na região proximal do membro torácico, pois é mais
133 eficiente do que a anestesia intravenosa regional, além de não afetar os parâmetros
134 farmacocinéticos do antimicrobiano.

135 As coletas das amostras de líquido sinovial do carpo, através das artrocenteses
136 ocorreram sem dificuldades e o volume coletado por amostra foi suficiente, apesar das
137 punções seriadas em curto intervalo de tempo, especialmente nas primeiras horas de
138 experimento. Não foram observadas complicações graves decorrentes das artrocenteses,
139 exceto moderado edema na região da articulação, que retornaram a normalidade em até
140 72h, prolongando-se apenas no animal A9, onde foi necessário um período maior para a
141 resolução completa do edema.

142 Considerando-se os aspectos clínicos gerais e locais, não foram observadas
143 complicações clínicas relevantes, devido aos procedimentos de perfusão nos animais de
144 ambos os grupos, com exceção de discreto edema da veia cefálica no local da perfusão de
145 alguns animais, com resolução espontânea após algumas horas.

146 O limite de detecção (LD) da concentração de gentamicina foi de 0,5 µg/mL e o
147 limite de quantificação (LQ) foi de 1 µg/mL. As concentrações individuais, médias e

148 desvio padrão no líquido sinovial da articulação do carpo nos dois grupos estão
149 representadas na tabela 1.

150 Altos valores de C_{max} são importantes para a eficácia dos antimicrobianos
151 concentração-dependente, como a gentamicina (MOORE et al., 1992; ERRICO et al.,
152 2008). Em alterações ortopédicas, onde objetiva-se elevadas concentrações de gentamicina
153 para atingir a CIM, a administração sistêmica pode não ser efetiva (LLOYD et al., 1990),
154 pois a administração intravenosa na dose de 2,2 mg/kg resultou em uma C_{max} no líquido
155 sinovial de apenas 5,1 $\mu\text{g/mL}$ na articulação radiocárpica de equinos adultos (LLOYD et
156 al., 1990) e 2,41 $\mu\text{g/mL}$ em 2 horas, por via intramuscular (BROWN et al.; 1982). Em
157 contrapartida, através de administrações locais como a PR intraóssea, elevadas
158 concentrações em líquido sinovial podem ser obtidas com a mesma dose, onde uma C_{max}
159 de 385 $\mu\text{g/mL}$ foi observada na articulação metacarpofalangeana após 30 minutos de
160 remoção do torniquete (MATTSON et al., 2004). No presente estudo, através da PRIVA, a
161 C_{max} experimental obtida foi 216 vezes maior em GTT (1.100 $\mu\text{g/mL}$) e 110 vezes maior
162 em GTE (559 $\mu\text{g/mL}$), ambos no T_{max} experimental de 15 minutos quando comparados
163 com a administração sistêmica intravenosa, confirmando a vantagem da utilização da
164 técnica.

165 O valor da CIM de 2 $\mu\text{g/mL}$ foi estabelecido como adequado para tratar frequentes
166 infecções bacterianas em equinos. O ideal é que a administração do fármaco seja capaz de
167 fornecer concentrações cerca de 10 vezes superiores a CIM estipulada (LLOYD et al.,
168 1988). Foram observadas, em ambos os grupos deste estudo, concentrações 10 vezes
169 superiores a CIM no líquido sinovial em até 4 horas após a perfusão. Após este período,
170 concentrações abaixo do ideal, porém ainda acima da CIM, foram encontradas após 24 até
171 48 horas da administração do antimicrobiano. Estas concentrações são adequadas para o
172 tratamento de infecções causadas por várias cepas de estafilococos, coliformes e outras

173 bactérias gram-negativas, que demandam concentrações a partir de 2 µg/mL
174 (BAGGOT&PRESCOTT, 1987; CHAMBERS, 2010; DOWLING, 2010).

175 A baixa concentração sistêmica encontrada nos grupos, confirma que a gentamicina
176 pode ser administrada localmente de forma segura, sem o potencial para nefrotoxicidade
177 em uma única dose de 2,2 mg/kg de gentamicina, através da PRIVA (WERNER, HARDY
178 & BERTONE, 2003).

179 Não houve diferenças significativas entre as médias de concentração entre os
180 grupos em cada momento ($P>0,05$). Portanto, pode-se afirmar que ambos torniquetes
181 utilizados foram eficazes, pois até 48 horas foi possível obter concentrações acima da CIM.
182 Além disso, houve a tendência do torniquete tubular apresentar médias mais elevadas do
183 que observado com torniquete de Esmarch. Estes dados contradizem a opinião de Levine
184 no estudo de 2010 que desaconselha o uso do torniquete de tubular por não ser eficaz no
185 alcance da CIM quando utilizado para PRIVA em região proximal de membro. Deve-se
186 ressaltar que a eficácia do torniquete é dependente da pressão de aplicação, ou seja, com
187 exceção do torniquete pneumático onde pode-se regular a pressão, os torniquetes são
188 aplicadores-dependentes e podem resultar numa variação da eficácia devido a pressão não
189 padronizada exercida pelo aplicador. Além disso, outros fatores podem influenciar na
190 eficácia da perfusão. Uma grande variação das concentrações do fármaco entre os animais
191 no estudo ocorreu. Algumas hipóteses incluem a opção pela venopunção com escalpe e a
192 movimentação do membro. O escalpe foi escolhido para o estudo no intuito de reproduzir
193 com realidade as situações enfrentadas pelos veterinário a campo na realização da técnica,
194 onde dificilmente utiliza-se cateter para a realização da PRIVA. O escalpe pode ter
195 ocasionado extravasamento do fármaco pelo local de punção para região perivascular
196 devido à alta pressão intravascular proporcionada pela infusão com o volume de 40 mL. A
197 utilização do cateter seria mais indicada para evitar o extravasamento e as variações na

198 concentração observadas. Observou-se durante a aplicação a ingurgitação da veia,
199 provavelmente ocorrida devido ao fechamento das válvulas venosas. Talvez este fator pode
200 ter atrasado o processo de distribuição do fármaco, influenciando diretamente o pico de
201 concentração, porém um estudo mais aprofundado seria necessário para avaliar a influência
202 das válvulas na distribuição. Outro fator, como o comportamento individual dos animais
203 pode ter influenciado a curva de concentração, pois foi observado extravasamento do
204 fármaco para a circulação sistêmica mesmo no período com o torniquete em 3 animais do
205 GTT e apenas 1 animal do GTE durante o M15'. Isto pode ter ocorrido devido a
206 manipulação dos animais, onde foi necessário flexionar o membro tratado para coleta de
207 líquido sinovial da articulação do carpo.

208 Foram observadas complicações provenientes do procedimento de perfusão
209 regional como discreto edema na veia cefálica devido à punção venosa como previamente
210 descrito por Levine (2010) que poderia ter sido evitado com a aplicação de pomada de
211 diclofenaco sódico, conforme sugere o mesmo autor. Além disso, edema discreto a
212 moderado na articulação cárpica foi observado em alguns animais após as primeiras
213 artrocenteses com resolução espontânea, em média, 72 horas após o término das coletas,
214 descartando uma possível infecção articular iatrogênica devido às sucessivas coletas.

215 **CONCLUSÃO**

216 A utilização da perfusão regional de gentamicina em equinos é uma opção eficiente
217 para se obter uma concentração que exceda os níveis terapêuticos mínimos necessários
218 para combater os principais patógenos presentes nas infecções do carpo desta espécie, com
219 valores acima da concentração inibitória mínima (2µg/mL). Os torniquetes tubular e
220 Esmarch podem ser utilizados como modelos de torniquetes eficazes para a perfusão
221 regional intravenosa em equinos na região proximal do membro torácico. Ambos são
222 capazes de oferecer uma CIM de gentamicina na articulação do carpo de equinos hígidos

223 por até 48 horas, momento em que recomenda-se repetir o tratamento. Apesar do
224 torniquete tubular alcançar concentrações mais altas nas primeiras horas, o torniquete de
225 Esmarch é considerado mais seguro, pois obteve-se menor extravasamento para o plasma
226 durante o período em que esteve aplicado.

227 **AGRADECIMENTOS**

228 Os autores agradecem pelo auxílio financeiro fornecido pela Fundação de Amparo
229 à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) processo 2010/18230-4.

230 **FONTES DE AQUISIÇÃO**

231 ^a Dormiun® – Agener União, São Paulo/SP.

232 ^b BD 19G – dispositivo para infusão intravenosa - BD Brasil, São Paulo/SP.

233 ^c Gentrin – Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos/SP.

234 ^d NaCl 0,9% – JP Indústria Farmacêutica, Ribeirão Preto/SP.

235 **COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA**

236 Este trabalho foi desenvolvido no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina
237 Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
238 Filho” (UNESP), campus de Botucatu. A pesquisa contou com a aprovação do Comitê de
239 Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –
240 UNESP – Campus Botucatu, protocolo nº 113/2013.

241 **REFERENCIAS**

242 BUTT, T.D.; BAILEY, J.V.; DOWLING, P.M.; et al. Comparison of 2 techniques
243 for regional antibiotic delivery to the equine forelimb: intraosseous perfusion vs.
244 intravenous perfusion. **Can. Vet. J.**, v.42, p.617–622, 2001.

245 DOWLING, P.M. Aminoglicosídeos. In: GIGUÉRE, S. et al. Terapia
246 Antimicrobiana em Medicina Veterinária. 4 ed. São Paulo: Roca, 2010. p.213-220.

247 ERRICO, J.A.; TRUMBLE, T.N.; ALOISIO, C.D.; et al. Comparison of two
248 indirect techniques for local delivery of a high dose of an antimicrobial in the distal portion
249 of forelimbs of horses. **Am J Vet Res.** v.69, p.334–342, 2008.

250 FINSTERBUSCH, A.; WEINBERG, H. Venous perfusion of the limb with
251 antibiotics for osteomyelitis and other chronic infections. **J. Bone Jt. Surg.** v.54, p.1227-
252 1233, 1972.

253 FITZGERALD, R.H. Antibiotic distribution in normal and osteomyelitic bone.
254 **Orthop. Clin. North. Am.**, v.15, p.537-546, 1984.

255 IVESTER, K.M.; ADAMS, S.B. Orthopedic infection: the use of antimicrobial
256 therapy. **Compend. Equine.**, v.2, p.82–90, 2007.

257 LEVINE, G.; EPSTEIN, K.; AHERN, B.J.; RICHARDSON, D.W. Efficacy of
258 three tourniquet types for intravenous antimicrobial regional limb perfusion in standing
259 horses. **Vet. Sur.**, v.39, p.1021-1024, 2010.

260 LLOYD, K.C.; STOVER, S.M.; PASCOE, J.R.; et al. Effect of gentamicin sulfate
261 and sodium bicarbonate on the synovium of clinically normal equine antebrachiocarpal
262 joints. **Am J Vet Res.**, v.49, p.650–657, 1988.

263 LLOYD, K.C.; STOVER, S.M.; PASCOE, J.R.; et al. Synovial fluid pH, cytologic
264 characteristics and gentamicin concentration after intraarticular administration of the drug
265 in an experimental model of infectious arthritis in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v.51, p.1363–
266 1369, 1990.

267 MAHNE, A.T.; RIOJA, E.; MARAIS,H.J.; VILLARINO, N.F.; RUBIO-
268 MARTINEZ, L.M. Clinical and pharmacokinetic effects of regional or general anaesthesia
269 on intravenous regional limb perfusion with amikacin in horses. **Equine Vet. J.**, v.46,
270 p.375–379, 2013.

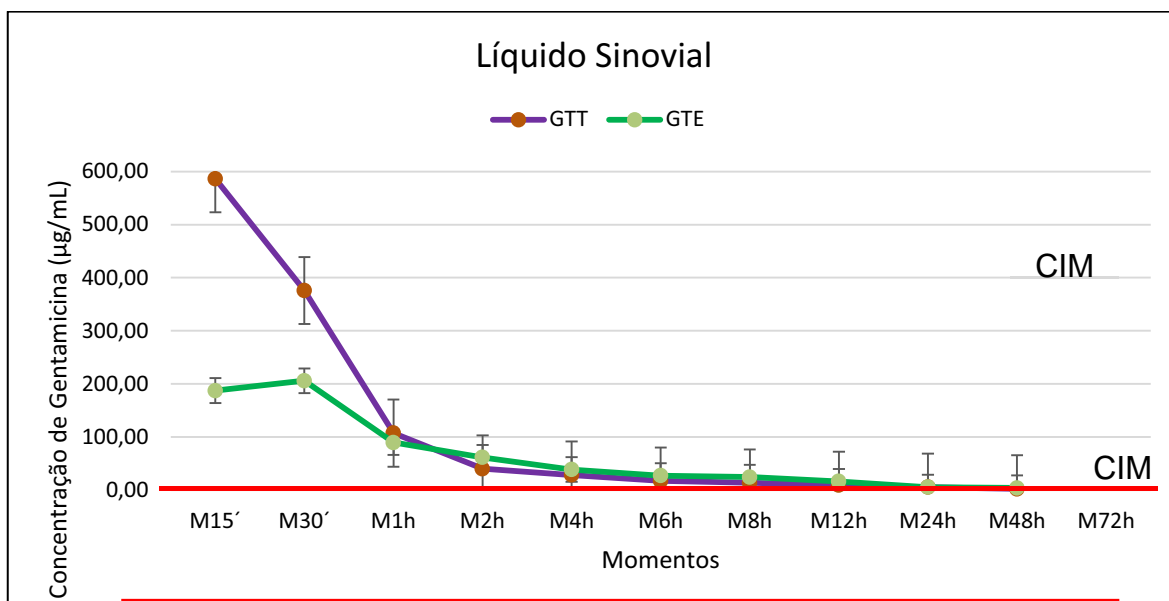
- 271 MCILWRAITH, C.W. Treatment of infectious arthritis. **Vet. Clin. North Am.**
272 **Large Anim. Pract.**, v.5, p.363-379, 1983.
- 273 ORSINI, J. A.; ELCE, Y.; KRAUS, B., Management of severely infected wounds
274 in the equine patient. **Clin. Tech. Equine Pract.**, v.3, p.225-236, 2004.
- 275 RAFAEL, L.A. **Avaliação do efeito trombogênico da perfusão regional**
276 **intravenosa com gentamicina em equinos**. 2012. 98f. Dissertação (Mestrado). Faculdade
277 de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
278 Disponível em : < [http://www.athena.biblioteca.unesp.br/](http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2012/rafaellamebotfmvz.pdf)
279 [exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2012/rafaellamebotfmvz.pdf](http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2012/rafaellamebotfmvz.pdf) >. Acesso em: 18 jan. 2014.
- 280 RODRIGUES, C.A.; HUSSNI, C.A.; NASCIMENTO, E.S.; ESTEBAN, C.;
281 PERRI, S.H.V. Pharmacokinetics of tetracycline in plasma, synovial fluid and milk
282 using single intravenous and single intravenous regional doses in dairy cattle with
283 papillomatous digital dermatitis. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.33, n.4, p.363-370, 2010.
- 284 RODRIGUES, K.A.; RAFAEL, L.A.; ALVAREZ, L.E.C.; RODRIGUES, M.;
285 MERENDA, V.R.; BERNADINO, P.N.; MODESTO, R.R.; RODRIGUES, C.A.
286 Utilização da ultrassonografia doppler na avaliação da eficácia de dois tipos de torniquetes
287 utilizados para a perfusão regional intravenosa em equinos. In: XV Conferência Anual
288 ABRAVEQ, 2014, Campos do Jordão. **Anais Revista Brasileira de Medicina**
289 **Veterinária Equina**, v.29, n.1, p.176, 2014.
- 290 RUBIO-MARTÍNEZ, L. M.; CRUZ, A. M. Antimicrobial regional limb perfusion
291 in horses. **Vet. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.228, p.706 – 712, n.5, 2006.
- 292 SCHNEIDER, R.K.; BRAMLAGE, L. R.; MOORE, R. M.; et al. A retrospective
293 study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. **Equine Vet. J.**, v.24,
294 p.436–442, 1992.

- 295 TROTTER, G.W. Osteomyelitis. In: NIXON A.J. **Equine fracture repair.**
296 Philadelphia: Wb Saunders, 1996, p.359-366.
- 297 WERNER, L.A.; HARDY, J.; BERTONE, A.L. Bone gentamicin concentration
298 after intra-articular injection or regional intravenous perfusion in the horse. **Vet. Surg.,**
299 v.32, p.559–565, 2003.
- 300 WHITEHAIR, K.J.; ADAMS, S.B.; PARKER, J.E.; et al. Regional limb perfusion
301 with antibiotics in three horses. **Vet. Surg.,** v.21, p.286–292, 1992.

302 **Tabela I** - Concentrações de gentamicina ($\mu\text{g/mL}$), média* e desvio padrão (DP) no
 303 líquido sinovial dos equinos ($n=10$) tratados por via intravenosa regional com gentamicina
 304 (2,2 mg/kg) ao longo do tempo (momentos) com a utilização de dois modelos de
 305 torniquetes: Grupo Torniquete Tubular (GTT) e Grupo Torniquete Esmarch (GTE).

Concentração de gentamicina no líquido sinovial												
		M15´	M30´	M1h	M2h	M4h	M6h	M8h	M12h	M24h	M48h	M72h
GTT	A1	124,73	169,93	43,75	21,53	18,56	12,11	7,54	2,67	ND	ND	ND
	A2	426,39	238,55	167,32	39,1	15,73	12,41	8,99	8,3	ND	ND	ND
	A3	349,38	159,78	71,47	41,4	25,77	11,27	7,1	4,19	ND	ND	ND
	A4	931,87	803,82	199,9	58,38	40,02	20,54	15,35	10,52	3,54	2,1	ND
	A5	1.100,01	507,02	53,12	39,31	41,8	28,46	27,86	19,68	7,32	ND	ND
	Média*	586,48	375,82	107,11	39,94	28,38	16,96	13,37	9,07	5,43	2,1	-
(DP)	($\pm 411,72$)	($\pm 277,62$)	($\pm 71,48$)	($\pm 13,06$)	($\pm 12,03$)	($\pm 7,44$)	($\pm 8,75$)	($\pm 6,71$)	($\pm 2,67$)	-	-	
GTE	A6	56,98	50,07	74,84	35,3	23,88	21,85	16,57	9,99	3,88	1,99	ND
	A7	162,77	146,82	42,32	41,04	31,67	36,95	52,87	36,33	13,6	2,4	ND
	A8	56,78	309,82	162,09	55,55	18,24	14,25	10,18	5,67	2,39	ND	ND
	A9	559,18	289,35	64,36	110,56	76,51	41,08	28,97	14,44	5,06	7,31	ND
	A10	100,76	232,78	103,88	64,64	42,24	20,76	12,82	14,45	1,85	ND	ND
	Média*	187,29	205,77	89,5	61,42	38,51	26,98	24,28	16,17	5,35	3,9	-
(DP)	($\pm 212,37$)	($\pm 107,54$)	($\pm 46,23$)	($\pm 29,82$)	($\pm 23,07$)	($\pm 11,46$)	($\pm 17,53$)	($\pm 11,84$)	($\pm 4,78$)	($\pm 2,96$)	-	

306 * Média entre as concentrações de gentamicina acima do LD (limite de detecção – LD =
 307 0,5 $\mu\text{g/mL}$). ND = Não detectado e DP = Desvio Padrão.



308

309 **FIGURA 1** - Representação gráfica dos valores médios das concentrações de gentamicina
310 ($\mu\text{g/mL}$) ao longo do tempo (momentos), no líquido sinovial dos animais submetidos ao tratamento
311 do GTT e GTE (dose 2,2 mg/kg, n=5) e concentração inibitória mínima (CIM) = 2 $\mu\text{g/mL}$.