Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PERFUSÃO INTRAVENOSA REGIONAL COM LEVOFLOXACINO EM EQUINOS

ANA LUISA ALVES RAMBO

Botucatu, SP
Julho – 2024

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PERFUSÃO INTRAVENOSA REGIONAL COM LEVOFLOXACINO EM EQUINOS

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal para obtenção do título de Mestre.

Área de Cirurgia de Grandes Animais

Orientador*: Prof. Titular. Dr. Carlos Alberto Hussni*

Botucatu, SP
Julho – 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Rambo, Ana Luisa Alves.
Avaliação dos efeitos da perfusão intravenosa regional com Levofloxacino em equinos / Ana Luisa Alves Rambo. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Carlos Alberto Hussni
Capes: 50501003

1. Antibiose. 2. Anti-infecciosos. 3. Cavalos. 4. Ultrassonografia. 5. Flebografia.

Palavras-chave: Antibiose em membro; Antimicrobiano; Cavalos; Ultrassonografia vascular; Venografia.

Nome do autor (a): Ana Luisa Alves Rambo

Título: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PERFUSÃO INTRAVENOSA REGIONAL COM LEVOFLOXACINO EM EQUINOS

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni
Orientador
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ - UNESP - Botucatu/SP

Profa. Dra. Juliana de Moura Alonso
Membro

Prof. Dr. Ivan Felismino Charas Dos Santos
Membro

24 de julho de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir viver minha profissão e por todas as portas abertas. À minha família pelo apoio e suporte em todas as minhas decisões. Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni por ter me aceito como orientada e por compartilhar seus conhecimentos. Aos colegas, professores e equipe do setor de Cirurgia de Grandes Animais da Unesp de Botucatu por sempre estarem disponíveis e me ajudarem. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Entrega ao Senhor as tuas obras, e teus desígnios serão estabelecidos.”

Provérbios 16:3

RESUMO

RAMBO, A. L. A. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PERFUSÃO INTRAVENOSA REGIONAL COM LEVOFLOXACINO EM EQUINOS.** Botucatu – SP. 2024. Defesa (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

A técnica da perfusão intravenosa regional (PIR) tornou-se um tratamento frequentemente empregado em infecções da porção distal de membros de cavalos entre outras espécies, pois alcança altos níveis teciduais do fármaco nos locais afetados em comparação com a terapia sistêmica, utilizando os mesmos fármacos em baixas quantidades. Entretanto, se faz necessário o estudo da viabilidade do uso de novas drogas na rotina clínica, baseado na suscetibilidade de patógenos comuns em cavalos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial trombogênico e efeitos inflamatórios locais da técnica com o uso do Levofloxacino, na veia digital palmar comum II de equinos. Utilizaram-se cinco equinos hígidos que receberam 40 mL de levofloxacino na técnica de PIR. O membro perfundido foi avaliado por exame clínico, ultrassonografia duplex em cores, venografia e perimetria do membro ao longo de sete dias. Todos os animais apresentaram escore trombótico zero, e não foram observados efeitos adversos locais ou sistêmicos graves promovidos pela dose ou volume utilizados no estudo. A perfusão intravenosa regional com 40 mL de levofloxacino em dose única não acarretou o desenvolvimento de trombose, vasculite ou irritação nos tecidos adjacentes.

Palavras-chave: Antibiose em membro; Antimicrobiano; Cavalos; Ultrassonografia vascular; Venografia.

ABSTRACT

RAMBO, A. L. A. **EVALUATION OF THE EFFECTS OF REGIONAL INTRAVENOUS PERFUSION WITH LEVOFLOXACIN IN HORSES.** Botucatu – SP. 2024. Defesa (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

The regional intravenous perfusion (RIP) technique has become a frequently used treatment for infections of the distal portion of limbs in horses and other species, as it achieves high tissue levels of the drug in the affected sites compared to systemic therapy using the same drugs in low quantities. Although, it is necessary to study the feasibility of using new drugs in clinical routine, based on the susceptibility of common pathogens in horses. The objective of this study was to evaluate the thrombogenic potential and local inflammatory effects of the technique using Levofloxacin in the common palmar digital vein II of horses. Five healthy horses were used and received 40 mL of levofloxacin in the RIP technique. The perfused limb was evaluated by clinical examination, color duplex ultrasonography, venography and limb perimetry over seven days. All animals had a zero thrombotic score, and no serious local or systemic adverse effects were observed caused by the dose or volume used in the study. Regional intravenous perfusion with 40 mL of levofloxacin in a single dose did not result in the development of thrombosis, vasculitis or irritation of adjacent tissues.

Keywords: Limb antibiosis; Antimicrobial; Horses; Vascular ultrasonography; Venography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Locais de mensuração da perimetria nas regiões proximal (P), média (M) e distal (D) do metacarpo no membro torácico direito..... 18

Figura 2. Venografia mostrando fluxo linear contínuo na veia digital palmar comum II saudável e pérvia. Imagens radiográficas em projeções dorsopalmar (A) e lateromedial (B) das regiões metacarpofalângica e casco de um cavalo em apoio quadrupedal. Setas (A e B) indicando o extravasamento no local da aplicação..... 21

Figura 3: Exame ultrassonográfico da veia digital palmar comum II. Diâmetro da veia digital palmar comum II sem compressão (seta em A); máxima compressão (seta em B); e sinal Doppler positivo após compressão digital (C)..... 22

Figura 4: Gráfico demonstrando as médias de mensuração da perimetria nas regiões proximal, média e distal do metacarpo no membro torácico direito dos cinco animais estudados..... 25

Figura 5: Gráfico demonstrando as médias de mensuração e desvio padrão da perimetria nas regiões proximal, média e distal do metacarpo no membro torácico direito dos cinco animais estudados..... 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Medidas perimétricas nas regiões proximal, média e distal do metacarpo, com as respectivas média e desvio padrão dos cinco animais..... 23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIM: Concentração inibitória mínima

cm: Centímetros

DP: Dorso-palmar

et. al: Colaboradores

FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

G: Calibre/Gauge

kg: Quilograma

kV: Quilovoltagem

LM: Latero-medial

mAs: Miliampere-segundo

mg: Miligrama

MHz: Megahertz

mg/kg: Miligrama por quilograma

mL: mililitros

%: Porcentagem

PIR: Perfusão intravenosa regional

SP: São Paulo

UNESP: Universidade Estadual Paulista

US: Ultrassonografia

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 1
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 2
2. REVISÃO DE LITERATURA 3
3. REFERÊNCIAS 7
CAPÍTULO 2 12
ARTIGO CIENTÍFICO 13
Resumo 14
1. Introdução 15
2. Material e métodos 16
2.1 Animais 16
2.2 Delineamento experimental 17
2.2.1 Avaliações pré-aplicação 17
2.2.2 Perfusão intravenosa regional 18
2.2.3 Avaliações pós-aplicação 19
3. Resultados e discussão 19
4. Conclusões 23
4.1 Declaração de ética 24
4.2 Declaração de contribuição de autoria de crédito 24
4.3 Declaração de conflito de interesses 24
5. Agradecimentos 24
6. Arquivos suplementares 25
REFERÊNCIAS 27

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As infecções envolvendo a porção distal dos membros de equinos e suas estruturas ósseas e sinoviais como articulações, bainhas de tendões e bursas, continuam sendo um dos problemas ortopédicos mais desafiadores e onerosos observados em cavalos (AHERN e RICHARDSON, 2012).

A resolução da infecção exige a administração de antimicrobianos apropriados em concentrações superiores ao nível inibitório mínimo para o agente etiológico no tecido infectado (WHITEHAIR et al., 1992), onde o tratamento local intensivo é crucial para alcançar o sucesso (Ahern e Richardson, 2012).

O grande desafio na eliminação de processos infecciosos de membros em equinos consiste na baixa eficácia dos fármacos antimicrobianos administrados por via sistêmica. Isto ocorre por conta do limitado suprimento sanguíneo na porção distal dos membros, que tende a piorar após lesões nestas regiões (WHITEHAIR et al., 1992; FIORELLO et al., 2008). Sem um tratamento eficaz, a saúde, a carreira atlética e até mesmo a vida dos animais afetados podem ser comprometidas (LUGO e GAUGHAN, 2006).

A perfusão intravenosa regional (PIR) é uma técnica que utiliza um torniquete para isolar a circulação distal dos membros, permitindo fornecer altas concentrações de antimicrobianos por meio de vasos periféricos. Este método é utilizado no tratamento de feridas, infecções complicadas em tecidos e estruturas sinoviais, além de servir como abordagem profilática para infecções em sítios cirúrgicos (REDDING et al., 2022).

Efeitos adversos da técnica são relatados, como inflamação dos tecidos moles no local da aplicação, extravasamento de solução e tromboflebite da veia injetada (RUBIO-MARTÍNEZ et al. 2012), especialmente em venopunções repetidas (KRAMER, 2006).

Embora mais comumente utilizado na medicina humana, o agente antimicrobiano levofloxacino também tem sido foco de pesquisas na medicina veterinária (SITOVS, 2021). É provável que este interesse seja devido as infecções resistentes a muitos dos agentes antimicrobianos atualmente aprovados para uso veterinário (PAPICH, 2020). Com base em seu perfil

farmacológico, o enfoque no uso de fluorquinolonas para tratamento de infecções bacterianas em equinos é crescente (MARTINS TEODORO, 2021). O levofloxacino pertence a terceira geração desta classe, com espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas mais amplo que fluorquinolonas de geração anterior, como norfloxacino ou ciprofloxacino (ALBARELLOS et al., 2005).

Apesar de Goudah e Martins Teodoro já terem estudado a cinética do levofloxacino em cavalos após administração intravenosa e intramuscular, não há relatos da literatura sobre o uso deste antimicrobiano na PIR em equinos. Assim, justifica-se a necessidade de mais pesquisas a fim de compreender os eventos ocorridos após sua administração através da PIR, consequentemente embasando sua utilização clínica para tratar infecções bacterianas nesta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Infecções em membros distais são um problema terapêutico desafiador na prática equina e, em muitos casos, causam danos irreversíveis que levam à claudicação permanente mesmo após a resolução da contaminação (CIMETTI et al. 2004; MOSER et al., 2016; SCHNEIDER, 2006). Dessa forma, o tratamento precoce deve ser instituído para que seja possível o retorno à função atlética (SCHNEIDER et al. 1992).

Como alternativa terapêutica, o uso da PIR tornou-se um tratamento indicado para infecções da porção distal de membros de cavalos (RUBIO-MARTÍNEZ et al., 2012), pois alcança altos níveis teciduais do fármaco nos locais afetados em comparação com a terapia sistêmica, utiliza os mesmos fármacos em baixas quantidades (MURPHEY et al., 1999; RAFAEL et al., 2014) e potencializa a morte bacteriana com efeitos sistêmicos mínimos (BIASUTTI et al., 2020).

A PIR utiliza como acesso as veias superficiais para distribuir ou difundir antimicrobianos para tecidos distais dos membros utilizando um torniquete colocado proximal ao tecido infectado, assim, oclui o fluxo venoso e mantém o fármaco na região acometida (SANTSCHI et al. 1998; BUTT et al. 2001; RAFAEL et al., 2014). Propõe-se que a injeção do antibiótico aumente a pressão venosa

local e crie um gradiente de concentração que conduz o antibiótico para os tecidos periféricos (REDDING et al., 2022).

Em geral, a escolha do antimicrobiano deve ser baseada em resultados de cultura e antibiograma de amostras coletadas da região infectada, antes do início do tratamento (SCHNEIDER et al. 1992), porém, a seleção do antimicrobiano pode ser realizada de acordo com os patógenos mais comumente associados com a infecção em questão, antes da obtenção dos resultados de suscetibilidade (RUBIO MARTÍNEZ, 2006). Além disso, pré-requisitos básicos como solubilidade em água e em soluções isotônicas balanceadas como NaCl 0,9% e Ringer com lactato são essenciais na escolha do antimicrobiano mais adequado para a PIR (CRUZ et al. 2006; RUBIO MARTÍNEZ, 2006).

Vários artigos de pesquisa relatando o levofloxacino em animais foram publicados nos últimos anos (MADSEN et al., 2019; SARTINI et al., 2020; SITOVS et al. 2020), indicando um crescente interesse na medicina veterinária. Dentre as opções economicamente viáveis nos tratamentos em equinos, tem-se o levofloxacino, uma potente quinolona caracterizado pelo seu efeito bactericida concentração-dependente e por exercer efeito pós-antibiótico moderado, que pode ser eficaz em diversos tratamentos de infecções envolvendo bactérias Gram negativas e algumas Gram-positivas (MARTINS TEODORO, 2021). Este gênero de antimicrobianos possui características que incluem baixa ligação às proteínas plasmáticas (30%), concentração inibitória mínima (CIM) contra microrganismos alvo da espécie relativamente baixa e solubilidade adequada a pH 7 para ser administrado por via intravenosa. Seu perfil farmacocinético suporta a administração uma vez ao dia e, devido à sua alta distribuição tecidual, também pode ser adequado no tratamento de doenças ósseas (GOUDAH et al., 2008; MARTINS, 2014).

Com o objetivo de projetar um regime posológico racional em cavalos, o levofloxacino foi estudado por MARTINS TEODORO (2021) após administração intravenosa e oral de uma dose única de 4 mg/kg, concluindo que, com base em seu perfil farmacológico favorável e seu amplo espectro de atividade, o levofloxacino tem potencial para tratar uma ampla variedade de infecções bacterianas de cepas padrão comuns em infecções equinas. GOUDAH et al.

(2008) estudaram o uso do levofloxacino via sistêmica intravenosa em garanhões, com resultados de alta biodisponibilidade sistêmica após sua administração, e nenhum sinal de toxicidade ou anormalidade ao exame físico dos animais estudados, indicando boa absorção do medicamento por esta vias de administração e uma ferramenta terapêutica promissora para várias infecções de tecidos moles em equinos.

Complicações associadas a PIR são relatados e frequentemente envolvem hematoma, trombose (RUBIO-MARTÍNEZ et al., 2012), flebite, edema de tecidos moles e dificuldade de acesso venoso, principalmente especialmente em venopunções repetidas (BUTT et al. 2001, MATTSON et al., 2004; KRAMER, 2006). Em 1856, Virchow delineou pela primeira vez a clássica tríade que leva ao desenvolvimento da trombose: alteração da parede vascular, do fluxo sanguíneo e dos componentes do sangue. Estes fatores podem exercer diferentes graus de influência, atuar isoladamente ou associados e estão intimamente ligados às possíveis complicações da PIR (MONTENEGRO & FRANCO, 1999, SELLON e WISE, 2010).

A lesão endotelial impede que as vias inibidoras da coagulação atuem em determinados segmentos, produzindo co-fatores da protrombina e da trombomodulina e inibindo o ativador do plasminogênio tissular, o que reduz a atividade antitrombótica de forma significativa (CINES et al., 1998; FRANCO, 2001; BLANN, 2004; MEISSNER et al., 2007).

Contribuindo para o desenvolvimento da trombose venosa, a diminuição da velocidade e do volume no fluxo sanguíneo caracteriza a estase sanguínea, presente na técnica de PIR (MAFFEI et al., 2002; MEISSNER et al., 2007). Por sua vez, a turbulência do fluxo, traumatiza o endotélio e também coloca as plaquetas em contato com o endotélio com maior frequência. (MAFFEI et al., 2002; KUMAR et al., 2005; MEISSNER et al., 2007).

O fluxo sanguíneo do vaso afetado pode ser avaliado por meio de venografia ou da ultrassonografia Doppler na identificação de lesão vascular (ALBRICKER, 2022; RAISIS et al., 2000; D'ARPE & BERNADINI, 2010; BONAGURA, 2010).

A ultrassonografia (US) venosa tem sido considerada padrão-ouro para o diagnóstico de trombose venosa aguda (SANTOS, 2019), sendo uma tecnologia potencialmente útil e sensível para detectar alterações no fluxo sanguíneo em membros de equinos, importante no diagnóstico de lesões ósseas, tendões e ligamentos em diferentes fases fisiológicas, patológicas ou após intervenções farmacológicas (SANDE et al., 1998; RAISIS et al., 2000; MENZIES GOW & MARR, 2007; DEL RIO, 2021).

Como método não invasivo, a US Doppler combina dois componentes para avaliar a trombose venosa: imagens em modo bidimensional (Modo B), realizando as manobras de compressão com o transdutor e o estudo do mapeamento de fluxo em cores. O principal critério diagnóstico de US para trombose venosa é a não compressibilidade da veia, seguido de distensão venosa por trombo hipoecóico, ausência completa de sinal Doppler colorido no lúmen da veia e perda de fasicidade do fluxo (ALBRICKER, 2022; BRANDÃO, 2011; PORTER e MONETA, 1995).

A venografia é um exame radiográfico contrastado que permite a observação da luz venosa, empregado no diagnóstico de distúrbios hemodinâmicos na medicina humana e veterinária (MAFFEI et al., 2002; DORNBUSCH, 2005; HUSSNI et al., 2006). Usada principalmente para avaliação da microcirculação do dígito, consiste em uma técnica relativamente simples e pode ser realizada usando equipamento radiográfico padrão para avaliação de uma variedade de condições vasculares em equinos (RUCKER, 2010; PINHEIRO, 2017).

Permite a visualização dos vasos e a avaliação da perfusão vascular no membro após a injeção de um contraste líquido radiopaco de baixa osmolaridade, em uma veia digital palmar/plantar, medial ou lateral do membro, tornando uma técnica segura e não dolorosa (MAFFEI et al., 2002; BOUNAMEAUX e PERRIER, 2006; RUCKER, 2006; D'ARPE & BERNARDINI, 2010). Esta ferramenta diagnóstica pode evidenciar áreas de isquemia antes mesmo que estas sejam detectadas clinicamente, complementando os achados clínicos e permitindo a monitorização mais detalhada da evolução da enfermidade (LOUREIRO et al., 2019).

Para melhor compreender o mecanismo de ação de novos antimicrobianos direcionado às enfermidades infecciosas em membros, deve-se avaliar os efeitos destes fármacos no uso da PIR (FIORELLO et al., 2008). Neste contexto, a levofloxacino representa uma alternativa terapêutica promissora, baseado no seu perfil farmacológico favorável (GOUDAH et al., 2008; RUBIO-MARTÍNEZ et al., 2012; OREFF et al., 2016). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial trombogênico e efeitos inflamatórios locais após a administração do levofloxacino por meio da PIR em equinos hígidos, a fim de embasar sua utilização clínica para tratar infecções bacterianas nesta espécie.

3. REFERÊNCIAS

AHERN, B.J.; RICHARDSON, D.W. Surgical site infection and the use of antimicrobials. In: AUER, J.A.; STICK, J.A. **Equine surgery**, Philadelphia: WB Saunders, 2012. p.68-84.

ALBARELLOS, G. A. et al. Pharmacokinetics of levofloxacin after single intravenous and repeat oral administration to cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n.4, p. 363–369, 2005.

ALBRICKER, A. C. L. et al. Diretriz Conjunta sobre Tromboembolismo Venoso – 2022. ***Arquivos Brasileiros De Cardiologia*****,** *118*(4), 797–857, 2022.

BIASUTTI, S. A.; COX, E.; JEFFCOTT, L. B.; DART, A. J. A review of regional limb perfusion for distal limb infections in the horse. **Equine Veterinary Education.** doi:10.1111/eve.13243, 2020.

BLANN, A.D. How a damaged blood vessel wall contributes to thrombosis and hypertension. **Pathophysiol. Haemost. Thromb**., v.33, p.445-448, 2004.

BOUNAMEAUX, H.; PERRIER, A. Diagnosis of venous thromboembolism. In: COLMAN, R.W.; HIRSH, J.; MARDER, V.J.; CLOWES, A.W.; GEORGE, J.N. **Hemostasis and thrombosis – Basics principles and clinical practice**. 5.ed. Philadelphia: Leppincott Willians & Wilkin,. p.1279- 97, 2006.

BONAGURA J.D.; REEF V.B.; SCHWARZWALD C.C. Cardiovascular diseases. In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. **Equine Internal Medicine***.* 3rd ed. St. Louis, Missouri: Saunders; pp. 372–487, 2010.

BRANDÃO, G.M.S. **Trombose venosa profunda aguda: avaliação prospectiva o início do processo de recanalização das veias dos membros inferiores pelo mapeamento duplex em cores.** (Dissertação de Mestrado em Bases Gerais da Cirurgia) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

BUTT, T.D. et al. Comparison of 2 techniques for regional antibiotic delivery to the equine forelimb: intraosseous perfusion vs. intravenous perfusion. **Canadian Veterinary Journal**. 42: 617-622, 2001.

CIMETTI, L.J. et al. How to perform intravenous regional limb perfusion using amikacin and DMSO. In: 50 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. Denver: **International Veterinary Information Service**. p. 219-223, 2004.

CINES, D.B.; et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. **Blood,** v.91, p.3527-3561, 1998.

CRUZ, A.M. et al. New antimicrobials, systemic distribution, and local methods of antimicrobials delivery in horses. **Veterinary Clinics Equine Practice**. 22: p. 297-322, 2006.

D'ARPE, L.; BERNADINI, D. Digital venography in horse and its clinical application in Europe. **Vet. Clin. N. Am. Equine Pract**., v.26, p.339-359, 2010.

DEL RIO, L. A.. **Avaliação do sistema locomotor de equinos atletas de laço em dupla: comparação entre os que laçam a cabeça e os que laçam os membros pélvicos.** (Dissertação de mestrado em Ciência Animal), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba-FMVA, 2021.

DORNBUSCH, P. T. **Trombectomia com cateter de Fogarty no tratamento da trombose jugular experimental em equinos.** (Tese Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

FIORELLO, C. V.; BEAGLEY, J.; CITINO, S. B. Antibiotic Intravenous Regional Perfusion for Successful Resolution of Distal Limb Infections: Two Cases**. American Association of Zoo Veterinarians,** v. 39, n. 3, p. 438-444, 2008.

FRANCO, R.F. **Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise**. Medicina (Ribeirão Preto), v.34, p.229-237, 2001.

GOUDAH, A.; et al. Characterization of the pharmacokinetic disposition of levofloxacin in stallions after intravenous and intramuscular administration. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 31, n. 5, p. 399-405, 2008.

GOUDAH, A. Pharmacokinetics of levofloxacin in male camels (Camelus dromedarius). **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 32, n. 3, p. 296-299, 2009.

HUSSNI, C.A. et al. Avaliação clínica e angiográfica da vascularização consecutiva à ressecção experimental da jugular de eqüinos. **Vet. Zootec**., v.13, p.163-168, 2006.

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

KUMAR, V.; FAUSTO, N.; ABBAS, A. **Robbins and cotran pathologic basis of disease.** 7.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2005.

LOUREIRO, M.G. et al. Estudo da técnica de venografia dos dígitos de vacas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.,** vol.71, n.2, pp.379-384. Epub June 06, 2019.

LUGO, J., GAUGHAN, E.M. Septic arthritis, tenosynovitis, and infections of hoof structures. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.22, n.2, p.363-388, 2006.

MAFFEI, F.H.A. et al. **Doenças vasculares periféricas**. 3.ed. Rio de Janeiro: MEDSI/Editora Médica e Científica, 2002.

MADSEN, M., MESSENGER, K., & PAPICH, M. G. Pharmacokinetics of levofloxacin following oral administration of a generic levofloxacin tablet and intravenous administration to dogs. **American Journal of Veterinary Research**, 80(10), 957–962, 2019.

MARTINS TEODORO, E. S., **Avaliação da farmacocinética do levofloxacino em equinos e do perfil antibacteriano para construção do regime posológico**. (Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 2021.

MARTINS, S., **Quinolonas em Química Medicinal**. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Do Algarve Faculdade De Ciências e Tecnologia, 2014.

MATTSON, S.; BOURÉ, L.; PEARCE, S. Intraosseous gentamicin perfusion of the distal metacarpus in standing horses. **Vet. Surg**., v.33, p.180-186, 2004.

MEISSNER, M.H. et al. Acute venous disease: venous thrombosis and venous trauma. J. **Vasc. Surg**., v.46, p.25-53, 2007.

MENZIES GOW N.J., MARR C.M. Repeatability of Doppler ultrasonographic measurement of equine digital blood flow. **Vet Radiol Ultrasound**. 48(3):281-5, 2007.

MONTENEGRO, M.R.; FRANCO, M. **Patologia: processos gerais**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, p. 292, 1999.

MOSER, D. K.; SCHOONOVER, M. J.; HOLBROOK, T. C.; PAYTON, M. E. Effect of Regional Intravenous Limb Perfusate Volume on Synovial Fluid Concentration of Amikacin and Local Venous Blood Pressure in the Horse. **Veterinary Surgery**, 45(7), 851–858, 2016.

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

OREFF, G. L. et al. The Effect of Perfusate Volume on Amikacin Concentration in the Metacarpophalangeal Joint Following Cephalic Regional Limb Perfusion in Standing Horses. **Veterinary Surgery**, 45(5), 625–630, 2016.

PAPICH, M.G. Antimicrobial agent use in small animals what are the prescribing practices, use of PK-PD principles, and extralabel use in the United States. **J. Vet. Pharmacol.** Ther. 44, 1–12, 2020.

PINHEIRO, I. **A Venografia Digital no Diagnóstico de Laminite em Cavalos**. (Dissertação de Mestrado), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017.

PORTER J.M., MONETA G.L. Reporting standards in venous disease: an update. International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. **J Vasc Surg**. Apr;21(4):635-45, 1995.

RAISIS, A. L. et al. Doppler ultrasonography and single-fiber laser Doppler flowmetry for measurement of hind limb blood flow in anesthetized horses. **American Journal of Veterinary Research**, 61(3), 286–290, 2000.

RAFAEL, L.A. et al. Avaliação do efeito trombogênico da perfusão regional intravenosa com gentamicina em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 66: 1449-1456, 2014.

REDDING, L. E.; ELZER, E. J.; ORTVED, K. F. **EFFECTS of regional limb perfusion technique on concentrations of antibiotic achieved at the target site: A meta-analysis**, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265971, 2022.

RUBIO-MARTÍNEZ, L.M.; ELMAS, C.R.; BLACK, B.; MONTEITH G. Clinical use of antimicrobial regional limb perfusion in horses: 174 cases (1999-2009). **J Am Vet Med Assoc**, 241, p. 1650-1658, 2012.

RUCKER, A. How to Perform the Digital Venogram. **Equine Veterinary Education**, 526-530, 2006.

RUCKER, A. Clinical Applications of Digital Venography. J**ournal of Equine Veterinary Science**, 2010.

SANDE, R. D.; TUCKER, R. L.; JOHNSON, G. R. Equine Diagnostic Ultrasonography. **Diagnostic ultrasound: Applications in the Equine Limb**. Baltimore: Williams & Wilkins. p.103 cap.7, 1998.

SANTOS, S.N.; ALCANTARA M.L.; FREIRE C.M.V. et al. Posicionamento de ultrassonografia vascular do Departamento de Imagem Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia - 2019. **Arq Bras Cardiol: Imagem Cardiovasc**. 32(3):157-97, 2019.

SANTSCHI, E.M. et al. How to perform equine intravenous digital perfusion. In: **44 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**. Baltimore. p. 124-127, 1998.

SARTINI, I; LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B; KIM, T.W; LISOWSKI, A; Poapolathep, A.; Giorgi, M. Pharmacokinetic and tissue analyses of levofloxacin in sheep (Ovis aries Linnaeus) after multiple-dose administration Res. Vet. Sci., 128 pp. 124-128, 2020.

SELLON, D.C.; WISE, L.N. Disorders of the hematopoietic system. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M.; SELLON D.C. editors. **Equine Internal Medicine**. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Saunders; pp. 730–776, 2010.

SITOVS, A. et al. Pharmacokinetic profiles of levofloxacin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to rabbits (Oryctolagus cuniculus). **J Vet Sci.**Feb;21(2):32, 2020.

SITOVS, A.; SARTINI, I.; GIORGI, M. Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review. **Research in Veterinary Science**. Volume 137, July, Pages 111-126, 2021.

SCHNEIDER, R.K. et al. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. **Equine Veterinary Journal**. 24: 436-442, 1992.

SCHNEIDER, R.K. Synovial and Osseous Infections. In: AUER, JA & STICK JA. **Equine Surgery**. 3.ed. Saint Louis: Elsevier. p. 1121, 2006.

WHITEHAIR, K. J, ADAMS, S. B, PARKER, J.E. et al. **Regional limb perfusion with antibiotics in three horses.** Vet. Surg. V 21 p. 2826- 292, 1992.

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PERFUSÃO INTRAVENOSA REGIONAL COM LEVOFLOXACINO EM EQUINOS[1]

Evaluation of the effects of regional intravenous perfusion with levofloxacin in horses

Rambo, A.L.A. [a]*; Hussni, C.A [a].; Cestari, H. [a]; Duarte, H. G. [a]

[a]Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente

E-mail: ana.rambo@unesp.br (A.L.A Rambo)

(11)972867242

[1] Manuscrito elaborado de acordo com as *Guide for Authors* da International Journal of Equine Science, exceto para o idioma.

Resumo

A técnica da perfusão intravenosa regional (PIR) tornou-se um tratamento frequentemente empregado em infecções da porção distal de membros de cavalos entre outras espécies, pois alcança altos níveis teciduais do fármaco nos locais afetados em comparação com a terapia sistêmica, utilizando os mesmos fármacos em baixas quantidades. Entretanto, se faz necessário o estudo da viabilidade do uso de novas drogas na rotina clínica, baseado na suscetibilidade de patógenos comuns em cavalos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial trombogênico e efeitos inflamatórios locais da técnica com o uso do Levofloxacino, na veia digital palmar comum II de equinos. Utilizaram-se cinco equinos hígidos que receberam 40 mL de levofloxacino na técnica de PIR. O membro perfundido foi avaliado por exame clínico, ultrassonografia duplex em cores, venografia e perimetria do membro ao longo de sete dias. Todos os animais apresentaram escore trombótico zero, e não foram observados efeitos adversos locais ou sistêmicos graves promovidos pela dose ou volume utilizados no estudo. A perfusão intravenosa regional com 40 mL de levofloxacino em dose única não acarretou o desenvolvimento de trombose, vasculite ou irritação nos tecidos adjacentes.

Palavras-chave: Antibiose em membro; Antimicrobiano; Cavalos; Ultrassonografia vascular; Venografia.

1. Introdução

As infecções envolvendo a porção distal dos membros de equinos e suas estruturas ósseas continuam sendo um dos problemas ortopédicos mais desafiadores e onerosos observados em cavalos (Ahern e Richardson, 2012). A resolução da infecção exige a administração de antimicrobianos apropriados em concentrações superiores ao nível inibitório mínimo para o agente etiológico no tecido infectado (Whitehair et al., 1992), onde o tratamento local intensivo é crucial para alcançar o sucesso (Ahern e Richardson, 2012).

O grande desafio na eliminação de processos infecciosos de membros em equinos consiste na baixa eficácia dos fármacos antimicrobianos administrados por via sistêmica. Isto ocorre por conta do limitado suprimento sanguíneo na porção distal dos membros, que tende a piorar após lesões nestas regiões (Whitehair et al., 1992; Fiorello et al., 2008). Sem um tratamento eficaz, a saúde, a carreira atlética e até mesmo a vida dos animais afetados podem ser comprometidas (Lugo e Gaughan, 2006).

A perfusão intravenosa regional (PIR) é uma técnica que utiliza um torniquete para isolar a circulação distal dos membros, permitindo fornecer altas concentrações de antimicrobianos por meio de vasos periféricos. Este método é utilizado no tratamento de feridas, infecções complicadas em tecidos e estruturas sinoviais, além de servir como abordagem profilática para infecções em sítios cirúrgicos (Redding et al., 2022).

Alguns efeitos adversos da técnica são relatados, como inflamação dos tecidos moles no local da aplicação, extravasamento de solução e tromboflebite da veia injetada (Rubio-Martínez et al., 2012), especialmente em venopunções repetidas (Kramer, 2006). No entanto, essas complicações podem ser minimizadas com contenção adequada, tranquilização e analgesia (Biasutti et al., 2020).

Com base em seu perfil farmacológico, há um crescente interesse no uso de fluorquinolonas para tratamento de infecções bacterianas em equinos (Martins Teodoro, 2021). O levofloxacino pertence a terceira geração desta classe, com espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas mais amplo que fluorquinolonas de geração anterior, como norfloxacino ou

ciprofloxacino (Albarellos et al., 2005). Além disso, representa uma opção economicamente viável nos tratamentos em equinos, pelo seu efeito bactericida concentração-dependente e por exercer efeito pós-antibiótico (Martins Teodoro, 2021; Sitovs, 2021).

A ligação do levofloxacino às proteínas plasmáticas em animais é geralmente inferior à observada em humanos (38%) (Sitovs, 2021). Isto contribui para a administração uma vez ao dia devido à sua alta distribuição tecidual e torna seu uso adequado para a PIR no tratamento de doenças ósseas (Goudah, 2009; Martins, 2014). Além disso, sua concentração inibitória mínima (CIM) contra microrganismos alvo da espécie é baixa e possui solubilidade adequada a pH 7 para administração intravenosa (Sitovs, 2021).

Recentemente, Martins Teodoro (2021) verificou que 4mg/kg de levofloxacino foi adequado para tratar infecções por E. coli tanto pela via intravenosa quanto pela via oral, com uma extensa distribuição do fármaco nos fluidos e tecidos. Adicionalmente, um estudo na medicina humana de Bellmann et al. (2004), evidenciou que a penetração do levofloxacino nos tecidos não parece ser afetada pela inflamação local, fato que favorece seu uso na PIR.

Apesar de Goudah et al. (2008) e Martins Teodoro (2021) já terem estudado a cinética do levofloxacino em cavalos após administração oral, intravenosa e intramuscular, não há relatos da literatura sobre o uso deste antimicrobiano na PIR em equinos. Além disso, há controvérsias quanto à dose ideal para a PIR (Santschi et al., 1998; Butt et al., 2001), e não existem parâmetros estabelecidos para a dosagem de levofloxacino com esta técnica.

Assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar as possíveis complicações nos membros decorrentes da aplicação de levofloxacino por meio da técnica de perfusão regional intravenosa em membros torácicos de equinos hígidos.

2. Material e métodos

2.1 Animais

Foram utilizados cinco equinos sem raça definida, fêmeas, com médias de 8 (±1,41) anos de idade e 385 (± 80,23) kg de massa corporal. A seleção de

animais hígidos foi feita com base em exames físicos e seu histórico, excluindo aqueles com comprometimento de lesões ósseas, tendíneas ou articulares em carpo e distal a este. Ao exame físico foram avaliados: frequência cardíaca e respiratória, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar, temperatura retal e motilidade intestinal. Durante a pesquisa os animais foram alojados em piquetes e alimentados com feno de capim *coast-cross* e água *ad libitum*.

2.2 Delineamento experimental

Os animais foram submetidos a avaliações prévia e posterior a perfusão intravenosa regional (PIR) com levofloxacino. Sendo considerado o momento imediatamente antes da aplicação, 24 horas após a realização da PIR e subsequente a cada 24 horas durante seis dias. Os procedimentos experimentais foram realizados no membro torácico direito de cada animal e exercidos pelo mesmo operador.

2.2.1 Avaliações pré-aplicação

Imediatamente antes da aplicação, procedeu-se exame físico completo com enfoque ao aparelho locomotor, exames radiográficos e ultrassonográficos confirmando a higidez dos animais. Os parâmetros avaliados no exame físico foram os mesmos empregados na seleção dos animais, acrescido de pinçamento de casco, inspeção local do membro e avaliação de claudicação de acordo com Stashak (2002).

As imagens radiográficas foram obtidas por meio do equipamento Vet20BT (Abla R Import), utilizando a técnica radiográfica de 70 kV 1mAs com o feixe de raio-X perpendicular ao chassi em todas as projeções. Foram realizadas radiografias simples dorso-palmar (DP) e latero-medial (LM) abrangendo a porção distal do carpo até o casco a fim de detectar possíveis alterações ósseas. Para o exame ultrassonográfico, foi utilizado o aparelho MyLab 70 xview Italia, com transdutor linear na frequência de 5 MHz, analisando a área da porção distal do carpo à falange proximal do membro. Foi verificado e confrmado a normalidade dos tecidos moles da região e perviedade dos vasos por meio do duplex em cores e teste de compressão venosa conforme Albricker (2022) e Brandão (2011).

Adicionalmente, foi mensurada a perimetria do metacarpo com fita métrica flexível, nas regiões proximal, média e distal (Fig. 1).

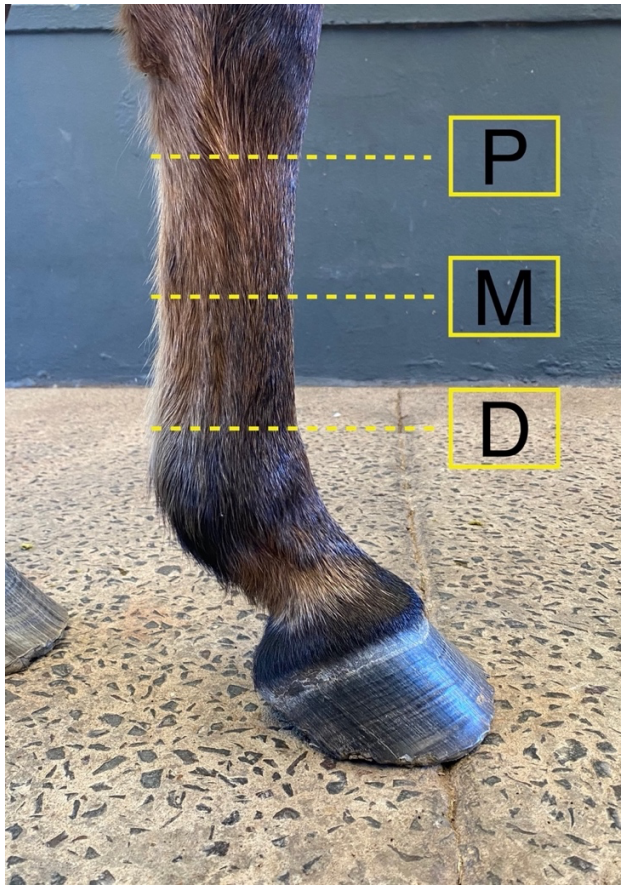


Figura 1- Locais de mensuração da perimetria nas regiões proximal (P), média (M) e distal (D) do metacarpo no membro torácico direito.

2.2.2 Perfusão intravenosa regional

Para a realização da PIR, os animais foram tranquilizados com 0,1mg/kg de acepromazina 1% (Apromazin− Syntec) via intravenosa e o nervo musculocutâneo foi submetido a bloqueio anestésico com 10 mL de lidocaína a 2%.

Seguiu-se a colocação de um torniquete com faixa de Smarsch de cinco centímetros de largura, firmemente aplicado à região medial do metacarpo no nível proximal ao local do acesso venoso e fixado a ponta com bandagem adesiva. A punção venosa foi feita com escalp 21G inserido na Veia digital Palmar Comum II, na face medial do terço médio do metacarpo. Foi aplicado 40 mL de Levofloxacino, solução intravenosa a 5% (Levotac ® Cristália- Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda) e mantido o torniquete por 40 minutos. Durante

este período os animais foram monitorados quanto à ocorrência de sinais de desconforto ou reações adversas, monitoração esta que se estendeu nas 24 horas subsequentes à retirada do torniquete, em intervalos de duas horas.

2.2.3 Avaliações pós-aplicação

Após 24 horas da PIR, procedeu-se novamente os exames físicos e ultrassonográficos realizados pré-aplicação, acrescido da venografia. Neste momento, a ultrassonografia teve atenção especial à vasculatura sobre possíveis formações trombóticas. O teste de compressão venosa foi executado especificamente na veia Digital Palmar Comum II acessada e onde fora aplicado o antimicrobiano.

Procedeu-se a venografia regional do membro a partir da mesma técnica radiográfica e aparelho utilizados no momento pré-aplicação, com o casco apoiado sobre um bloco de madeira. Para ocluir o fluxo venoso, foi aplicado com firmeza o torniquete com faixa de Smarsch na porção distal do radio direito. Em seguida, foram infundidos 40 mL de contraste radiográfico (Reliev 60%) por meio do acesso à veia Digital Palmar Comum II, com escalp 21G. Após 60 segundos da aplicação do contraste, foram feitas sequencialmente as imagens nas posições DP e LM da região distal ao carpo até o casco.

As imagens venográficas bem como os demais exames mostraram as estruturas relacionadas à região estudada e sua manutenção ou alteração estrutural após a realização da PIR. Complementando a avaliação clínica, a perimetria regional foi novamente realizada e estendida diariamente durante 6 dias, observando-se a ocorrência de aumento de volume regional e sua redução após o procedimento.

3. Resultados e discussão

As avaliações pré e pós aplicação objetivaram avaliar e confirmar a perviedade vascular, bem como a ausência de claudicação. As avaliações físicas mensuradas confirmaram a ausência de claudicação e dor ao pinçamento do casco antes e após a aplicação da PIR.

A tranquilização e bloqueios anestésicos locais assertivos são passos importantes para minimizar os movimentos do membro garroteado e garantir a

eficácia durante a realização da PIR (Biasutti et al., 2020; Mahne et al., 2014; Mendez-Ângulo, 2020; Rubio-Martínez et al., 2012). O protocolo de tranquilização e bloqueio do nervo musculocutâneos utilizados demonstraram ser eficientes para conter os animais durante os 40 minutos de permanência do torniquete. Apenas um animal demonstrou desconforto e necessitou de tranquilização adicional. Além disso, a Banda de Esmarch demonstrou ser funcional e não traumático à parede vascular, sendo preferível à torniquetes mais estreitos (Alkabes et al. 2011; Levine et al. 2010 e Rodrigues, 2014).

O volume de infusão de 40 mL da levofloxacino foi satisfatório, dado que volumes entre 10 a 60 mL são adequados para PIR na região distal ao carpo (Hyde, 2013; Cimetti et al., 2004). Entretanto, uma intercorrência observada no exame venográfico foi o extravasamento do contraste no local da aplicação (Fig. 2), em função da pressão intravenosa (Rubio-Martínez et al., 2012; Moser et al., 2016), mas que não interferiu na observação dos vasos.





Figura 2: Venografia mostrando fluxo linear contínuo na veia digital palmar comum II saudável e pérvia. Imagens radiográficas em projeções dorsopalmar (A) e lateromedial (B) das regiões metacarpofalângica e casco de um cavalo em apoio quadrupedal. Setas (A e B) indicando o extravasamento no local da aplicação.

Sabe-se que o papel das válvulas venosas é impedir o fluxo sanguíneo retrógrado (Harfoush, 2015), o que gera um desafio para a aplicação da PIR, pois as válvulas precisam abrir para permitir o preenchimento dos vasos na região distal do membro. Porém, como ocorrido, quando estas permanecem fechadas, a pressão excessiva com a solução injetada pode gerar vazamento do medicamento.

A venografia permitiu avaliar a perfusão vascular do membro, sendo considerada um método eficiente no diagnóstico de trombose venosa e comprometimento da integridade vascular em equinos (Dornbusch, 2005; Hussni et al., 2006; Pinheiro, 2017). Neste estudo, todos os animais demonstraram uma linha fina e contínua de contraste dissipando-se pela veia, sem acúmulo ou distensão de vaso, confirmando sua perviedade. Apesar de sua eficiência, este exame não foi incluído nos exames pré aplicação, visto que poderia inteferir nos resultados da integridade e perfusão do vaso.

Não houve diferenças observadas entre os animais quanto à trombose venosa no vaso acessado ou vasculatura associada. Todos mantiveram a manutenção da perviedade, exibiram coaptação normal sob pressão externa ao vaso e presença de fluxo sanguíneo (Fig. 3), descartando a presença de trombo (Karande et. al., 2016; Porter e Moneta, 1995).

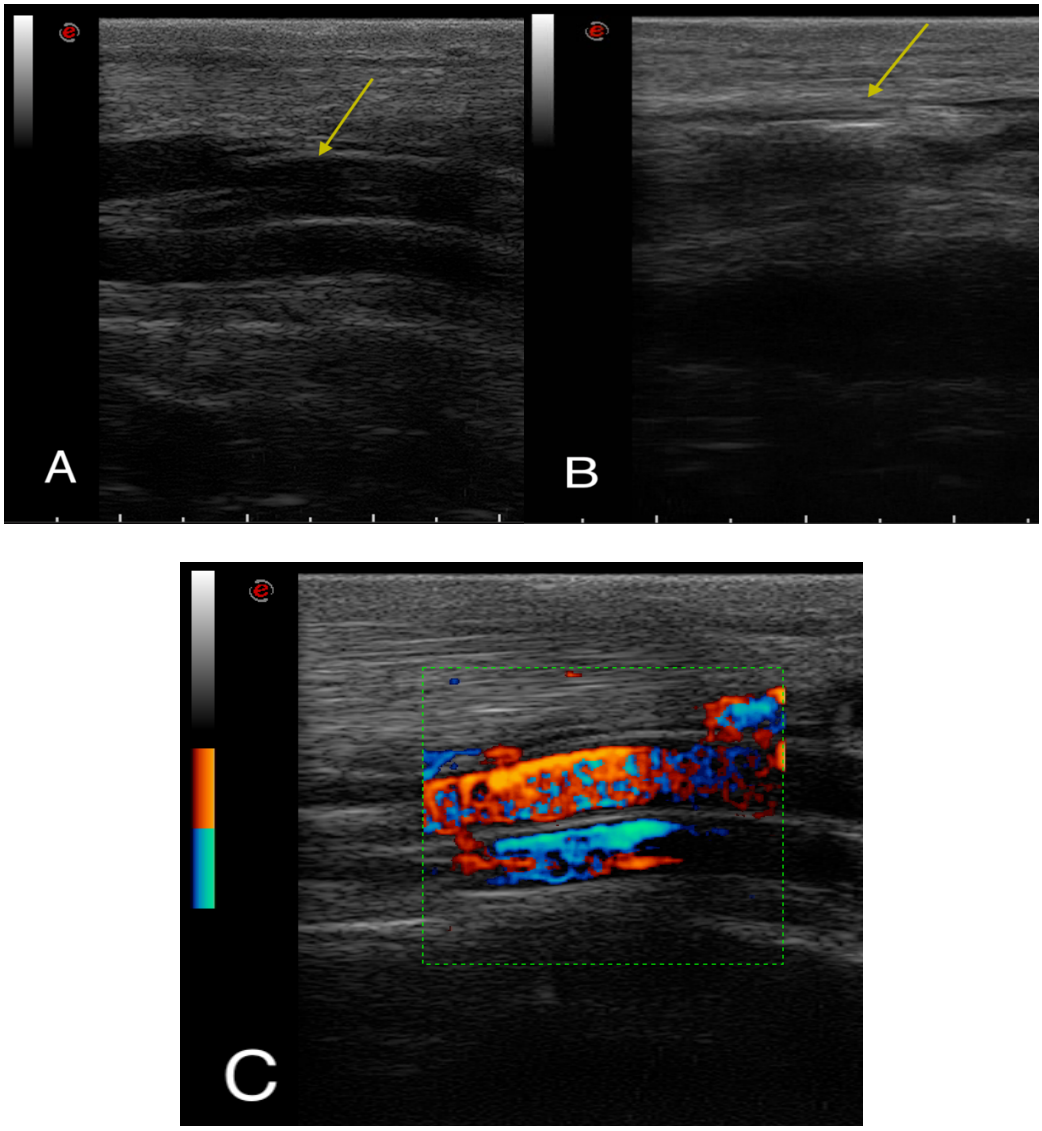


Figura 3: Exame ultrassonográfico da veia digital palmar comum II. Diâmetro da veia cefálica sem compressão (seta em A); máxima compressão (seta em B); e sinal Doppler positivo após compressão digital (C).

A perimetria do membro na região puncionada foi realizada diariamente a fim de comparar as mensurações pré e pós aplicação, dado que desordens associadas a PIR podem se manifestar com edema de tecidos moles na região aplicada e seu entorno (Butt et al., 2001; Rubio-Martínez et al., 2012). Na avaliação física dos animais, os perímetros modificaram-se como um todo em

função do tempo. O edema regional no local do acesso venoso para medicação foi de baixa intensidade, clinicamente sem relevância e transitório (Tabela 1), entretanto, não foram constatadas complicações quanto a sensibilidade à palpação ou aumento de temperatura local durante todo o experimento.

Tabela 1: Medidas perimétricas nas regiões proximal, média e distal do metacarpo, com as respectivas média e desvio padrão dos cinco animais.

	Animal 1					**Animal 2**					**Animal 3**		
Momentos	Proximal	Médio	Distal		Momentos	Proximal	Médio	Distal		Momentos	Proximal	Médio	Distal
0	17	18	18		0	16,5	16,5	18		0	20	18,5	20,1
1	18,5	19	20		1	17	17	19		1	20	19,5	21
2	17,5	19	20		2	17	17	19		2	20	19,5	21
3	17,5	19	20		3	17	17	19		3	20	19,5	21
4	17	19	20		4	16,5	17	19		4	20	19	20,7
5	17	19	20		5	16,5	16,5	19		5	20	18,8	20,7
6	17	18,5	20		6	16,5	16,5	18,5		6	20	18,7	20,5
7	17	18,5	20		7	16,5	16,5	18		7	20	18,5	20,4
Média	17,3	18,8	19,8		Média	16,7	16,8	18,7		Média	20,0	19,0	20,7
Desvio padrão	0,53	0,38	0,71		Desvio padrão	0,26	0,27	0,46		Desvio padrão	0,00	0,44	0,33

	Animal 4					**Animal 5**		
Momentos	Proximal	Médio	Distal		Momentos	Proximal	Médio	Distal
0	19	19	20		0	19,5	19	21
1	19,2	19,6	23		1	20	20	23
2	19,2	19,6	23		2	20	20	23
3	19	19,6	22,5		3	19,5	19,8	23
4	19	19,5	22,5		4	19,5	19,5	22,5
5	19	19,4	22,5		5	19,5	19,5	22,5
6	19	19,2	21		6	19,5	19,2	22,1
7	19	19	21		7	19,5	19	21,6
Média	19,1	19,4	21,9		Média	19,6	19,5	22,3
Desvio padrão	0,1	0,3	1,1		Desvio padrão	0,23	0,41	0,73

Em todos os animais observou-se pela perimetria e clinicamente no local o edema regional mais evidente na porção distal, com discreta presença na porção média do metacarpo.

4. Conclusões

A administração de 40 mL de levofloxacino 5% não causou efeitos sistêmicos adversos ou indesejáveis em cavalos saudáveis. O uso local da droga não resultou efeito trombogênico no vaso acessado ou na vasculatura. Houve aumento de volume regional no local do acesso venoso de baixa intensidade, com redução gradual após o procedimento, clinicamente sem relevância. O levofloxacino deve ser um medicamento a ser considerado para uso na perfusão

intravenosa regional a fim de ampliar a cobertura antimicrobiana no tratamento de infecções de membros distais em cavalos. São necessários mais estudos sobre o uso do levofloxacino na perfusão intravenosa regional em casos clínicos que demandem tal procedimento, bem como estabelecer a concentração do fármaco nos tecidos locais.

4.1 Declaração de ética

Nós, os autores do manuscrito 'Avaliação dos efeitos da perfusão intravenosa regional com levofloxacino em equinos', não temos conflito ético de publicação. Além disso, todos os procedimentos realizados em éguas neste projeto de pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da FMVZ – UNESP – Botucatu, protocolo 0185/2022.

4.2 Declaração de contribuição de autoria de crédito

ALA Rambo: Redação – revisão e edição, administração do projeto, metodologia, investigação, análise formal e curadoria de dados. **CA Hussni:** contribuiu na concepção e delineamento do estudo, supervisão, interpretação dos dados e revisão crítica. **H Cestari** e **HG Duarte:** contribuíram para aquisição de dados e procedimentos técnicos. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

4.3 Declaração de conflito de interesses

Nenhum dos autores possui quaisquer relações financeiras ou pessoais que possam influenciar ou distorcer indevidamente o conteúdo do artigo.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao apoio da Pró-reitoria da Pós-graduação (PROPG) da UNESP, Brasil (edital 23/2022).

6. Arquivos suplementares

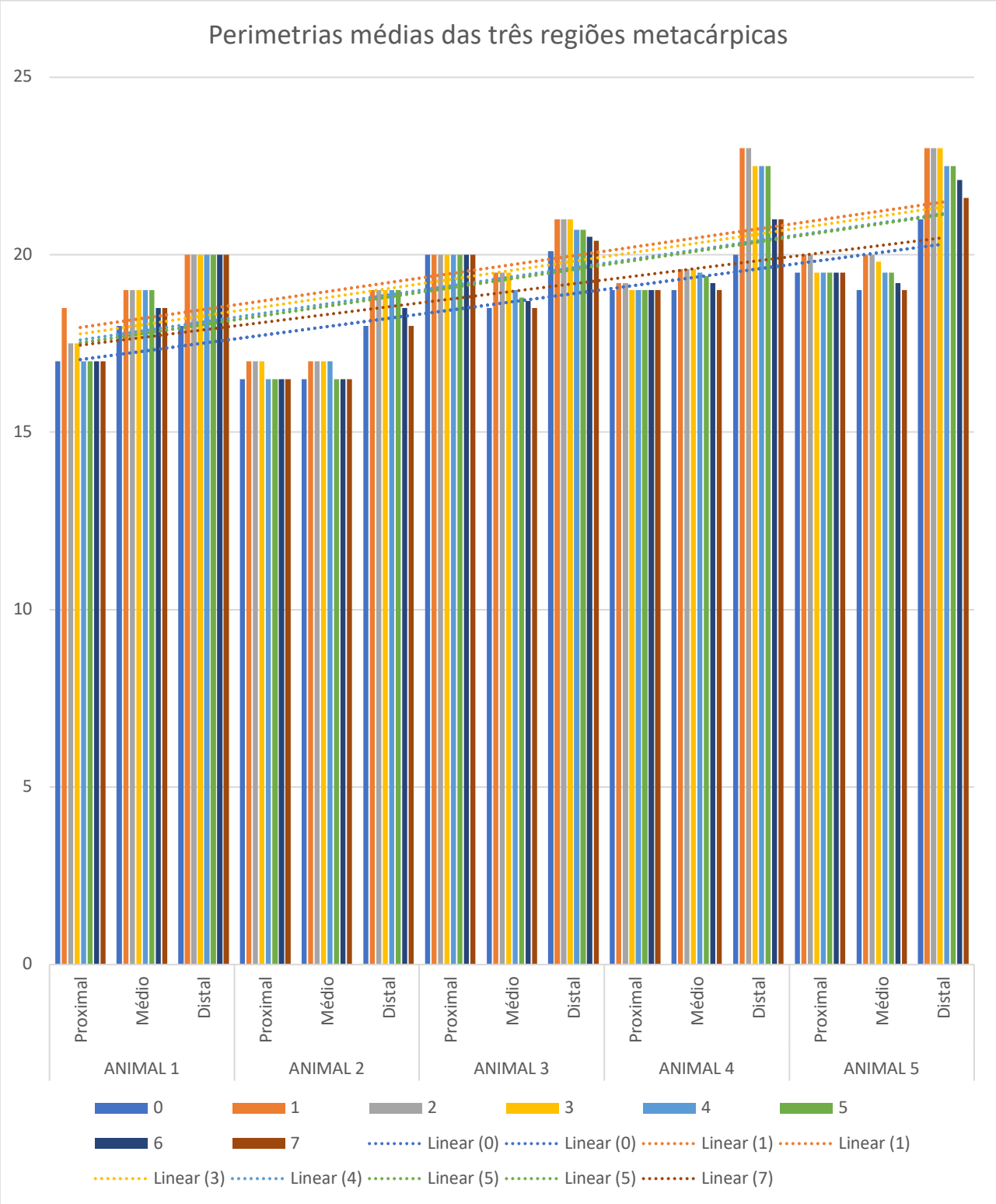


Figura 4- Gráfico com as médias de mensuração da perimetria nas regiões proximal, média e distal do metacarpo no membro torácico direito dos cinco animais avaliados.

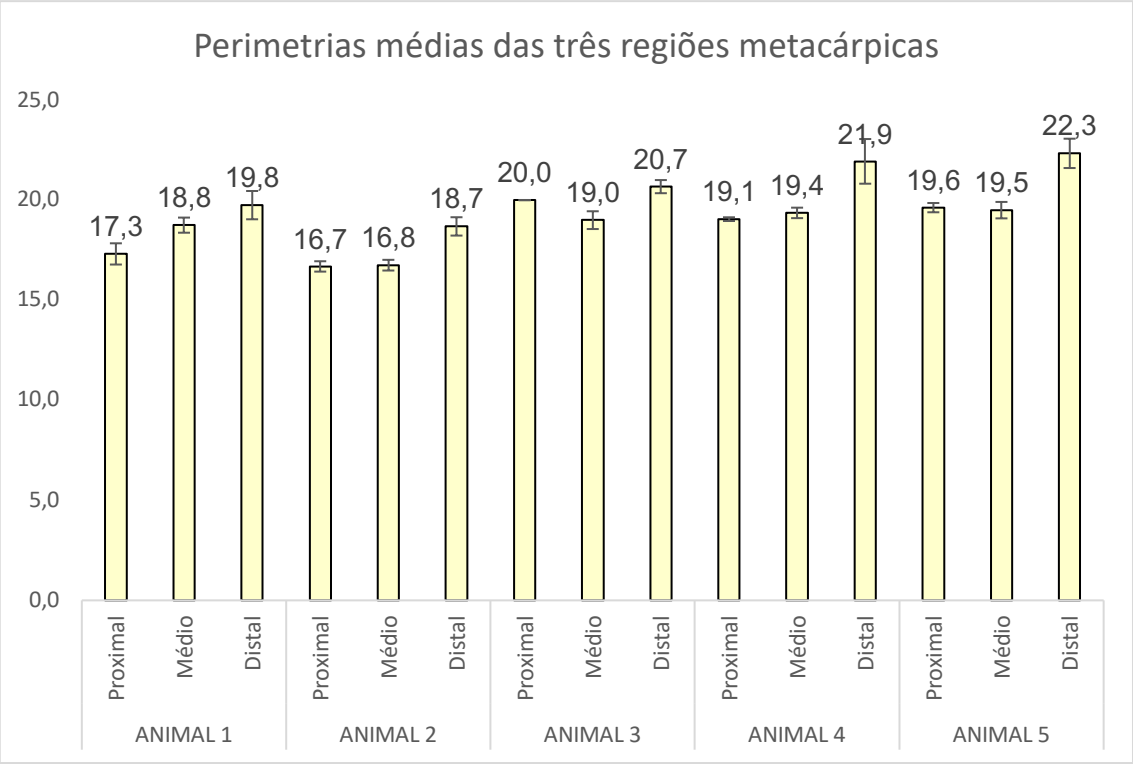


Figura 5- Gráfico com as médias de mensuração e desvio padrão da perimetria nas regiões proximal, média e distal do metacarpo no membro torácico direito dos cinco animais avaliados.

REFERÊNCIAS

Ahern, B.J.; Richardson, D.W. Surgical site infection and the use of antimicrobials. In: AUER, J.A.; STICK, J.A. **Equine surgery**, Philadelphia: WB Saunders, p.68-84, 2012.

Albarellos, G. A. et al. Pharmacokinetics of levofloxacin after single intravenous and repeat oral administration to cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n.4, p. 363–369, 2005.

Albricker, A. C. L. et al. Diretriz Conjunta sobre Tromboembolismo Venoso – 2022. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia,** 118(4), p. 797–857, 2022.

Alkabes, S.B. et al. Comparison of two tourniquets and determination of amikacin sulfate concentrations after metacarpophalangeal joint lavage performed simultaneously with intravenous regional limb perfusion in horses. **American Jounal of Veteterinary Research,** 72, p. 613-619, 2011.

Bellmann, R., Kuchling, G. Dehghanyar, P., Zeitlinger, M., Minar, E., Mayer, M. Müller, B. X., Joukhadar, C. Tissue pharmacokinetics of levofloxacin in human soft tissue infections. **British Journal of Clinical Pharmacoly,** 57, p. 563-568, 2004.

Biasutti, S. A., Cox, E., Jeffcott, L. B., Dart, A. J. A review of regional limb perfusion for distal limb infections in the horse. **Equine Veterinary Education.** doi:10.1111/eve.13243, 2020.

Brandão, G.M.S. **Trombose venosa profunda aguda: avaliação prospectiva o início do processo de recanalização das veias dos membros inferiores pelo mapeamento duplex em cores.** (Dissertação de Mestrado em Bases Gerais da Cirurgia) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

Butt, T.D. et al. Comparison of 2 techniques for regional antibiotic delivery to the equine forelimb: intraosseous perfusion vs. intravenous perfusion. **Canadian Veterinary Journal**. 42, p. 617-622, 2001.

Cimetti, L.J. et al. How to perform intravenous regional limb perfusion using amikacin and DMSO. In: 50 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. Denver: **International Veterinary Information Service**. p. 219-223, 2004.

Fiorello, C. V.; Beagley, J.; Citino, S. B. Antibiotic Intravenous Regional Perfusion for Successful Resolution of Distal Limb Infections: Two Cases**. American Association of Zoo Veterinarians,** v. 39, n. 3, p. 438-444, 2008.

Goudah, A. et al. Characterization of the pharmacokinetic disposition of levofloxacin in stallions after intravenous and intramuscular administration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 5, p. 399-405, 2008.

Goudah, A. Pharmacokinetics of levofloxacin in male camels (Camelus dromedarius). **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 32, n. 3, p. 296-299, 2009.

Harfoush, K., Guintard, C., Desfontis, J. C., Thorin, C., Douart, C., Mallem, M. Y., & Betti, E. Venous Valvular Distribution in the Thoracic and Pelvic Limbs of the Horse. **Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia**. 45(6), 409–417, 2015.

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. **Canadian Veterinary Journal** Apr;54(4), p.363-7, 2013.

Karande GY, Hedgire SS, Sanchez Y, Baliyan V, Mishra V, Ganguli S, Prabhakar AM. Advanced imaging in acute and chronic deep vein thrombosis. **Cardiovascular Diagnosis and Therapy.** Dec 6, p.493-507, 2016.

Kramer, J. Distal limb perfusion. In: WILSON, D.A.; KRAMER, J.; CONSTANTINESCU, G.M. et al. **Manual of Equine Field Surgery**. Philadelphia: Saunders. Cap.8, p.55-59, 2006.

Levine, D.G., Epstein, K.L., Ahern, B.J. and Richardson, D.W. Efficacy of three tourniquet types for intravenous antimicrobial regional limb perfusion in standing horses. **Veterinary Surgery***.* 39, p. 1021-1024, 2010.

Lugo, J., Gaughan, E.M. Septic arthritis, tenosynovitis, and infections of hoof structures. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.22, n.2, p.363-388, 2006.

Mahne AT, Rioja E, Marais HJ, et al. Clinical and pharmacokinetic effects of regional or general anaesthesia on intravenous regional limb perfusion with amikacin in horses. **Equine Veterinary Journal.** p. 375- 379, 2014.

Martins Teodoro, E. S., **Avaliação da farmacocinética do levofloxacino em equinos e do perfil antibacteriano para construção do regime posológico**. (Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 2021.

Martins, S., **Quinolonas em Química Medicinal**. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Do Algarve Faculdade De Ciências e Tecnologia, 2014.

Mendez-Ângulo, J.L, Granados, M.M., Modesto R., Serrano Rodriguez, J.M., Funes, F.J., Quiros, S. *et al.* Systemic and local effects of lidocaine or mepivacaine when used for intravenous regional anaesthesia of the distal limb in standing sedated horses. **Equine Veterinary Journal**, 52, p. 743-75, 2020.

Moser, D. K., Schoonover, M. J., Holbrook, T. C., & Payton, M. E. Effect of Regional Intravenous Limb Perfusate Volume on Synovial Fluid Concentration of

Amikacin and Local Venous Blood Pressure in the Horse. **Veterinary Surgery**, 45(7), p. 851–858, 2016.

Porter J.M., Moneta G.L. Reporting standards in venous disease: an update. International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. **Journal of Vascular Surgery**. Apr;21(4), p. 635-45, 1995.

Redding, L. E.; Elzer, E. J.; Ortved, K. F. Effects of regional limb perfusion technique on concentrations of antibiotic achieved at the target site: A meta-analysis. **PLoS ONE,** v. 17, n. 4 April, p. 1–17, 2022.

Rodrigues, K.A., Rafael, L.A, Alvarez, L.E.C., Rodrigues, M., Merenda, V.R., Bernardino, P.N., Modesto, R.R., Rodrigues, C.A. **Farmacocinética da gentamicina administrada pela via intravenosaregional em equinos com a utilização de dois modelos de torniquetes.** 90f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,Botucatu, 2014.

Rubio-Martínez L.M., Elmas C.R., Black B., Monteith G. Clinical use of antimicrobial regional limb perfusion in horses: 174 cases (1999–2009). **Journal of the Amarian Veterinary Medical Association.** 12, p. 1650, 2012.

Santschi, E.M. et al. How to perform equine intravenous digital perfusion. In: **44 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**. Baltimore. p. 124-127, 1998.

Schade, J. Curti, J. M., Gonçalves, G.R., Silva, T.P., Appolonio, E.V.P. Perfusão regional do membro com antimicrobianos em equinos / Regional limb perfusion with antimicrobials in horses. **Revista de Ciências Agroveteriárias.** 18(2), p. 281-291, 2019.

Sitovs, A.; Sartini, I.; Giorgi, M. Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review. **Research in Veterinary Science**. Vol. 137, July, p.111-126, 2021.

Stashak TS. Examination for lameness. **In Adams' Lameness in Horses**, 5th ed. TS Stashak, ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p. 113–183, 2002.

Whitehair, K. J, Adams, S. B, Parker, J.E. et al. Regional limb perfusion with antibiotics in three horses. **Veterinary Surgery.** V. 21, p. 2826- 292, 1992.