

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Farmacocinética da cefuroxima após regime de dose múltipla para
antibioticoprofilaxia de pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com
circulação extracorpórea**

RUBIA FABIANA PÖRSCH

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Dra. Silvia R.C.J. Santos

São Paulo
2010

RUBIA FABIANA PÖRSCH

**Farmacocinética da cefuroxima após regime de dose múltipla para
antibioticoprofilaxia de pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com
circulação extracorpórea**

Comissão Julgadora
da
dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Silvia Regina Cavani Jorge Santos
Orientador/presidente

Profa. Dra.
Avaliador

Profa. Dra.
Avaliador

São Paulo, _____ de _____ de 2010.

*“Só existem dois dias no ano em que nada pode ser feito.
Um se chama ontem e o outro se chama amanhã,
portanto, hoje é o dia certo para amar,
acreditar, fazer e principalmente viver.”*

Dalai Lama

DEDICATÓRIA

Ao meu querido filho Carlo, que mesmo tão pequenino
compreendeu a ausência materna
e transformou pequenos instantes em momentos
mágicos através de seu sorriso sincero e amoroso.

Aos meus pais, Celso e Arlete, meus irmãos
Fabíola e Tiago, meus avós Anselmo e
Erica, pela oração, força, dedicação e
amor a mim direcionados em todos
os momentos de minha vida.

A Alessandro, meu esposo e Leandro,
meu irmão de coração, e aos meus
sogros pelo auxílio no
desenvolvimento
deste projeto.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e graças concedidas.

À Professora Sílvia Regina Cavani Jorge Santos,
por proporcionar a realização deste sonho,
por seus conselhos e ensinamentos e por
ser exemplo de comprometimento,
dedicação e amor à vida acadêmica.

Ao apoio das Empresas Prati-Donaduzzi e
Biocinese para realização deste
projeto de qualificação profissional.

À Pós-graduação da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas pela oportunidade de realizar o
Mestrado, em especial a Beth, Jorge e Elaine.

Aos meus queridos amigos, especialmente
à Cárin, que torceram por mim durante
a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	9
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	14
LISTA DE SÍMBOLOS	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Uso Terapêutico das Cefalosporinas	21
2.2 Cefuroxima: Características Químicas e Farmacocinética	22
2.3 Cirurgia Cardíaca de Revascularização do Miocárdio com CEC	24
2.4 Farmacoterapia na CEC	27
2.5 Antibioticoprofilaxia com Cefuroxima na CEC	28
2.6 Metodologia analítica	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo Principal	31
3.2 Objetivos Secundários	31
Capítulo I. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFUROXIMA EM PLASMA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	32
1 OBJETIVO	32
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Materiais, Padrões de Referência, Soluções e Reagentes	33
2.1.1 Padrões de Referência	33
2.1.2 Soluções	34
2.2 Procedimento de Extração	35
2.3 Análise Cromatográfica	36
2.4 Validação de Método Analítico	38
2.4.1 Especificidade	38
2.4.2 Limite de Detecção e Limite Quantificação	39
2.4.3 Estudos de Recuperação	40

2.4.3.1 Recuperação Absoluta.....	40
2.4.3.2 Recuperação Relativa	41
2.4.4 Exatidão e Erro Sistemático	41
2.4.5 Precisão Intra e Interdias.....	42
2.4.6 Estabilidade	42
2.4.7 Robustez	43
3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
4 RESULTADOS.....	46
4.1 Validação de Método Analítico.....	46
4.1.1 Especificidade	46
4.1.1.1 Perfil Cromatográfico.....	46
4.1.2 Limites de Confiança	48
5 DISCUSSÃO	53
5.1 Validação de Método Analítico.....	53
6 CONCLUSÃO	57
Capítulo II. FARMACOCINÉTICA DA CEFUROXIMA APÓS REGIME DE DOSES MÚLTIPLAS PARA ANTIBIOTICOPROFILAXIA DAS INFECÇÕES CIRÚRGICAS CARDÍACAS.....	58
1 OBJETIVO	58
2 MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1 Etapa Clínica.....	59
2.1.1 Considerações Éticas	59
2.1.2 Critérios de Inclusão.....	59
2.1.3 Critérios de Exclusão.....	60
2.2 Casuística	60
2.3 Desenho do Protocolo Clínico	61
2.4 Procedimento Cirúrgico.....	62
2.4.1 Período Pré-operatório	62
2.4.2 Período Intra-operatório	63
2.4.3 Período Pós-operatório.....	65
2.5 Modelagem Farmacocinética	66
2.6 Etapa Estatística.....	67
3 RESULTADOS.....	69
3.1 Casuística	69

3.1.1 População Estudada	69
3.2 Análise Farmacocinética	70
4 DISCUSSÃO	74
5 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

ANEXOS

Anexo 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Anexo 2. Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa Clínica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química da cefuroxima.....	23
Figura 2. Ilustração do procedimento de revascularização do miocárdio com CEC e funcionamento biológico normal.....	25
Figura 3. Fluxograma do procedimento de extração para quantificação de cefuroxima plasmática através de CLAE-UV.....	37
Figura 4. Determinação da cefuroxima plasmática através de CLAE-UV. Perfil cromatográfico de plasma branco (adicionado de solução padrão de cefuroxima: 4,3 min e padrão interno guaifenesina: 7,6 min).....	47
Figura 5. Perfil cromatográfico do limite de quantificação para cefuroxima plasmática através de CLAE-UV.....	47
Figura 6. Linearidade do método de determinação plasmática da cefuroxima em plasma através de CLAE-UV. Faixa de concentração da cefuroxima no plasma 0,2-200 µg/mL <i>versus</i> razão da área cefuroxima/guaifenesina.....	48
Figura 7. Curva de calibração diária da cefuroxima em plasma através de CLAE-UV. Faixa de concentração de cefuroxima 0,2 a 200 µg/MI.....	49
Figura 8. Modelagem farmacocinética, curva de decaimento da concentração plasmática da cefuroxima <i>versus</i> tempo.....	66
Figura 9. Concentrações plasmáticas da cefuroxima no decurso do tempo. Dose de ataque (1,5 g IV bolus) seguida das doses de manutenção (0,75 g) IV bolus.....	70
Figura 10. Concentrações plasmáticas da cefuroxima no decurso do tempo. Dose	

de ataque (1,5 g IV bolus) seguida das doses de manutenção	
(0,75 g) IV bolus	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Quadro contendo os parâmetros farmacocinéticos descritos por Ritschel (1986).....	67
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Substâncias Químicas de Referência.....	33
Tabela 2 – Limites de confiança do método de determinação de cefuroxima em Plasma	50
Tabela 3 – Precisão e exatidão intradia na determinação de cefuroxima no plasma.....	51
Tabela 4 – Precisão e exatidão interdía na determinação de cefuroxima no plasma.....	51
Tabela 5 – Ciclos de congelamento/descongelamento para cefuroxima em Plasma	52
Tabela 6 – Estabilidade de curta e longa duração do padrão interno na solução de adição de cefuroxima em plasma determinado por CLAE-UV.....	52
Tabela 7– Dados antropométricos dos pacientes do grupo CEC e grupo controle...	69
Tabela 8– Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de ataque de 1,5g IV bolus	71
Tabela 9– Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 2 de 750 mg.....	72
Tabela 10–Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 3 de 750 mg.....	72
Tabela 11– Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 4 de 750 mg.....	72

Tabela 12– Disposição cinética da cefuroxima nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca de revascularização do miocárdio com CEC (estudo) *versus* Grupo Controle para dose ataque 1,5 g Cefuroxima73

Tabela 13– Disposição cinética da cefuroxima nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca de revascularização do miocárdio com CEC (estudo) *versus* Grupo Controle para dose 3 de manutenção; 0,750 de Cefuroxima73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviaturas	Descrição das abreviaturas e siglas
ASC0-t	Área sobre a curva 0-t
CCIH	Comissão de controle de infecção hospitalar
CEC	Circulação Extra corpórea
CLAE-UV	Cromatografia líquida de Alta Eficiência – Ultra Violeta
Cm	Centímetro
CG	Cromatografia gasosa
Cp	Concentração plasmática
CQ	Controle de qualidade
CQA	Controle de qualidade alto
CQM	Controle de qualidade médio
CQB	Controle de qualidade baixo
CV %	Coeficiente de variação
DP	Desvio padrão
FV	Fator de variação
IC	Intervalo de confiança
ID	Identificação
IV	Intra-venoso
L	Litros
LD	Limite de detecção
LIQ	Limite inferior de quantificação
Log	Logarítimo
LSQ	Limite superior de quantificação
Kel	Constante de eliminação
M	Molar
mg	Miligramas
MIC	Concentração inibitória mínima
Min	Minutos

mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
PA	Pressão arterial
PI	Padrão interno
SNC	Sistema Nervoso Central
SP	Solução padrão
SPI	Solução padrão interno
ST	Solução de trabalho
STCQA	Solução de trabalho de controle de qualidade alta
STCQM	Solução de trabalho de controle de qualidade média
STCQB	Solução de trabalho de controle de qualidade baixa
($T_{1/2}$)	Tempo de meia vida biológica
v/v	Volume por volume

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição do símbolo
β	Beta
$\lambda_{\text{deteção}}$	Comprimento de onda de deteção
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
μg	Micrograma
μL	Microlitro
τ	Tau

RESUMO

PÖRSCH, R. F. **Farmacocinética da cefuroxima após regime de dose múltipla para antibioticoprofilaxia de pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea.** 2010. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010; contato: rubia_porsch@yahoo.com.br

Este estudo teve como objetivo desenvolver e validar micrométodo simples e sensível para quantificação de cefuroxima plasmática utilizando CLAE-UV com a finalidade de aplicação no monitoramento das concentrações de cefuroxima de pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio (RM) com CEC no esquema de doses administradas em *bolus*. Os tempos de retenção para o fármaco e padrão interno (guaifenesina) foram 5,3 e 8,7 minutos respectivamente, com um tempo de corrida de 15 minutos, utilizando coluna de fase reversa C18 (25 cmX4,6 mm, 5 micra) e fase móvel binária constituída de tampão acetato de amônio e trietilamina 0,025 M pH 4,2 e acetonitrila (80:20, v/v), fluxo de 1,0 mL/min, detecção no ultravioleta, $\lambda=274\text{nm}$ em sistema isocrático de eluição. A validação deste método analítico investigada através dos limites de confiança apresentou sensibilidade de 0,1 $\mu\text{g/mL}$ (LD) e limite inferior de quantificação (LIQ) de 0,20 $\mu\text{g/mL}$, linearidade na faixa compreendida 0,2 $\mu\text{g/mL}$ a 200 $\mu\text{g/mL}$ e 4,37% e 2,95% para precisão intra- e inter-dias, respectivamente. Boa exatidão (98,75%) e alta seletividade foram registradas para o método. Através de um protocolo de estudo para antibioticoprofilaxia das infecções cirúrgicas investigaram-se dez pacientes com indicação de cirurgia eletiva de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea. Realizou-se o monitoramento das concentrações plasmáticas após a dose de ataque de 1,5 g, seguido da manutenção realizada através de *bolus* em tres doses de 0,75 g 6/6 horas. Uma vez que as concentrações plasmáticas de cefuroxima obtidas na sexta hora (vale) foram inferiores à recomendada 16 $\mu\text{g/mL}$ (4x MIC), recomenda-se o aumento de 0,75 g 6/6 horas para 1,5 g mantendo-se o intervalo entre doses de forma a atingir aquela requerida na antibioticoprofilaxia das cirurgias cardíacas.

Palavras-chaves: Cefuroxima, CLAE-UV, farmacocinética, antibioticoprofilaxia, cirurgia cardíaca.

ABSTRACT

PÖRSCH, R. F. **Pharmacokinetics of cefuroxime after multiple dosing regimen of antibiotic prophylaxis for patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass** 2010. 82 f. Dissertation (Master) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010; contact:rubia_porsch@yahoo.com.br.

The objective of the study was to validate an analytical method to determine cefuroxime in plasma by high performance liquid chromatography (HPLC - UV) for clinical purposes in surgical patients submitted to elective cardiac surgery of myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass after drug administration as IV boluses. Retention times for the analyte and its internal standard (guaifenesin) were 5.3 and 8.7 minutes, respectively; run time was 15 minutes, using a reversed phase column C18 (250X4.6 mm, 5 micron) and a binary mobile phase of ammonium acetate/triethylamine 0.025 M pH 4.2 and acetonitrile (80:20, v/v), flow rate 1 mL/min, ultraviolet detector, $\lambda=274\text{nm}$ isocratic elution system. Validation of confidence limits presented 0.1 $\mu\text{g/mL}$ sensitivity (LD) and lower limit of quantification (LLOQ) of 0.20 $\mu\text{g/mL}$, linearity in the range 0.2 $\mu\text{g/mL}$ to 200 $\mu\text{g/mL}$ and 4.37% e 2.95% for intra- / interday precisions, respectively. Good accuracy (98.75%) and high selectivity were obtained. The study protocol for antibiotic prophylaxis of surgical infections was designed for ten patients with indication of elective cardiac surgery of myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass. Loading dose of 1.5 g followed by maintenance dose of 0.75 g every six hours by IV boluses were applied and plasma drug monitoring was done. Based on data obtained cefuroxime plasma concentrations at time dose interval were lower than 16 $\mu\text{g/mL}$ (4x MIC) at the trough, consequently it is recommended to increase the maintenance dose from 0.75 g 6/6 h up to 1.5 g 6/6h, to reach the minimum required for the antibiotic prophylaxis of cardiac surgeries.

Key words: Cefuroxime, HPLC-UV, pharmacokinetics, antibiotic prophylaxis, cardiac surgery.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos com a finalidade profilática em cirurgias teve seu primeiro estudo realizado em 1969, onde pesquisadores demonstraram que a profilaxia antibiótica pré-operatória em pacientes submetidos a cirurgias intestinais reduzia as infecções na ferida cirúrgica e a incidência de sepse se comparadas aos pacientes que receberam a dose de antibiótico somente no período pós-operatório (POLK, 1969). Estudos retrospectivos determinaram que para a efetividade da antibioticoprofilaxia a concentração do antibiótico no sangue e tecidos deve estar acima da concentração inibitória mínima (MIC) no momento da incisão cirúrgica. Dessa forma, a literatura reporta que a administração dos antibióticos com finalidade profilática deve ser realizada em torno de 30 minutos a uma hora antes da incisão cirúrgica para garantir os níveis plasmáticos adequados do fármaco no sangue e tecidos (BRATZLER et al., 2004).

As cefalosporinas têm sido o antibiótico de escolha para a profilaxia cardíaca durante décadas, especialmente as de segunda geração por apresentarem melhores resultados no pós operatório de feridas cirúrgicas e também por oferecerem cobertura de amplo espectro contra bactérias gram positivas e gram negativas, boa penetração tecidual, bom perfil de segurança com efeitos colaterais mínimos por serem bem toleradas por pacientes alérgicos a penicilina (INKSTER, 2009).

Em procedimentos cirúrgicos com circulação extracorpórea (CEC), cefuroxima, uma cefalosporina de segunda geração, tem sido utilizado para a profilaxia de diferentes esquemas de administração, que vão desde uma dose total de 3-6 g em 24 ou 48 horas, com intervalos de administração diferentes, e muitas

vezes associado a uma dose extra de 750 mg no pós operatório tardio (PASS et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2004). Nascimento et al, 2004, estudaram a farmacocinética do antibiótico em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio com CEC e observaram elevadas concentrações plasmáticas, que decaíram rapidamente a níveis circulantes inferiores a 16 µg/mL (4x o MIC, nível bactericida adequado) à partir da sexta hora de injeção. Esta característica mostrou-se inadequada para a profilaxia antibiótica uma vez que níveis plasmáticos da cefuroxima abaixo do MIC podem ser um fator de risco para o desenvolvimento de infecções nosocomiais e para o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes á cefuroxima e outros antimicrobianos β-lactâmicos (TRICK et al., 2000). Devido aos resultados insatisfatórios obtidos por Nascimento et al. (2004); surgiu a necessidade de estudar uma alternativa viável para a garantia da antibioticoprofilaxia com um regime de dose inicial de 1,5 g no início da cirurgia seguido de doses de 750 mg em intervalos de 6 horas durante os períodos intra, pré e pós operatório imediato, objeto deste estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uso Terapêutico das Cefalosporinas

O uso profilático de antibióticos em intervenções cirúrgicas é amplamente empregado para diminuir o risco de infecções no período pós-operatório (KRIARAS et al., 1997). A escolha do agente antimicrobiano mais adequado considera, entre outros fatores, a recuperação do paciente e os custos hospitalares do tratamento (VUORISALO et al., 1998).

Infecções em um processo cirúrgico podem ocorrer em um prazo de trinta dias ou até após um ano se ocorrer colocação de um implante no local. A infecção é classificada como superficial, quando se limita a pele ou tecido subcutâneo e profunda se envolver músculo, osso, implante e outros tecidos. A fonte mais comum de infecção é a endógena peri-incisional ocasionada pela flora do paciente. Para minimizar o risco de uma infecção de sítio cirúrgico, são utilizados antibióticos profiláticos que devem abranger os patógenos mais comuns, mas não necessariamente todos os microorganismos com potencial de contaminação (BRATZLER et al., 2005; INKSTER, 2009; LEVISON et al., 2009).

As cefalosporinas representam um marco decisivo na contribuição ao arsenal terapêutico dos agentes antimicrobianos. Em 1953, pesquisadores da Universidade de Oxford isolaram a cefalosporina C, antibiótico ativo que apresentava um núcleo β -lactâmico (GARZONE et al., 1983) tendo como mecanismo de ação a inibição da síntese de peptidoglicano - peptídio essencial para a formação da parede celular

das bactérias (MANDELL; PETRY, 1996).

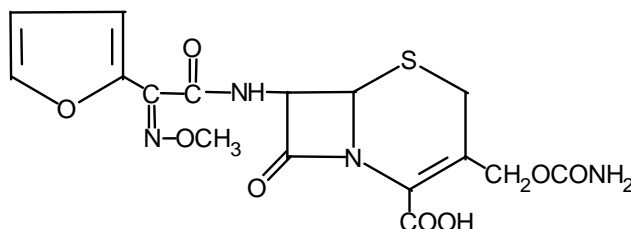
Esta classe de antibióticos têm várias vantagens sobre outros medicamentos. Elas oferecem uma cobertura de amplo espectro destinada tanto a microorganismos gram-positivos e gram-negativos, com boa penetração tecidual, tendo um bom perfil de segurança com efeitos colaterais mínimos, sendo bem toleradas por pacientes alérgicos à penicilina (INKSTER, 2009; MCINTOSH et al., 2009).

Conforme a atividade antimicrobiana e as propriedades farmacocinéticas cefalosporinas foram então classificadas em derivados de primeira, segunda, terceira e quarta gerações. A cefazolina, cefalotina, cefapirina, cefacetila, cefalexima, cefradina e cefadroxil são cefalosporinas de primeira geração, com grande aplicação na terapia profilática antimicrobiana. Contudo o aumento da prevalência de bacilos gram-negativos resistentes às cefalosporinas de primeira geração tem incentivado a investigação das cefalosporinas de segunda geração como a cefuroxima, cefamandol, ceforanida, cefoxitina e ceflacor (WELLENS et al., 1995).

2.2 Cefuroxima: Características Químicas e Farmacocinética

A Cefuroxima é uma cefalosporina de segunda geração que apresenta duas cadeias laterais ligadas ao núcleo 7-aminocefalosporínico, sendo uma das cadeias constituída pela combinação de um grupamento furil e um grupo oxima substituído. O outro grupamento constitui-se num éster carbamato, induzindo a um aumento da atividade antimicrobiana, quando comparada às cefalosporinas de primeira geração.

(Figura 1) Estas modificações químicas propiciaram um aumento na atividade antibacteriana e estabilidade contra as β -lactamases produzidas contra as cefalosporinas de primeira geração (TARTAGLIONE; POLK, 1985).



PM: 424.39 ,C₁₆H₁₆N₄O₈ , pKa: 2.5

Figura 1. Estrutura química da cefuroxima

A concentração inibitória mínima (MIC₉₀) deste antimicrobiano está em torno de 4 μ g/mL para a maioria das bactérias sensíveis. Entretanto, dependendo da espécie e da cepa bacteriana, podem ser necessárias concentrações superiores a 16 μ g/mL para que se obter a eficácia clínica (PERRY; BROGDEN, 1996).

Seu efeito bactericida ocorre com concentrações 4 a 8 vezes acima da concentração inibitória mínima. Entretanto a atividade deste fármaco não está relacionada a concentrações plasmáticas extremamente elevadas; o fator mais importante para sua ação contra a maioria das bactérias é o período de tempo que sua concentração permanece acima do MIC (JACOBS, 2001; PASS et al., 2001).

Em concentrações terapêuticas, a cefuroxima é ativa contra *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e outros streptococos (com exceção do grupo D). A sensibilidade bacteriana à cefuroxima inclui ainda enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella sp* e *Shigela sp*) e *Staphylococcus aureus*

(cepas metilina-sensíveis) (DELLAMONICA, 1994).

A cefuroxima possui baixa lipossolubilidade no meio fisiológico, sendo eliminada principalmente pela urina. Sua meia vida biológica é de aproximadamente 1,7 h em pacientes cirúrgicos com função renal normal (EMMERSON et al., 1988).

Após administração IV *bolus* de 750 mg, a literatura refere que a cefuroxima alcança níveis plasmáticos bactericidas que se mantêm por aproximadamente 4 horas. A probenecida conhecido inibidor da secreção tubular atua competitivamente com a cefuroxima reduzindo a excreção renal deste último e mantendo conseqüentemente as concentrações plasmáticas do antibiótico, prolongando de 4 para 6 horas o período bactericida (GARTON et al., 1997). Prevê-se, portanto, um prolongamento da meia-vida biológica da cefuroxima nos pacientes crônicos portadores de nefropatias ou ainda naqueles evoluindo para falência renal aguda (KONISHI et al., 1993).

A taxa de ligação do fármaco às proteínas plasmáticas, considerada baixa, é de 30 a 50% indicando que pacientes em diálise devem receber doses suplementares da cefuroxima, visando reposição do antimicrobiano dialisado e manutenção da eficácia da terapia antimicrobiana (EMMERSON et al., 1988).

2.3 Cirurgia Cardíaca de Revascularização do Miocárdio com CEC

Atualmente, as disfunções cardíacas constituem um problema de alta prevalência no mundo. Cerca de um milhão de pacientes com insuficiência coronariana são submetidos anualmente à cirurgia, com circulação extracorpórea

(CEC) que são procedimentos de rotina indispensáveis na revascularização do miocárdio. Tal procedimento tem por finalidade prover oxigênio e manter o fluxo sanguíneo contínuo para todos os tecidos durante a cirurgia cardíaca, uma vez que o coração tem as funções interrompidas. A manutenção da perfusão sistêmica com oxigenação e eliminação do dióxido de carbono durante o período em que o coração e pulmão estão incapacitados de exercer suas funções (Figura 2) facilita a execução da operação, preservando a homeostase sistêmica e reduzindo complicações que possam comprometer o sucesso da cirurgia cardíaca (PEREIRA et al., 2003; BUYLAERT et al., 1989; GUGLIELMO et al., 1989; GOUCKE et al., 1982; HOLLEY, 1982).

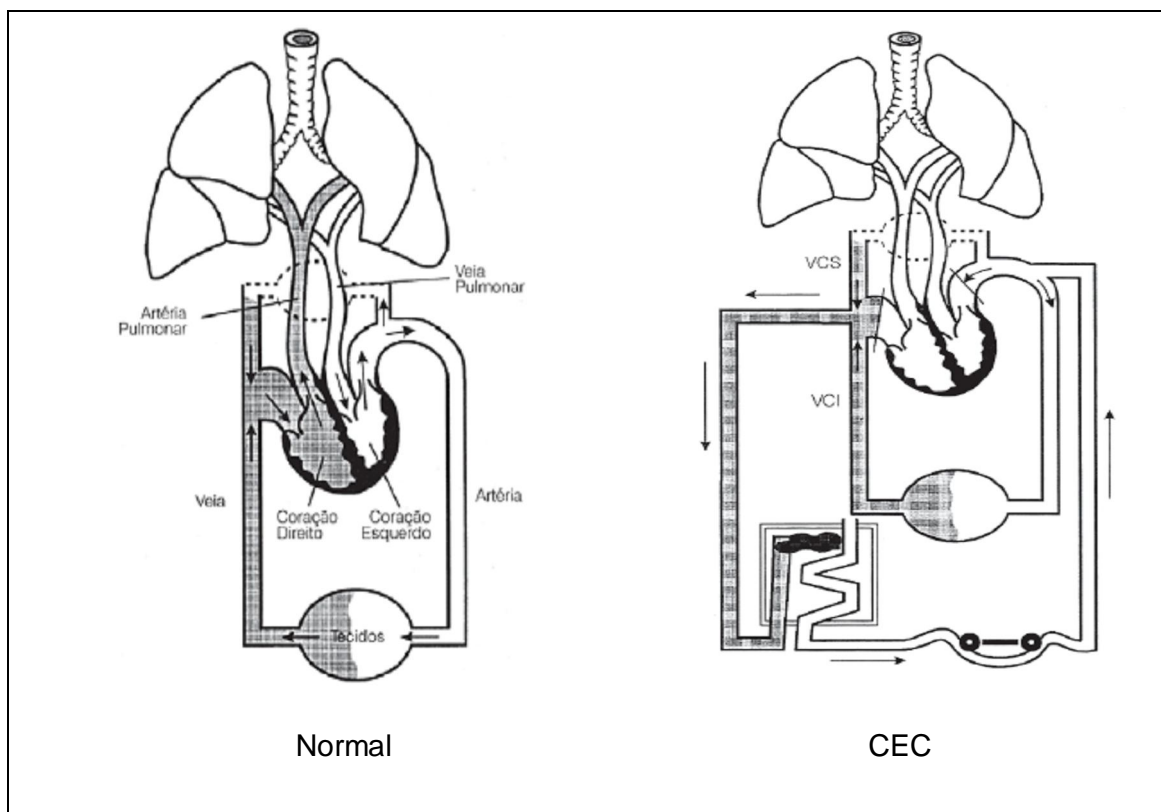


Figura 2. Ilustração do procedimento de revascularização do miocárdio com CEC e funcionamento biológico normal

A CEC ocasiona uma alteração cinética dos fármacos no organismo, uma vez

que no período intra-operatório da cirurgia cardíaca com CEC ocorrem perda de sangue e alta mobilização de líquidos com conseqüências hemodinâmicas relevantes somadas a hipotermia moderada e hemodiluição. No pós-operatório descreveu-se redução da perfusão dos órgãos em aproximadamente 30% acompanhada por diminuição proporcional do fluxo de sangue hepático. Dessa forma é evidente que ocorrem alterações na biotransformação dos fármacos de alta extração que afeta a disposição cinética para aqueles fluxo-sanguíneo dependentes. A hipotermia, a distribuição e a biotransformação estão alteradas o que ocasiona a diminuição do volume de distribuição na depuração. (PEREIRA et al., 2003; BUYLAERT et al., 1989; GOUCKE et al., 1982).

Adicionalmente a hemodiluição ocorre de maneira abrupta em primeiro momento levando a redução da viscosidade sanguínea e proporcional a queda na resistência vascular sistêmica e diminuição da fração de fármaco ligado as proteínas plasmáticas e um aumento aparente do volume de distribuição. Posteriormente com a instalação da CEC, as concentrações de proteínas plasmáticas sofrem uma diminuição em cerca de 40 a 50 % (CARMONA et al., 2005).

A hipotermia, por sua vez, leva a diminuição das depurações renal e hepática com conseqüente diminuição na eliminação geral dos fármacos. Além dos fatores já mencionados pode-se observar a hemólise;, respostas do organismo ao fluxo não pulsátil como aumento de pressão arterial, metabolismo anaeróbico e circulação capilar; mudanças hormonais na concentração de eletrólitos (HOLLEY et al., 1982).

Consequentemente verifica-se uma série de fatores associados a CEC contribuem para o aumento das concentrações plasmáticas dos fármacos o que pode ser em parte balanceado pela hemodiluição e pela hipotermia (BUYLAERT et al., 1989; HOLLEY et al., 1982).

O reaquecimento ao térmico na CEC restaura o fluxo sanguíneo e a atividade enzimática. Conforme a pressão arterial e a frequência cardíaca aumentam, a perfusão tecidual também se eleva e parâmetros como a depuração plasmática dos fármacos, bem como o volume de distribuição também se alteram. De acordo com estas alterações hemodinâmicas nestas condições a resposta do miocárdio se altera em função da farmacocinética na terapia medicamentosa (HOLLEY et al., 1982).

2.4 Farmacoterapia na CEC

Os pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC são atendidos por uma farmacoterapia envolvendo a co-administração de número superior a 20 medicamentos nos períodos pré, intra e pós operatório, levando a um aumento potencial no número de interações. Os principais medicamentos utilizados cronicamente pelos pacientes são a digoxina, diuréticos, beta-bloqueadores, antihipertensivos e nitratos. No início do procedimento cirúrgico como medida profilática são administradas doses intravenosas de antibióticos, em seguida com finalidade analgésica e anestésica utilizam-se narcóticos, anticolinérgicos e hipnosedativos. Antes da instalação da CEC altas doses de heparina são administradas e para regular a pressão arterial e a resistência vascular após instalação da CEC utiliza-se nitroprussiato (vasodilatador) e fenilefrina (vasopressor). Após o término da CEC os efeitos da heparina são revertidos com protamina. Fármacos inotrópicos como a dopamina e vasodilatadores como nitroprussiato, bem como, agentes antiarrítmicos podem ser necessários para promover a estabilização

hemodinâmica.

2.5 Antibioticoprofilaxia com Cefuroxima na CEC

A revascularização do miocárdio com CEC com hipotermia compreendem 50 à 60% dos casos de cirurgia cardíaca, sendo considerada uma das principais responsáveis pelo aumento dos índices de mortalidade destes pacientes (MASTORAKI et al.,2007)

Infecções após cirurgias ocorrem rotineiramente em pacientes hospitalizados. Dentre os patógenos que causam este tipo de infecção, o *Staphylococcus aureus* é o mais freqüente, ocorrendo entre 12 e 36,4% dos casos (JAKOB, 2000). Complicações como esta são comuns em cirurgias cardíacas com CEC, e estão associadas a um aumento da morbidade bem como da mortalidade dos pacientes, podendo chegar a 14% (TRICK et al., 2000; EL OAKLEY, 1998). Além disso, estas infecções levam a um prolongado período de hospitalização e, conseqüentemente, um maior custo, que pode chegar a três vezes o valor normal do tratamento (LOOP, 1990).

O uso profilático da cefuroxima em pacientes portadores de cardiopatias graves, coronarianos e valvares com indicação de cirurgia eletiva no Instituto do Coração (InCor) do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) foi instituído desde 1992 pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar(CCIH), que vem somando esforços no sentido de otimizar a antibioticoprofilaxia, reduzindo os riscos de infecção, rápido restabelecimento do paciente no pós-operatório e alta hospitalar precoce. Com base nos resultados

reportados por Nascimento et al. (2004), sobre a farmacocinética deste agente a ausência de acúmulo do antimicrobiano, a CCIH recomendou a alteração do regime posológico de forma a garantir o acúmulo requerido para o sucesso da antibioticoprofilaxia; subseqüentemente registrou-se redução expressiva na incidência das infecções das feridas operatórias (6,9% para 5,4%).

Nascimento et al., 2005, reportou que 6g de cefuroxima administrada nas 24 horas de transoperatório de cirurgia cardíaca de revascularização com CEC-H se mostraram inadequadas ($\sim 4\mu\text{g/ml}$ em torno da 9^o hora e $\sim 1\mu\text{g/ml}$ na 12^o h da administração) à antibioticoprofilaxia no regime posológico de quatro doses de 1,5 g de cefuroxima, administrada sob forma de bolus: dose 1 no pré-operatório, dose 2 no intra-operatório) e no pós-operatório, dose 3 na 12^a hora e dose 4 na 24^a hora. A concentração plasmática do fármaco, inferior ao recomendado, pode ser um fator de risco para o paciente no período pós-operatório imediato e responsável pelo aumento das infecções hospitalares (TRICK et al., 2000).

2.6 Metodologia analítica

A determinação do teor de cefuroxima em formulações farmacêuticas utiliza métodos físico-químicos como a fluorimetria (MURILLO et al., 1994), a calorimetria (SALEM e ASKAL, 2002) e a espectrofotometria (absorção atômica, absorção no visível (MAHMOUD et al., 2009; AMIN e RAGABB, 2004; AYAD et al., 1999; OKOYE et al., 2007) além da eletroforese capilar (SCIACCHITANO et al., 1994; PAJCHEL & TYSKI, 2000), e da cromatografia líquida de alta eficiência (COOMBER et al., 1982;

ZIVANOVIC et al., 2004; RODENBACH et al., 2006).

Por outro lado, para a determinação da cefuroxima sódica em fluidos biológicos reportam-se métodos físico-químicos como a cromatografia líquida de alta eficiência (BOMPADRE et al., 1998; CASABÓ et al., 2003; NILSSON-EHL, 1978; EL-GINDY et al., 2000; HEKSTER et al., 1980) e a e os métodos microbiológicos (BUNDTZEN et al., 1981; EL-SOUD et al., 2000; O'CALLAGHAN et al., 1976; HEKSTER et al., 1980; SCHMIDT et al., 2009). Nascimento et al., 2005, desenvolveu método para quantificação de cefuroxima em fluidos biológicos utilizando a precipitação de proteínas com acetonitrila e quantificação pela cromatografia líquida de alta eficiência, empregando a vancomicina como padrão interno e monitorando os picos em 280 nm. Um método por espectrometria de massa (LC-MS/MS) foi desenvolvido e validado para a determinação e investigação farmacocinética da cefuroxima no plasma humano utilizando extração por fase sólida (PARTANI et al., 2010).

Apesar da grande evolução tecnológica e o desenvolvimento de novos equipamentos grande maioria dos estudos para quantificação de fármacos em matrizes biológicas ainda utiliza a CLAE devido a sua alta seletividade e sensibilidade. A CLAE caracteriza-se por empregar fase móvel líquida e pode ser classificada em quatro tipos básicos: cromatografia líquido-líquido ou de partição, cromatografia líquido-sólido ou de adsorção, cromatografia de troca iônica e cromatografia de exclusão (PORTA e KANO, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Principal

Investigar a farmacocinética da cefuroxima após regime de doses múltiplas para antibioticoprofilaxia das infecções cirúrgicas cardíacas.

3.2 Objetivos Secundários

- Desenvolver e validar método bioanalítico para quantificação de cefuroxima em plasma humano através de cromatografia líquida e alta eficiência (CLAE).
- Realizar o monitoramento das concentrações de cefuroxima em plasma de pacientes para avaliação da farmacocinética desse antimicrobiano administrado após regime de dose múltipla no transoperatório de cirurgia cardíaca para antibioticoprofilaxia das infecções cirúrgicas.

Capítulo I. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFUROXIMA EM PLASMA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

1 OBJETIVO

Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para quantificação de cefuroxima em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência CLAE-UV.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais, Padrões de Referência, Soluções e Reagentes

Para o desenvolvimento deste estudo utilizaram-se solventes e reagentes de grau cromatográfico e boa procedência nos procedimentos de extração e análise.

A água utilizada na forma pura e também para o preparo de soluções foi obtida por meio de sistema MILLI DI (MILLIPORE do Brasil, São Paulo, SP, Brasil).

Lavaram-se toda vidraria e materiais utilizados nos procedimentos pela imersão em água corrente e detergente líquido não iônico Extran Alcalino (Merck, MA, Alemanha), seguida de solução de ácido clorídrico 50% durante 2 horas, e posterior enxágüe com água corrente e água ultrapura.

2.1.1 Padrões de Referência

Os padrões de referência utilizados foram de alta pureza e qualidade, portanto oferecem resultados confiáveis. Possuem procedência identificável, bem como a origem, número do lote e pureza, descritos no certificado de análise. Estas informações encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Substâncias Químicas de Referência

Padrão	Finalidade	Origem	Lote	Pureza	Validade
Cefuroxima	Analito	Farmacopéia	1014	99,6%	Indeterminado
		Brasileira			
Guaifenesina	Padrão	Virchow	02020106	100,7%	12/2010
	interno	Laboratories			

2.1.2 Soluções

Para preparo da solução padrão de cefuroxima na concentração de 1000 µg/mL pesou-se 10,0 mg do fármaco em questão em balão volumétrico e completou-se o volume para 10 mL com água ultra-pura e acondicionou-se em frasco âmbar em temperatura de 4 a 8° C.

A partir da solução padrão de cefuroxima foram realizadas diluições em água ultra-pura obtendo-se as soluções de trabalho de cefuroxima em diferentes concentrações (1, 5, 25, 50, 250 e 500 µg/mL) e as soluções de trabalho de controle de qualidade baixa, média e alta. Estas soluções foram devidamente acondicionadas e armazenadas em temperatura de 4 a 8°C.

Como padrão interno utilizou-se a guaifenesina na concentração de 2000 µL. Preparou-se a solução de padrão interno de guaifenesina pesando 20,0 mg de guaifenesina em balão volumétrico de 10 mL e completando o volume para 10 mL utilizando metanol a 100%. Após o preparo transferiu-se a solução para frasco âmbar e armazenou-se á temperatura de 4 a 8°C.

Para o preparo da fase móvel em uma proveta, mediu-se 1000 mL de

acetona, transferiu-se para frasco âmbar e levou-se para o ultra-som por cinco minutos. A solução tampão de acetato de amônio 0,375 M foi preparada onde pesaram-se o equivalente a 2,89 g de acetato de amônio em béquer e diluíram-se em 50 mL de água ultra-pura. Em seguida a solução foi transferida para balão volumétrico, completou-se o volume e acondicionou-se em recipiente adequado. Para realização completa do procedimento, preparou-se solução tampão acetato de amônio 0,025 M: trietilamina 0,015 M por meio da adição em balão volumétrico de 500 mL de água ultra-pura e 66,6 mL de tampão acetato de amônio 0,375 M e 2,1 mL de trietilamina. Completou-se o volume para 1000 mL com água ultra-pura, ajustou-se o pH para 4,2 utilizando ácido orto-fosfórico 85%. Filtrou-se a solução em membrana hidrofílica 0,22 μm , Millipore tipo FH, com auxílio de bomba de vácuo desprezando os primeiros 10 mL do filtrado. Em seguida acondicionou-se a solução em frasco âmbar e submeteu-se ao ultra-som por 5 minutos.

2.2 Procedimento de Extração

Com a finalidade de agente precipitante, preparou-se solução de ácido perclórico 0,5 M, transferindo 10,73 mL desse ácido para balão volumétrico de 250 mL contendo 150 mL de água ultra-pura e completou-se o volume

Para a quantificação de cefuroxima em plasma foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no comprimento de onda de 274nm. Para extração das amostras de plasma contendo cefuroxima em tubo *Eppendorf* de 2 mL foram adicionados por meio de pipeta automática 400 μL de

plasma e acrescentados 50 μL de solução de padrão interno (guaifenesina 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Em seguida foram adicionados 400 μL de Ácido Perclórico 0,5 M e a mistura foi homogeneizada a *vortex* durante 5 minutos na velocidade 9, seguida de centrifugação por cinco minutos, a 14000 rotações por minuto (rpm) sob temperatura de 4 °C. 200 μL do sobrenadante foram transferidos para *insert vial* com pipeta automática e acondicionados na bandeja do auto-injetor do sistema CLAE-UV, de acordo com seqüência previamente determinada, injetando-se uma alíquota de 80 μL no sistema (fluxograma 1).

2.3 Análise Cromatográfica

As análises cromatográficas foram realizadas através de cromatografia líquida de alta eficiência, em cromatógrafo líquido Shimadzu, modelo Prominence, com detector UV SPD-10A (Shimadzu, Kyoto, Japão), utilizando coluna de fase reversa tipo C18, (25 cm x 4,6 mm x 5 micra, comprimento x diâmetro interno) Phenomenex, (California, Estados Unidos) modelo Gemini de. A fase móvel foi constituída de acetonitrila (80:20 v/v) e solução tampão acetato de amônio 0,025 M: trietilamina 0,015 M, sob vazão de 1mL/ min, em sistema isocrático de eluição. Os picos referentes ao composto de interesse foram monitorados no comprimento de onda de 274 nm com um tempo de corrida de 15 minutos. A integração dos picos foi feita utilizando registrador-integrador Chromatopac CR-6^a, Shimadzu (Kyoto, Japão) e a temperatura de trabalho foi de 18° C.

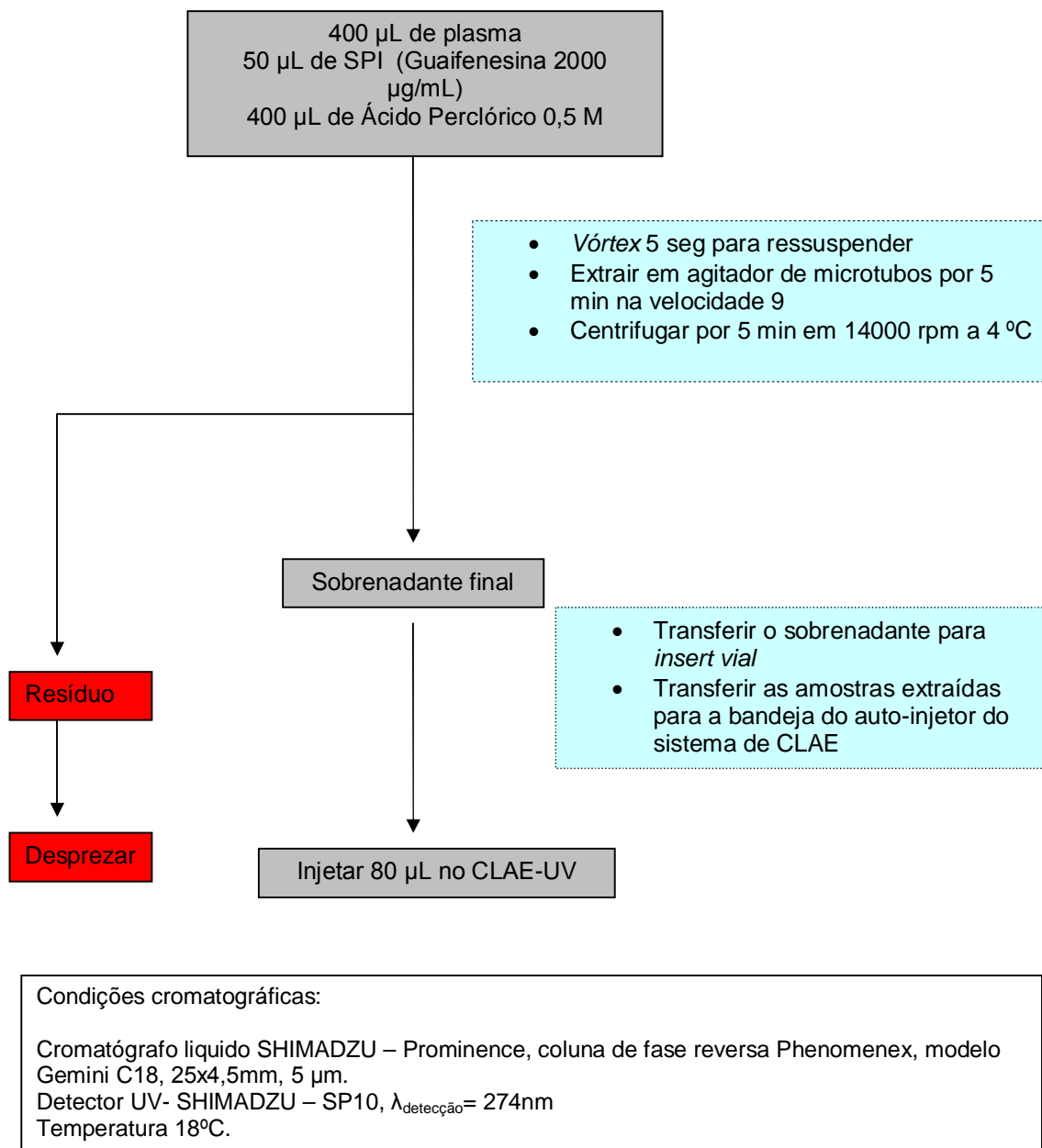


Figura 3. Fluxograma do procedimento de extração para quantificação de cefuroxime plasmática através de CLAE-UV

2.4 Validação de Método Analítico

A validação do método analítico para quantificação de cefuroxima em plasma através de CLAE foi realizada de acordo com critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, conforme Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003. Foram avaliados durante a validação de metodologia analítica: especificidade, limites de detecção e quantificação, linearidade, curva de calibração, recuperação absoluta, precisão intra e inter dias e exatidão intra e inter dias, estabilidade e robustez.

2.4.1 Especificidade

Analisou-se amostras de plasma obtidas de seis indivíduos, sendo quatro amostras normais, uma amostra lipêmica e uma amostra hemolisada seguindo procedimento proposto por este estudo, porém sem a adição de padrão interno. Para determinação da especificidade, processou-se uma amostra com a concentração do limite inferior de quantificação e os resultados foram comparados.

De acordo com a Agência Regulatória na resolução supracitada a resposta de picos interferentes no tempo de retenção do fármaco devem ser inferiores a 20% da resposta do limite de quantificação. Adicionalmente com relação aos picos interferentes no tempo de retenção do padrão interno considerou-se limite inferior a 5% da resposta na concentração utilizada no mesmo ensaio de qualificação do

analito.

2.4.2 Limite de Detecção e Limite Quantificação

O limite de quantificação corresponde a menor quantidade do analito de uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis ($\pm 20\%$) sob as condições experimentais estabelecidas, apresentando sinal relativo ao ruído da linha de base superior à razão 10:1. O limite de detecção é definido como um sinal relativo ao ruído na linha de base na razão 2:1, representa a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada porém não necessariamente quantificada (Anvisa, Resolução RE 899, de 23 de maio de 2003).

Os limites de detecção e quantificação foram determinados com base na precisão e exatidão pela análise de dez replicatas e comparadas à curva de calibração.

Após a corrida cromatográfica o valor nominal para cada concentração plasmática foi plotado em função da razão de área do pico obtido para a cefuroxima e seu padrão interno guaifenesina. Obtido o coeficiente de correlação $r^2=0,98$ e sua respectiva equação ($y=ax+b$). Considerou-se nove controles para a construção da curva de calibração diária: branco, 0,2; 1; 5; 10; 50; 100; 200 e 500 $\mu\text{g/mL}$. Os controles de qualidade internos 3; 425 e 850 $\mu\text{g/mL}$ foram preparados em triplicata e também analisados durante a corrida analítica para avaliação da mesma. O critério de aceitação de uma corrida analítica é determinado pela obtenção de ao menos 6 dos nove controles com desvio inferior a 15% comparado ao valor nominal dos

controles (Anvisa, Resolução RE 899, de 23 de maio de 2003).

2.4.3 Estudos de Recuperação

Os estudos de recuperação mensuram a eficiência dos procedimentos de extração de um método analítico dentro de um limite de variação aceitável. Porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100% são desejáveis, porém admite-se valores menores desde que a recuperação apresente precisão e exatidão dentro dos limites aceitáveis (Anvisa, Resolução RE 899, de 23 de maio de 2003). Neste estudo comparou-se os resultados analíticos obtidos de amostras extraídas a partir de três concentrações (2,4; 340 e 680 µg/mL) contemplando a faixa de linearidade do método com os resultados obtidos com soluções padrão não extraídas as quais representam 100% de recuperação.

2.4.3.1 Recuperação Absoluta

As recuperações absolutas do fármaco e em separado do padrão interno (guaifenesina) foram determinadas através da análise de três concentrações (2,4; 340 e 680 µg/mL) em dez replicatas. Posteriormente comparou-se os resultados das alíquotas extraídas (x%) *versus* não extraídas (100%) e os resultados foram expressos em porcentagem da área do pico para cefuroxima e guaifenesina.

2.4.3.2 Recuperação Relativa

A recuperação relativa foi determinada utilizando-se as concentrações adicionadas de padrão interno em dez replicatas expressas em razão da área (RA: pico da cefuroxima/padrão interno) após extração seguida da análise quantitativa. Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.4.4 Exatidão e Erro Sistemático

A exatidão do método analítico foi avaliada e expressa também através da determinação do erro sistemático do ensaio (porcentagem de inexatidão), estabelecendo-se como aceitáveis valores inferiores a 15%, exceto para o limite de quantificação para o qual se admitem desvios de até 20%.

A porcentagem de inexatidão corresponde ao desvio entre o valor nominal da concentração do fármaco na amostra e o valor obtido pelo método analítico e calculado através de três concentrações (2,4; 340 e 680 µg/mL) em triplicata na mesma corrida cromatográfica (exatidão intradia, totalizando nove ensaios) e em corridas distintas por três dias consecutivos (exatidão interdias, totalizando vinte e sete ensaios). O erro sistemático do ensaio foi determinado pela porcentagem da inexatidão.

2.4.5 Precisão Intra e Interdias

A reprodutibilidade do método analítico foi avaliada através de estudos de precisão intradias (mesma corrida cromatográfica) e estudos de precisão interdias (corridas cromatográficas distintas em dias consecutivos). A precisão intradia foi avaliada através da análise de 3 concentrações (0,6; 85 e 170 µg/mL) em triplicata totalizando nove ensaios. Já para a precisão interdias foram realizados vinte e sete ensaios em três dias consecutivos com as concentrações (0,6; 85 e 170 µg/mL).

A precisão foi expressa através do coeficiente de variação percentual (CV%), estabelecendo-se como aceitáveis valores inferiores a 15% para as concentrações de analito investigadas.

2.4.6 Estabilidade

Para determinação da estabilidade da cefuroxima em plasma foi adotado como critério de aceitação a variação inferior a 15% para todas as concentrações estudadas. O estudo de estabilidade foi composto das seguintes avaliações:

- Após três ciclos de descongelamento da cefuroxima em matrizes biológicas amostras de duas concentrações de 0,6 e 170 µg/mL foram analisadas em triplicata em três dias consecutivos para as avaliações dos ciclos um, dois e três de congelamento e descongelamento. As amostras foram congeladas a -20 °C e mantidas por 24 horas, sendo então

submetidas ao descongelamento em temperatura ambiente. Quando totalmente descongeladas, as amostras foram novamente congeladas por 24 horas e assim sucessivamente, até completar três ciclos. A quantificação das amostras foi realizada após o terceiro ciclo e os resultados comparados aos valores nominais.

- Condição analítica: foi determinada à partir de amostras extraídas em duas concentrações (0,6 e 170 $\mu\text{g/mL}$) e mantidas em repouso na bandeja do autoinjeter à temperatura ambiente por 18 horas, durante o tempo máximo ao qual a amostra pode permanecer sob a condição. A concentração obtida foi expressa em porcentagem do valor nominal.
- De curta duração da matriz biológica: amostras de três concentrações (170; 85 e 0,60 $\mu\text{g/mL}$) de cefuroxima foram analisadas em triplicata. Os controles permaneceram por seis horas em bancada à temperatura ambiente e ao final do período foram analisados pelo método descrito.
- De longa duração da matriz biológica: as amostras foram mantidas em congelador (-20°C) por período de 18 meses em controles de plasma de três concentrações diferentes (170; 85 e 0,60 $\mu\text{g/mL}$), garantindo a estabilidade no decorrer do estudo.

2.4.7 Robustez

A robustez do método foi avaliada através da utilização de diferentes colunas analíticas C18, da mesma marca e modelo, porém de distintos números de lote,

onde foram analisadas amostras de três concentrações (170; 85 e 0,60 $\mu\text{g/mL}$) e em replicata. A variação na composição do fluxo forneceu resultados que foram expressos em porcentagem em função do coeficiente de variação. Foi desconsiderada a influência da variação de temperatura, uma vez que a mesma é monitorada duas vezes ao dia, sendo mantida em $21 \pm 2^\circ\text{C}$.

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da validação do método analítico foram obtidos através do programa Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e expressos por meio da média, mediana, desvio padrão, erro padrão da média e intervalo de confiança IC 95%.

4 RESULTADOS

4.1 Validação de Método Analítico

4.1.1 Especificidade

Avaliou-se a especificidade do método analítico para determinação de cefuroxima em matrizes biológicas por meio de precipitação de proteínas seguida de quantificação no sistema cromatográfico através da injeção de plasma normal, lipêmico e a hemolisado em comparação com o limite inferior de quantificação. Não ocorreu interferência dos componentes endógenos eluídos da coluna cromatográfica na análise, nas condições propostas pelo estudo, uma vez que os picos dos componentes endógenos nos cromatogramas diferiram dos tempos de retenção da cefuroxima.

4.1.1.1 Perfil Cromatográfico

Os parâmetros estabelecidos no desenvolvimento do método para realização da análise cromatográfica foram a temperatura da coluna cromatográfica de 40°C, temperatura ambiente para o auto-injetor, fluxo de 1 ml/min, detecção em 274

nm, tempo requerido de corrida de 15 minutos e tempos de retenção para cefuroxima de 4,3 minutos e para seu padrão interno guaifenesina de 6,7 minutos.

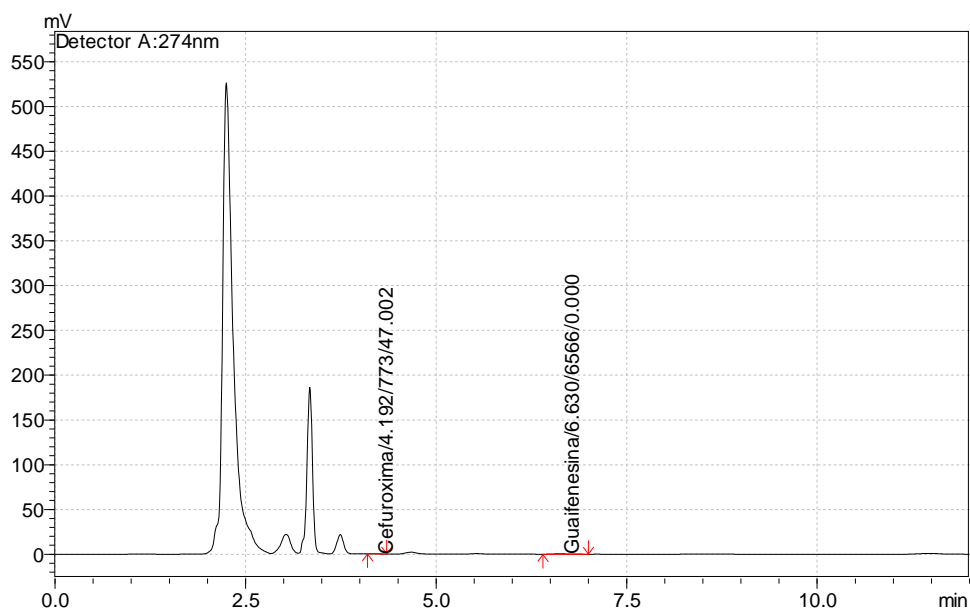


Figura 4. Determinação da cefuroxima plasmática através de CLAE-UV. Perfil cromatográfico de plasma branco (adicionado de solução padrão de cefuroxima: 4,3 min e padrão interno guaifenesina: 7,6 min)

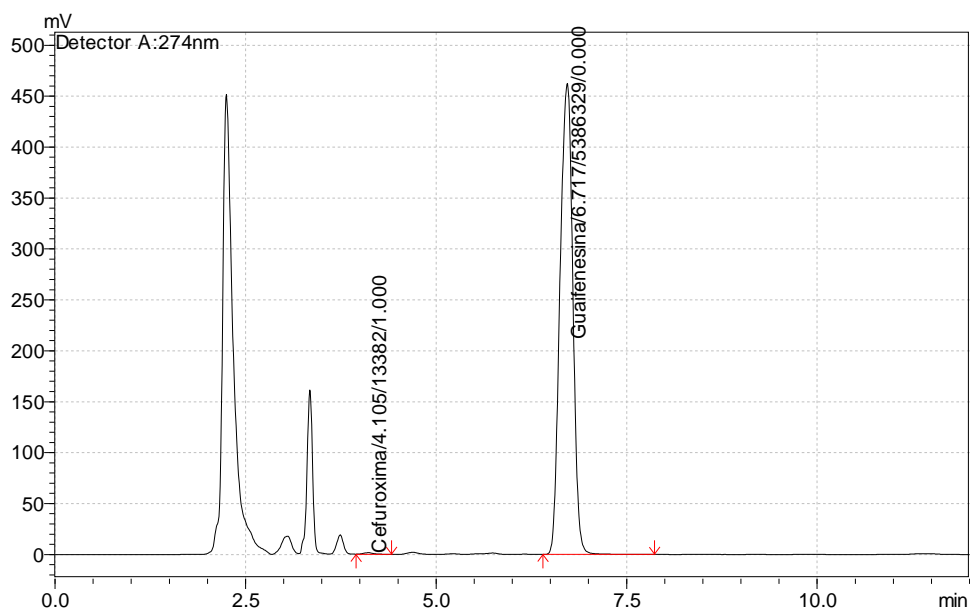


Figura 5. Perfil cromatográfico do limite de quantificação para cefuroxima plasmática através de CLAE-UV

4.1.2 Limites de Confiança

A linearidade do método analítico foi representada pela faixa da concentração compreendida entre 0,2 e 200 µg/mL, em que foi obtida correlação linear adequada $r^2 = 0,9969$ entre a resposta mensurada (Y, razão da área da cefuroxima e o padrão interno guaifenesina por meio de instrumento analítico) e a respectiva concentração plasmática da cefuroxima (X).

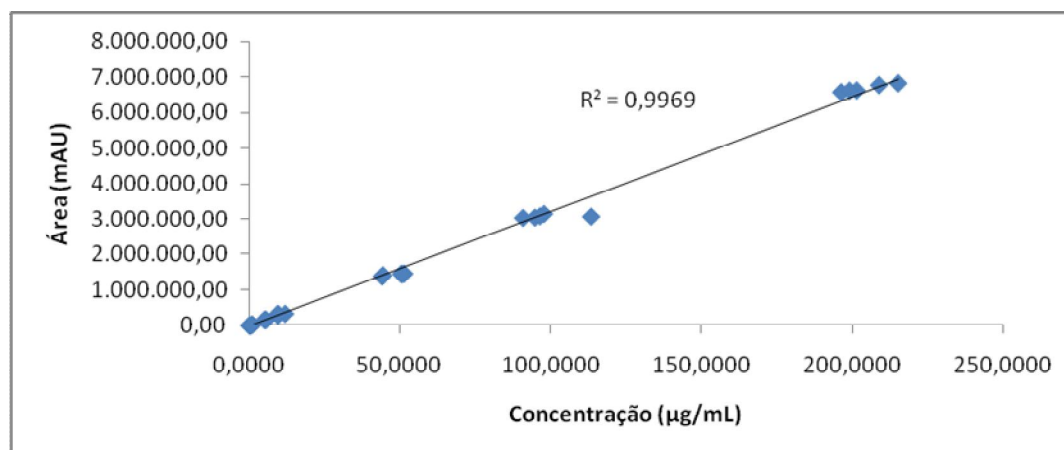


Figura 6. Linearidade do método de determinação plasmática da cefuroxima em plasma através de CLAE-UV. Faixa de concentração da cefuroxima no plasma 0,2-200 µg/mL *versus* razão da área cefuroxima/guaifenesina

A curva de calibração diária, conforme visualização da figura 6 evidenciou boa correlação linear na faixa de concentração 0,2 a 200 µg/mL para quantificação da cefuroxima plasmática. A curva foi aceita a partir de controles (baixo 0,6; médio 85 e alto 170 µg/mL) analisados em triplicata, sendo que os valores obtidos para inexatidão inferiores aos limites de aceitação exigidos.

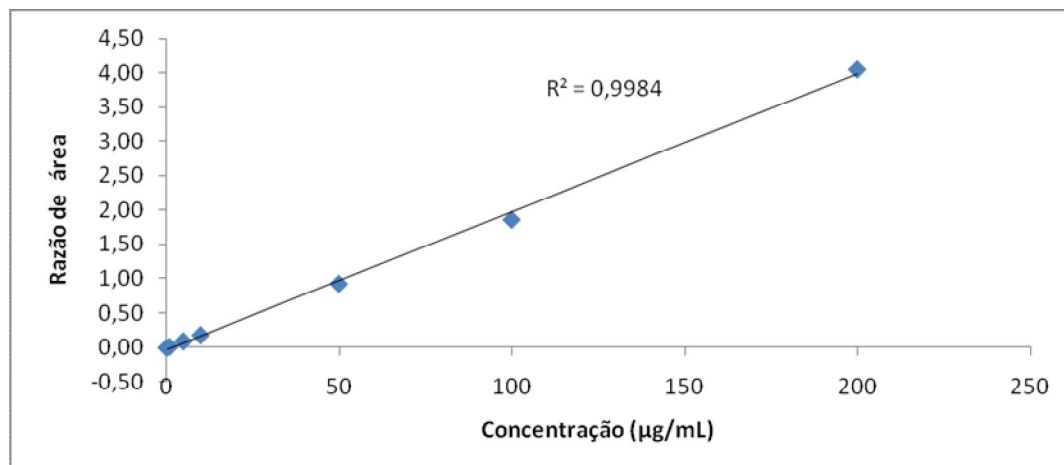


Figura 7. Curva de calibração diária da cefuroxima em plasma através de CLAE-UV. Faixa de concentração de cefuroxima 0,2 a 200 µg/mL

O método desenvolvido para quantificação de cefuroxima em plasma mostrou elevada sensibilidade (Limite de quantificação (LQ)= 0,2 µg/mL e limite de detecção (LD)=0,1 µg/mL), boa linearidade 0,2 a 200 µg/mL, além de recuperação e robustez aceitáveis conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Limites de confiança do método de determinação de cefuroxima em plasma

Parâmetros	Unidade	Resultados	Desvio padrão relativo (%)
Linearidade	µg/mL	0,20 - 200,0	-
Coefficiente de regressão linear (r²)	-	0,99	-
Limite de Detecção (n10)	µg/mL	0,1	9,7
Limite de Quantificação (n10)	µg/mL	0,2	6,6
Robustez			
Coluna 1			
Cefuroxima (0,6 µg/mL)	%	102,47	+/- 1,6
Cefuroxima (85 µg/mL)	%	104,30	+/- 5,2
Cefuroxima (170 µg/mL)	%	99,08	+/- 4,2
Coluna 2			
Cefuroxima (0,6 µg/mL)	%	99,30	+/- 1,6
Cefuroxima (85 µg/mL)	%	100,98	+/- 1,4
Cefuroxima (170 µg/mL)	%	170,20	+/- 3,1
170 µg/mL (fluxo \cong 0,2 mL, incremento)	µg/mL	169,05	6,2
Recuperação absoluta^a			
Guaifenesina (Pi)	%	102,22	+/- 2,3
Cefuroxima (2,4 µg/mL)	%	101,10	+/- 4,2
Cefuroxima (340 µg/mL)	%	104,09	+/- 3,3
Cefuroxima (680 µg/mL)	%	99,11	+/- 1,1
Recuperação relativa (Cefuroxima/Pi)^a			
Guaifenesina (Pi)	%	103,29	+/- 2,7
Cefuroxima (2,4 µg/mL)	%	102,10	+/- 3,2
Cefuroxima (340 µg/mL)	%	98,09	+/- 2,7
Cefuroxima (680 µg/mL)	%	103,31	+/- 4,1

Abreviaturas: Pi padrão interno guaifenesina

^aResultados expressos pela média de dez replicatas

Tabela 3 – Precisão e exatidão intradia na determinação de cefuroxima no plasma

Valor Nominal $\mu\text{m/mL}$	Valor obtido $\mu\text{m/mL}^a$	Precisão%	Exatidão%	Erro sistemático %
0,6 $\mu\text{m/mL}$	0,58	3,4	102,55	2,55
85 $\mu\text{m/mL}$	77,90	2,3	107,75	7,75
170 $\mu\text{m/mL}$	168,42	4,3	103,98	3,98

^a Resultados expressos através de médias de triplicatas.

Tabela 4 – Precisão e exatidão interdía na determinação de cefuroxima no plasma

Valor Nominal $\mu\text{m/mL}$	Valor obtido $\mu\text{m/mL}^a$	Precisão%	Exatidão%	Erro sistemático %
0,6 $\mu\text{m/mL}$	0,64	5,4	105,25	5,25
85 $\mu\text{m/mL}$	89,24	4,4	104,55	4,55
170 $\mu\text{m/mL}$	174,33	2,3	102,43	2,43

^a Resultados expressos através de médias de triplicatas.

Para os estudos de estabilidade da cefuroxima em plasma determinada através de CLAE–UV adotou-se critério de aceitação a variação inferior a 15% para as concentrações avaliadas (0,6 e 170 $\mu\text{m/mL}$). No estudo de estabilidade de curta duração (congelamento) verificou-se que a cefuroxima se manteve estável por no mínimo três ciclos de congelamento para as concentrações avaliadas em triplicata evidenciando exatidão e coeficiente de variação aceitáveis.

Tabela 5 – Ciclos de congelamento/descongelamento para cefuroxima em plasma

Ciclo de congelamento/ descongelamento	Concentração Nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração Obtida ($\mu\text{g/mL}$) ^a	% variação
1	0,60	0,56	- 6,70
2	0,60	0,56	- 6,70
3	0,60	0,54	- 10,00
1	170,00	158,30	- 6,90
2	170,00	162,80	- 4,24
3	170,00	155,20	- 8,70

^aResultados obtidos através da média das triplicatas.

Analisou-se ainda a estabilidade de curta duração para o padrão interno e da cefuroxima no plasma nas concentrações de 0,60 e 170 $\mu\text{g/mL}$, após as matrizes biológicas serem deixadas em bancada por seis horas e evidenciou-se exatidão aceitável. O tempo e condição da análise na estabilidade dos extratos na bandeja do auto-injetor também foram avaliados. A estabilidade de longa duração foi avaliada após armazenamento de controles de plasma contendo cefuroxima por 18 meses.

Tabela 6 – Estabilidade de curta e longa duração do padrão interno na solução de adição de cefuroxima em plasma determinado por CLAE-UV

Estabilidade	Concentração nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g/mL}$) ^a	Erro sistemático (%)
Curta duração/6 h	2000	2005,03	0,25
Média \pm DP (CV%)	0,6	0,57	-5,00
Guaifenesina	85	83,44	- 1,83
Cefuroxima	170	168,99	- 0,59
Tempo e condição da análise/18 h	0,6	0,59	- 0,70
Média \pm DP (CV%)	170	168,70	-0,76
Longa duração	0,6	0,58	- 3,35
18 meses	85	80,18	- 5,60
Média \pm DP (CV%)	170	161,12	- 5,20

DP:desvio padrão da média

^aResultados obtidos através da média das triplicatas.

5 DISCUSSÃO

5.1 Validação de Método Analítico

Métodos bioanalíticos para avaliação de fármacos em fluídos corporais são utilizados em indústrias farmacêuticas, universidades, laboratórios e organizações de investigação com a finalidade de determinação quantitativa de fármacos e seus metabólitos, monitorização terapêutica de medicamentos, avaliação de toxicologia clínica e pré-clínica e nas fases de desenvolvimento de drogas (HARTMANN et al.,1998)

O desenvolvimento de um método bioanalítico deve ser reduzido ao menor tempo possível, mas este, uma vez desenvolvido deve se robusto e confiável. Os métodos bioanalíticos muitas vezes são desenvolvidos com base em provas não estruturais e tentativa e erro, sabendo-se que a qualidade e o desempenho do método estão relacionadas a capacidades do pesquisador responsável pelo desenvolvimento (HENDRIKS, 2009).

No desenvolvimento de um método bioanalítico a capacidade do mesmo na determinação de todos os analitos, livre de interferências, com boa precisão e exatidão é muito importante, embora a principal dificuldade esteja relacionada a matriz altamente complexa onde residem os analitos como por exemplo: sangue, plasma ou soro, urina e fluido oral, liquor, pus ou saliva (HENDRIKS, 2009).

Uma grande variedade de métodos analíticos têm sido relatadas para a determinação de cefalosporinas em estado puro, em produtos farmacêuticos

preparações e em fluidos biológicos. Estes métodos incluem fluorometria, espectrofotometria, espectrofotometria de absorção atômica cromatografia líquida, cromatografia cinética eletro capilar, quimioluminescência, análise microbiológica e potenciometria (OMAR et al., 2009).

Com relação a procedimentos analíticos para a quantificação da cefuroxima em matrizes biológicas envolvendo técnicas cromatográficas a literatura reporta poucos métodos. Dois métodos utilizando CLAE-UV para determinação de cefuroxima em plasma, empregando extração líquido-líquido na purificação da matriz biológica foram descritos por Nilsson-Ehle & Nilsson-Ehle em 1978 e outro por Brisson & Fourtellan em 1981. Nesses procedimentos exigiu-se o tratamento do plasma com dimetilformamida previamente a CLAE-UV, ou a extração líquido-líquido do plasma com mistura de clorofórmio: pentanol 3:1, v/v, seguida de re-extração da fase orgânica com tampão fosfato 0,01 M pH 7,0 (BRISSEON e FOURTELLAN, 1981; NILSSON-EHLE e NILSSON-EHLE, 1978). De forma geral estes métodos se mostraram trabalhosos para a rotina laboratorial. Outros procedimentos de purificação da matriz biológica empregam, no preparo da amostra, a adição de agentes precipitantes das proteínas em substituição à extração líquido-líquido (AZIZ et al., 1978; BUNDTZEN et al., 1981; HOLT et al., 1990; KAUKONEN et al., 1995). A precipitação de proteínas plasmáticas pela adição de mistura de tampão acetato 0,2 M pH 5,2 e metanol (40:60, v/v) à matriz biológica foi reportada por Aziz et al. (1978); este método foi posteriormente modificado por Bundtzen em 1981. Nascimento et al. (2004) utilizou a acetonitrila na proporção de dois volumes para um de plasma, como agente precipitante de proteínas plasmáticas e o presente estudo utiliza ácido perclórico 0,5 M como agente precipitante apresentando agilidade no procedimento e baixo custo analítico.

Durante o desenvolvimento de metodologia analítica a coluna analítica e a fase móvel são fatores determinantes para resultados adequados. A literatura reporta a utilização de colunas de fase reversa μ -bondapack C18, 10 μ m (300x3,9 mm, diâmetro interno) e fase móvel constituída por mistura de metanol e ácidos fracos, tampões (pH 3,0-7,0) em diversas proporções nas décadas de 70 e 80 (BRISSON e FOURTELLAN, 1981; NILSSON-EHLE e NILSSON-EHLE, 1978). Com a evolução e o desenvolvimento de instrumentos analíticos, colunas de maior eficiência foram utilizadas por Kaukonen et al. (1995) que utilizou a coluna Spherisorb 5 ODS-2 (150 x4,6mm) e por Nascimento et al, 2004 que utilizou a coluna NovaPack C18, 4 μ m, (150x3,9 mm). No presente estudo utilizou-se a coluna analítica de fase reversa C18 Phenomenex Gemini 5 μ m (250 x 4,5mm). Nos métodos desenvolvidos por Kaukonen et al. (1995) e por Nascimento et al. (2004) a fase móvel foi preparada com tampão fosfato ou acetato de sódio e acetonitrila e no presente estudo melhores resultados foram obtidos pela substituição do tampão acetato de sódio /ácido acético 0,375M pH 5,0 pelo tampão acetato de amônio / trietilamina 0,025M pH 4,2; entretanto a proporção do tampão e acetonitrila foram mantidas na fase móvel.

Os resultados da validação de metodologia analítica do método analítico para determinação de cefuroxima descrito neste estudo (Tabela 2) apresentaram-se satisfatórios uma vez que no estudo da linearidade foram contempladas concentrações de 0,2 a 200 μ g/mL e obteve-se coeficiente de correlação linear 0,9969; semelhante ao apresentado por Nascimento et al. (2004) que foi de 0,9985 e ao de Stewart et al. (1994) que foi de 0,9963 para uma faixa de linearidade de 0,75 a 120 μ g/mL. Os limites de detecção de 0,1 μ g/mL e de quantificação de 0,2 μ g/mL também foram considerados adequados para o trabalho proposto. Quanto ao estudo

de estabilidade da cefuroxima a literatura reporta a realização do mesmo em diferentes condições. De acordo com Dwight et al. (1998) a cefuroxima permanece estável em solução de dextrose 5% e cloreto de sódio 0,9% durante 48 horas. Wang et al (1994), relata a estabilidade da cefuroxima acima de 90%, durante 1,3 dias em ensaios utilizando tampões com variações de pH de 4 a 7 considerando a temperatura ambiente. No trabalho em questão foram realizados estudos de estabilidade de curta duração (ciclo gelo/degelo), tempo e condição da análise e longa duração que contemplou o armazenamento das amostras controle por período de 18 meses e todos os resultados apresentaram variação inferior a 15% (Tabela 6) conforme preconizado pela Agência regulatória. A alta recuperação da cefuroxima (Tabela 2), garantiu a obtenção de resultado confiável pela utilização do método desenvolvido se comparado à Nascimento et al. (2004); recuperação 99%.

6 CONCLUSÃO

O método bioanalítico para quantificação de cefuroxima em plasma se mostrou robusto e apresentou ótima linearidade, sensibilidade, precisão e exatidão, recuperação absoluta e relativa, bem como estabilidade adequada para as soluções padrão do analito e do padrão interno e controles de cefuroxima em plasma avaliados nos estudos de estabilidade de curta duração após 3 ciclos de congelamento, tempo e condição de análise e estabilidade de longa duração de armazenamento em congelador -20° C por período de 18 meses. Desta forma considera-se que o método bioanalítico proposto seja satisfatório para a quantificação de cefuroxima plasmática para a profilaxia das infecções cirúrgicas.

Capítulo II. FARMACOCINÉTICA DA CEFUROXIMA APÓS REGIME DE DOSES MÚLTIPLAS PARA ANTIBIOTICOPROFILAXIA DAS INFECÇÕES CIRÚRGICAS CARDÍACAS

1 OBJETIVO

Realização do monitoramento da cefuroxima após regime de doses múltiplas em cirurgias cardíacas com e sem CEC para verificação do regime de doses da antibioticoprofilaxia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Etapa Clínica

2.1.1 Considerações Éticas

O protocolo de pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

2.1.2 Critérios de Inclusão

Antes de serem incluídos no estudo os pacientes forneceram o consentimento informado por escrito (Anexo 1) após receberem todas as informações referentes ao estudo.

- Pacientes entre 30 e 75 anos.
- Sem histórico de cirurgia cardíaca e de abuso de álcool ou drogas.
- Não obesos (Índice de Massa Corpórea até 30 Kg/m^2 , dado pela razão entre o peso (Kg) e o quadrado da altura (m^2)).
- Portador de função renal, hepática e endócrina dentro dos limites de

normalidade.

- Sorologia negativa para vírus HIV, e hepatite B (antígeno HbS) e C da hepatite.

2.1.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes que não se enquadraram no item anterior.

2.2 Casuística

Selecionaram-se e foram incluídos no estudo 20 pacientes adultos, de ambos os sexos portadores de coronariopatias, angina instável com indicação à cirurgia cardíaca eletiva de revascularização do miocárdio. Dez pacientes selecionados foram submetidos à cirurgia cardíaca com CEC (grupo I) e outros dez pacientes sem CEC (grupo II/controlado). No presente estudo a cefuroxima foi administrada através de dose de ataque 1,5g intravenosa *bolus* seguido de 3 doses de 0,75g a cada 6 horas.

Todos os pacientes participantes do estudo eram portadores de função hepática, renal e endócrina dentro dos limites da normalidade. Foram excluídos os pacientes com histórico de cirurgia cardíaca, portadores de depressão respiratória,

miastenia e colite ulcerativa, distúrbios gastrointestinais, diabetes, com evolução para insuficiência renal ou hepática e com sensibilidade ao fármaco.

Dados antropométricos, demográficos e cirúrgicos de cada paciente, incluindo idade, sexo, idade, peso, altura e o IMC foram registrados.

2.3 Desenho do Protocolo Clínico

Um regime posológico para a cefuroxima, recentemente recomendado pela Comissão de Infecção do Instituto do Coração HCFMUSP, foi objeto do presente estudo. Neste, a cefuroxima foi administrada através da dose ataque de 1,5g intravenosa ("bolus") após indução anestésica, seguido de manutenção de três doses de 0,75g a cada 6 horas.

Foram realizadas coletas de 5 mL de sangue dos pacientes antes do início do tratamento e nos períodos subseqüentes: 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,5; 2; 2,25; 2,5; 3 e 6 horas da injeção em *bolus* após o ataque. Em seguida realizou-se as coletas após cada dose de manutenção nos períodos 0,02; 1; 3 e 6 horas. Após a coleta, o tubo contendo o sangue foi centrifugado a 3000 rpm durante 20 minutos, o plasma separado e armazenado em congelador (-20°C) na unidade Clínica. Todos os procedimentos de coleta foram realizados com supervisão de um participante do protocolo de pesquisa, que foi o responsável pelo processamento inicial das amostras. Quando do termino das coletas de todos os pacientes, os plasmas congelados foram transportados do InCor para a Faculdade De Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Departamento de Farmácia/

Laboratório de Farmacologia Terapêutica para a realização das etapas analítica e estatística.

2.4 Procedimento Cirúrgico

2.4.1 Período Pré-operatório

Os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial conforme rotina pré-operatória estabelecida e em vigor no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os exames realizados incluíram: eletrocardiograma, radiografia de tórax (ântero-posterior e perfil), cinecoronarioangiografia com ventriculografia, hemograma completo, coagulograma, dosagens séricas de uréia, creatinina, bilirrubina total e frações, proteína total e frações, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (γ GT), sódio e potássio. Os pacientes foram submetidos à cinecoronariografia com antecedência mínima de uma semana antes da cirurgia, para que não ocorra interferência do contraste sobre a função renal.

Como medicação pré anestésica os pacientes receberam bromazepan ou midazolam na dose de 0,1 a 0,2 mg.Kg⁻¹ por via oral 30 minutos antes da cirurgia.

2.4.2 Período Intra-operatório

Os pacientes foram recepcionados no centro cirúrgico, onde, inicialmente, receberam monitorização constituída pela cardioscopia contínua e saturação arterial de oxigênio periférica. Posteriormente foram submetidos aos seguintes procedimentos: instalação de venóclise periférica e cateterização de artéria radial para monitorização da pressão arterial invasiva (PA) e, a seguir, foi realizada a indução anestésica com sufentanil na dose de $0,50 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ e etomidato na dose de $0,1$ a $0,2 \text{ mg.Kg}^{-1}$. Administrou-se então a cefuroxima $1,5 \text{ g}$ intravenosa *bolus*. A manutenção anestésica foi feita com sufentanil por infusão contínua associada a isoflurano por via inalatória na concentração de $0,4$ a $0,5\%$ para manutenção da hipnose. O relaxamento muscular foi mantido por meio do brometo de pancurônio e todos os pacientes receberam 25 mg de difenidramina, 50 mg de ranitidina e 1 g de metilprednisolona após a indução da anestesia geral.

Após intubação orotraqueal, conectou-se o capnógrafo ($E_T\text{CO}_2$) e iniciou-se ventilação controlada, fornecendo volume corrente de 6 a 8 ml/Kg e fração inspirada de oxigênio (FiO_2) de 60% . Em seqüência, instalou-se teletermômetro em nasofaringe e sonda nasogástrica. Paralelamente, colocou-se cateter venoso central, utilizando-se a veia subclávia direita como via de acesso, na maioria das vezes, e, a seguir, monitorou-se a pressão venosa arterial.

Após posicionamento em decúbito dorsal horizontal, com os braços ao longo do corpo, efetuou-se sondagem vesical e colocação de coxins sob o tórax de forma a manter o esterno em posição horizontal. Em seqüência, assepsiou-se com clorexedina o tórax, regiões inguinais e abdominal, além dos membros inferiores.

Realizou-se mediastinotomia através da esternotomia mediana longitudinal, após colocação dos campos cirúrgicos.

Em seguida foi realizada a dissecação da(s) artéria(s) mamária(s) interna(s) e dissecação do pericárdio longitudinalmente na sua porção anterior, com afastamento lateral das pleuras. Exposição do coração e, simultaneamente, dissecação da veia safena magna de um dos membros inferiores a partir da perna em direção à coxa e/ou da artéria radial de um dos membros superiores.

Antes de se iniciar a circulação extracorpórea, procedeu-se à anticoagulação com heparina, dose de 4 mg/Kg, injetada no átrio direito, fazendo-se controle pelo tempo de coagulação ativado (TCA).

Instalou-se circulação extracorpórea utilizando oxigenador de membranas, diluição total com solução de Ringer e hipotermia moderada (28°C a 30°C em média). A drenagem venosa efetua-se por uma ou duas cânulas colocadas em átrio direito e veias cavas. Para o retorno arterial coloca-se cânula em raiz da aorta.

A revascularização do miocárdio foi efetivada com as anastomoses mamário-coronárias, geralmente término-laterais. Nos casos, em que se utiliza enxerto de veia safena ou de artéria radial, as anastomoses são realizadas proximalmente entre a aorta e a veia safena ou artéria-radial (término-terminal) e distalmente entre a safena (ou radial) e a artéria coronária (término-lateral).

Durante o ato cirúrgico, as técnicas de proteção miocárdica consistem em pinçamento intermitente da aorta ou infusão cardioplégica nas coronárias, pela raiz da aorta.

Após revisão da hemostasia, realizou-se drenagem do mediastino anterior com dreno tubular multiperfurados de silicone e das pleuras, quando abertas, com drenos tubulares multiperfurados de PVC, sendo a drenagem sob selo d'água.

Finalmente, colocação de fio de marca-passo epicárdico, fechamento de tórax e membro(s) inferior(es) e superior por planos e colocação de curativos.

2.4.3 Período Pós-operatório

Na Unidade de Recuperação Cardíaca, os pacientes intubados foram mantidos, inicialmente, sob ventilação controlada mecânica (VCM) em respirador ciclado a volume. Geralmente, após duas a quatro horas, mudou-se a modalidade de ventilação para ventilação mecânica sincronizada intermitente (SIMV) com pressão de suporte, para se prosseguir o desmame.

Procedeu-se à extubação traqueal, após a estabilização dos parâmetros hemodinâmicos, temperatura corporal (37°C), eletrocardiograma sem alterações em relação ao exame pré-operatório, radiografia torácica pósterio-anterior, recuperação do nível de consciência, adequado padrão respiratório sob ventilação espontânea, com relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ maior ou igual a 200, valor da pressão parcial de gás carbônico dentro dos limites da normalidade e mínima quantidade de sangramento pelos drenos torácicos. A analgesia do paciente foi promovida pela utilização de morfina na concentração de 1 a $2 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$ e mais uma dose de 750 mg de cefuroxima foi administrada.

2.5 Modelagem Farmacocinética

A disposição cinética da cefuroxima foi avaliada utilizando modelo monocompartimental aberto com base com pares de dados C X T obtidos pelo delineamento da coleta de amostras sanguíneas após administração intravascular do medicamento. Utilizou-se o software PK solutions, versão 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis, (Ashland, OH, USA) na realização desta modelagem. Os conceitos abaixo ilustram os parâmetros que foram estimados através da aplicação do software específico.

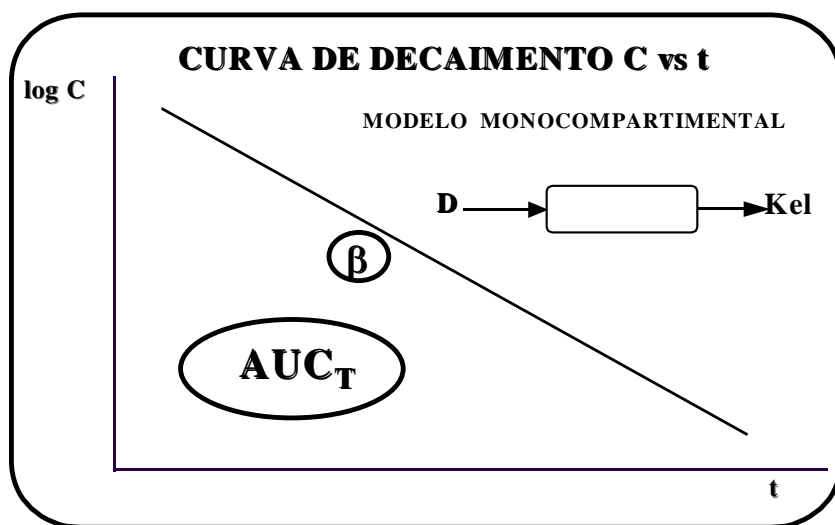


Figura 8. Modelagem farmacocinética, curva de decaimento da concentração plasmática da cefuroxima versus tempo

A partir da transformação logarítmica da concentração versus tempo (logC vs T, Y:X), plotando-se os dados obtidos, no intervalo de dose obter-se-á a curva de declínio caracterizada por fase de decaimento relativa a eliminação da cefuroxima (RITSCHER, 1986).

A meia vida de eliminação ($t_{(1/2)\beta}$) foi determinada na fase de decaimento ou

reta terminal ($\log C$ versus T) pelo método gráfico, ou seja, através do cálculo do tempo para a redução da concentração em 50%. O cálculo da constante de velocidade de eliminação (K_{el}) foi realizado dividindo-se 0.693 pela respectiva meia-vida.

PARÂMETRO	UNIDADE	DEFINIÇÃO	EQUAÇÃO $C = C_0 \cdot e^{-kT}$
$C_{MAX} \sim C_0$	$\mu\text{g/mL}$	Concentração máxima	C_0 dado extrapolado da curva ($Y=Y_0 \cdot e^{-kX}$)
$C_{MIN.}$	$\mu\text{g/mL}$	Concentração mínima	dado obtido da curva
$t_{(1/2) \beta}$	H	Meia-vida de eliminação	$0,693/K_{el}$
K_{el}	h^{-1}	Constante de velocidade	$\ln C_1 - \ln C_2 / T_2 - T_1$
AUC_T	$\mu\text{g/mL.h}$	Área sob a curva	Trapezóides e/ ou extrapolação
CL_T	mL/min/Kg	Depuração plasmática	Dose/ AUC_T
V_d	L/Kg	volume de distribuição	CL_T/K_{el}

Quadro 1. Parâmetros farmacocinéticos descritos por Ritschel (1986)

2.6 Etapa Estatística

Os dados foram avaliados por meio de testes estatísticos realizados no Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA), GraaphPad Instat versão 2.0 e GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software Inc. San Diego, CA,USA) e expressos através de média, desvio padrão da média, mediana, faixa de variação IC

95%, valores máximo e mínimo obtidos das populações investigadas. Utilizou-se o teste Mann-Whitney para dados não pareados para análise estatística comparativa entre os grupos CEC e Controle.

3 RESULTADOS

3.1 Casuística

3.1.1 População Estudada

Os dados referentes às médias, medianas, desvio padrão da média e índice de confiança dos parâmetros idade, peso, altura e índice de massa corporal encontram-se na tabela abaixo.

Tabela 7 – Dados antropométricos dos pacientes do grupo CEC e grupo controle.

	Pacientes CEC			Pacientes Controle				
	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m ²)	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m ²)
Média	57,2	69,0	1,68	20,52	61,7	71,7	1,71	20,91
Mediana	56	68,5	1,65	20,69	64,5	71,0	1,70	20,58
Valor Máximo	71	93	1,85	25,13	71	83	1,71	20,91
Valor mínimo	39	46	1,55	14,83	43	61	1,65	17,94
Desvio padrão	11,01	14,02	0,08	3,45	9,63	6,61	0,04	2,17
IC 95% ^a	6,8	8,69	0,054	2,13	5,9	4,10	0,02	1,34

^a IC = índice de confiança.

3.2 Análise Farmacocinética

As figuras 10 e 11 e as tabelas 8, 9, 10 e 11 apresentam as curvas de decaimento plasmático para a cefuroxima administrada conforme protocolo deste estudo em pacientes do grupo de estudo e do grupo controle. As curvas de decaimento plasmático para o fármaco são representadas, sendo expressos os valores através das medianas. É importante salientar que a concentração inibitória ideal para a cefuroxima é de $16\mu\text{g/mL}$.

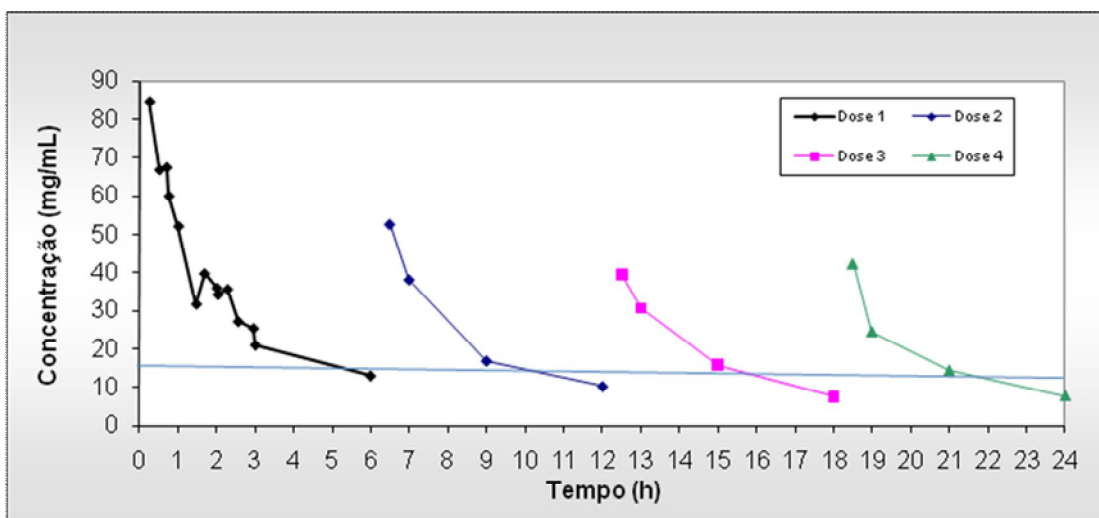


Figura 9. Concentrações plasmáticas da cefuroxima no decurso do tempo. Dose de ataque (1,5 g IV bolus) seguida das doses de manutenção (0,75 g) IV bolus
Mediana, n=10, monitoradas em pacientes submetidos à CEC.

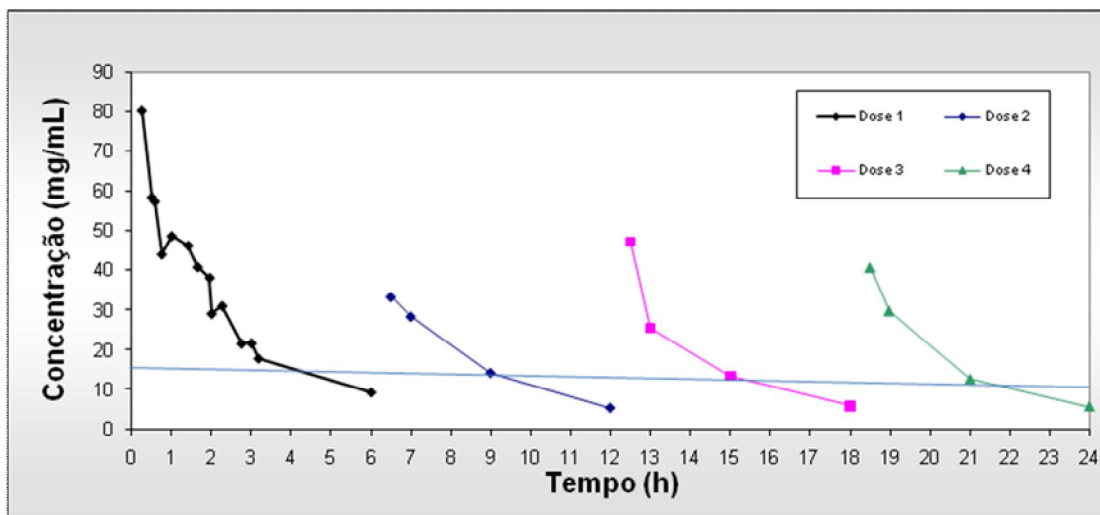


Figura 10. Concentrações plasmáticas da cefuroxima no decurso do tempo. Dose de ataque (1,5 g IV bolus) seguida das doses de manutenção (0,75 g) IV bolus. Medianas, n=10, monitoradas em pacientes do grupo CEC.

Tabela 8 – Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de ataque de 1,5g IV bolus.

Período (horas)	Mediana das concentrações(µg/mL) CEC, n=10 ^a	Mediana das concentrações(µg/mL) Controle, n=10 ^a
0,25	84,73	80,16
0,5	66,93	58,45
0,69	67,6	57,41
0,75	59,9	43,97
1	52,16	48,63
1,4	31,66	46,23
1,6	39,74	40,76
2	35,92	38,07
2,02	34,19	29,04
2,27	35,61	31,0
2,55	27,07	21,62
2,95	25,26	21,71
3	20,84	17,85
6	12,9	9,27

Tabela 9 – Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 2 de 750 mg.

Período (horas)	Mediana das concentrações(µg/mL) CEC, n=10 ^a	Mediana das concentrações(µg/mL) Controle, n=10 ^a
6,5	52,45	33,31
7	38,05	28,38
9	16,83	14,21
12	10,29	5,29

Tabela 10 – Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 3 de 750 mg.

Período (horas)	Mediana das concentrações(µg/mL) CEC, n=10 ^a	Mediana das concentrações(µg/mL) Controle, n=10 ^a
12,5	39,51	47,14
13	30,53	25,42
15	15,78	13,3
18	7,60	5,75

Tabela 11 – Monitoramento das Concentrações plasmáticas versus tempo Grupos CEC VS Controle após a dose de manutenção 4 de 750 mg.

Período (horas)	Mediana das concentrações(µg/mL) CEC, n=10 ^a	Mediana das concentrações(µg/mL) Controle, n=10 ^a
18,5	42,28	40,53
19	24,41	29,65
21	14,35	12,59
24	7,74	5,65

Adicionalmente foi avaliada a disposição cinética da cefuroxima após a administração da dose de ataque de 1,5 g e da dose 3 de 0,75 g nos pacientes do grupo de estudo CEC e do grupo controle sem CEC fornecendo os parâmetros de meia vida, depuração e volume aparente de distribuição.

Tabela 12– Disposição cinética da cefuroxima nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca de revascularização do miocárdio com CEC (estudo) versus Grupo Controle para dose de ataque 1,5 g de Cefuroxima

Dose ataque		Grupo de estudo (n=10)	Grupo Controle (n=10)	Probabilidade ^a
1,5 g	Unidade	Mediana Média(IC95%)	Mediana Média (IC95%)	
Meia vida	h	2,70	2,25	0,50
Depuração	mL/mim/Kg	0,66	1,53	0,79
Vol. distribuição	L/kg	0,21	0,28	0,27
Kel	1/h	0,31	0,35	0,29

^a Teste de Mann Whitney, nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 13 – Disposição cinética da cefuroxima nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca de revascularização do miocárdio com CEC (estudo) versus Grupo Controle para dose 3 de manutenção; 0,750 de Cefuroxima

Dose 3 manutenção		Grupo de estudo (n=10)	Grupo Controle (n=10)	Probabilidade ^a
0,750 g	Unidade	Mediana Média(IC95%)	Mediana Média (IC95%)	
Meia vida	h	3,32	2,81	0,39
Depuração	mL/mim/Kg	1,33	1,50	0,79
Vol. distribuição	L/kg	0,13	0,24	0,21
Kel	1/h	0,31	0,37	0,28

^a Teste de Mann Whitney, nível de significância $p < 0,05$

4 DISCUSSÃO

A cefuroxima, cefalosporina de segunda geração sintetizada a partir da cefalosporina C, com o nome químico de 6R,7R-3-carbamoiloximetil-7(2Z)-2-metoxiimino-(fur-2-il)-acetamido-cef-3-em-4carboxilato, molécula que apresenta duas cadeias laterais ligadas ao núcleo 7-aminocefalosporínico, sendo uma das cadeias constituídas pela combinação de um grupamento fluril e um grupamento oxima substituído. Outro grupamento constitui-se de um éster carbamato, capaz de aumentar a atividade antimicrobiana, se comparada as cefalosporinas de primeira geração. As modificações bioquímicas propostas propiciaram um aumento na atividade antibacteriana e estabilidade contra β -lactamases produzidas contra cefalosporinas de primeira geração (TARTAGLIONE e POLK, 1985).

Em concentrações terapêuticas, a cefuroxima é ativa contra *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e outros estreptococos (exceto grupo D), a sensibilidade bacteriana a cefuroxima inclui ainda enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella sp* e *Shigela sp*) e *Staphilococcus aureus* e *Staphilococcus epidermidis* (DELLAMONICA, 1994). Atividade contra microorganismos anaeróbios e cepas penicilina-resistentes também foram constatadas (PERRY e BROGDEN, 1996).

Na clínica médica a cefuroxima é utilizada para o tratamento de várias doenças como a meningite, infecções do trato respiratório, infecções urinárias, infecções de pele, mucosas e abscessos (PERRY e BROGDEN, 1996).

O uso profilático de antibióticos no pós operatório de intervenções cirúrgicas

tem apresentado resultados satisfatórios se comparado a placebo, e tem como objetivo principal reduzir a incidência de infecções nosocomias que podem comprometer a recuperação de pacientes cirúrgicos (HARBI, 1998). A administração de antimicrobianos com este objetivo teve início na década de 60 e tornou-se usual em vários tipos de cirurgias inclusive a cirurgia cardíaca. Devido a baixa toxicidade e boa penetração tecidual as cefalosporinas tornaram-se os antibióticos mais utilizados na profilaxia de infecções pós-cirúrgicas, sendo as de segunda geração (cefuroxima, cefazolina e cefamandole) as que apresentam o melhor relação custo benefício, apresentando preço reduzido e impedindo o crescimento da maioria das bactérias encontradas nos sítios de infecções pós-operatórias (HARBI, 1998).

Complicações pós-cirúrgicas ocorrem rotineiramente em pacientes hospitalizados, são muito comuns também em cirurgias cardíacas e podem ser associadas a um aumento de morbidade e da mortalidade dos pacientes, podendo chegar a 14% das causas de óbito pós-cirúrgico (TRICK et al., 2000; EL OAKLEY et al., 1998). Com o intuito de reduzir o risco de infecções no período pós-operatório uso profilático de cefuroxima em pacientes portadores de coronariopatias graves com indicação cirúrgica no Instituto do Coração (InCor) do Hospital de Clínicas da Universidade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) é preconizado como procedimento de rotina pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar. Na literatura a utilização de cefuroxima para a antibioticoprofilaxia reporta diferentes esquemas profiláticos, como a administração de dose única de 3 g *bolus*, previamente à cirurgia, administração de doses múltiplas (três ou quatro doses de 1,5 gramas a cada 8 horas ou a cada 12 horas) ou ainda, infusão contínua de 125 mg/h, durante 24 h (KAUKONEN et al., 1995; PASS et al., 2001).

No InCor, a cefuroxima é utilizada desde 1992 como antibiótico profilático das

infecções cirúrgicas de tórax e abdômen superior. Nas grandes cirurgias como a cardíaca, o regime posológico anteriormente recomendado pela CCIH daquela unidade hospitalar era de 1,5 g a cada 12 horas administrado em 3 doses no intra e pós-operatório. Com base no estudo da farmacocinética e monitoramento plasmático no intervalo de dose, a Comissão de Infecção Hospitalar alterou o regime posológico (dose total de 6 g divididas em 1,5 g a cada 12 h), uma vez que o intervalo entre doses de 12 horas evidenciou concentrações abaixo do recomendado para a antibioticoprofilaxia das infecções das grandes cirurgias (NASCIMENTO et al., 2004).

A literatura reporta que o perfil farmacocinético da cefuroxima é semelhante ao de outras cefalosporinas e penicilinas, visto que, após a administração intravenosa, os níveis plasmáticos do fármaco circulante podem ser descritos por decaimento biexponencial, utilizando constantes de primeira ordem (BUNDTZEN et al., 1981).

A taxa de ligação do fármaco às proteínas plasmáticas, considerada baixa é de 30% a 50% indicando que pacientes em diálise devem receber doses suplementares de cefuroxima, visando a reposição do antimicrobiano dialisado para manutenção da eficácia da terapia antimicrobiana (EMMERSON et al., 1998).

As concentrações terapêuticas da cefuroxima são facilmente alcançadas em fluidos corporais e tecidos, o que é comprovado por relatos literários que comprovam penetração no fluido cérebro-espinhal, pele, tecido subcutâneo, escarro, pericárdio, próstata, humor aquoso e líquido sinovial.

A baixa solubilidade no meio fisiológico e seu metabolismo hepático insignificante, favorece a eliminação do fármaco de forma inalterada, principalmente pela urina. A meia vida biológica varia entre 1,1 a 2,3 horas em pacientes com

função renal normal (EMMERSON et al.,1988).

A cefuroxima alcança níveis plasmáticos bactericidas que se mantêm por aproximadamente 4 horas após a administração IV *bolus* de 750 mg. Adicionalmente, reportou-se que doses de 1,5 g, IV, *bolus*, conferem pico elevado para a cefuroxima, que se reduz rapidamente devido á curta meia vida biológica (EMMERSON et al., 1998). Como a atividade antibacteriana deste fármaco não está associada a elevadas concentrações plasmáticas, mas ao período de tempo em que os níveis plasmáticos são mantidos acima do MIC (preferencialmente de 4 a 8 vezes), sua utilização adequada contra as principais bactérias causadoras da ferida cirúrgica seria mantendo-se a concentração plasmática em torno de pelo menos 16µg/mL, ou seja, 4 vezes o MIC, no período requerido para antibioticoprofilaxia (JACOBS, 2001; PASS et al., 2001).

No estudo realizado por Nascimento et al. (2004) após a administração de 1,5 g IV *bolus*, inicialmente foram atingidas elevadas concentrações plasmáticas para o grupo de estudo (4 doses 1,5 g IV *bolus* a cada 12 h, nos períodos pré, intra e pós-operatório imediato e tardio com CEC) e para o grupo controle (3 doses 1,5 g IV *bolus*, pré e pós-operatório imediato e tardio), mas que rapidamente decaíram a níveis circulantes inferiores a 16µg/mL à partir da 6ª hora de injeção. No presente estudo apesar do tempo de administração das doses de cefuroxima ter sido diminuído de 12 h para 6 h, constatou-se que o MIC também não foi atingido na sexta hora. Pode-se ainda constatar que ocorreu maior disponibilidade sistêmica para a cefuroxima nos pacientes submetidos a CEC, devido ao prolongamento da meia vida biológica e redução da depuração plasmática do fármaco. Outras cefalosporinas com perfis semelhantes ao da cefuroxima apresentaram eliminação parecida, como o caso da cefalotina, onde ocorreu prolongamento da meia vida

plasmática logo após a CEC (SATO et al., 1984) e do cefamandole com aumento significativo da meia vida, resultante da redução da função renal e conseqüente redução da eliminação do fármaco em pacientes submetido á CEC (POLK et al., 1978). Segundo Holley et al. (1982) as alterações na função renal e na depuração plasmática ocorrem, provavelmente em decorrência da hipotermia e da redução da perfusão sanguínea de fígado e rim. Considerando-se a eliminação inalterada da cefuroxina por via renal uma pequena modificação na sua depuração renal ocasiona o prolongamento da meia vida biológica do fármaco.

Desta forma, a baixa concentração da cefuroxima, especialmente no período pós operatório, tanto em pacientes submetidos á CEC quanto nos não submetidos, pode ser um fator de risco para os pacientes cirúrgicos, e por tanto, faz-se necessária a elaboração de novo protocolo para regime de antibioticoprofilaxia a fim de encontrar o regime de doses adequado para garantir a profilaxia antimicrobiana em pacientes submetido á cirurgia cardíaca.

5 CONCLUSÃO

A farmacocinética da cefuroxima investigada através do monitoramento plasmático se mostrou semelhante nos dois grupos de pacientes cirúrgicos, uma vez que não se evidenciou diferença estatística significativa.

Evidenciou-se que o regime de doses de 1,5 g de cefuroxima seguida de três doses de manutenção de 0,75 g nos períodos intra-operatório, pós operatório imediato e tardio apresentou-se inadequado uma vez que as concentrações plasmáticas de cefuroxima no estado de equilíbrio (vale) foram inferiores à recomendada de 16 $\mu\text{mg/mL}$ (4x MIC) e portanto insuficientes para a antibioticoprofilaxia de pacientes submetidos a grandes cirurgias, abdômen superior e tórax como as cirurgias cardíacas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amin AS, Ragabb G H, . Spectrophotometric determination of certain cephalosporins in pure form and in pharmaceutical formulations. *Spectrochim. Acta, A (United States)* 2004; 60: 2831–2835.

Ayad MM, Shalaby AA, Abdellatef HE, Elsaid HM. Spectrophotometric and atomic absorption spectrometric determination of certain cephalosporins. *J. Pharm. Biomed. Anal (England)* 1999; 18: 975-983.

Aziz NS, Gambertoglio JG, Lin ET, Grausz H, Benet LZ. Pharmacokinetics of cefamandole using HPLC assay. *J. Pharm. Biopharm (United States)* 1978, 6 (2): 153-164.

Bompadre S, Ferrante L, Leone L. On-line solid-phase extraction of Cephalosporins. *J. Chromatogr. A (Netherlands)* 1998; 812: 191-196.

Brasil. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Resolução RE nº 899, de 29 de maio 2003. *Diário Oficial da União*, 02 de junho de 2003.

Bratzler DW, Houck PM. Surgical Infection Prevention Guidelines Writers Workgroup et al. Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. *Clin Infect Dis*, 2004; 38:1706-1715.

Bratzler DW, Houck PM, Richards C et al. Use of antimicrobial prophylaxis for major surgery: baseline results from the National Surgical Infection Project. *Arch Surg (United States)* 2005; 140:174-182.

Brisson AM, Fourtillan JB. Determination of cephalosporins in biological material by reversed-phase liquid column chromatography. *J. Chromatogr. (Netherlands)* 1981; 223:393-399.

Bundtzen RW, Toothake RD, Nielson OS, Madsen PO, Welling PG, Craig WA. Pharmacokinetics of cefuroxime in normal and impaired renal function: comparison of high-pressure liquid chromatography and microbiological assays. *Antimicrob. Agents Chemother. (United States)* 1998; 19 (3): 443–449.

Buylaert WA., Herregods LL, Mortier EP, Bogaert MG. Cardiopulmonary bypass and the pharmacokinetics of drugs. *Clinical Pharmacokinetics*. (United States) 1989; 17 (1): 10-16.

Carmona MJC, Malbouisson LMS, Pereira VA, Bertoline MA, Omosaki CEK, Auler Jr JOC, Santos SRJC. Cardiopulmonary by pass alters the pharmacokinetics of propranolol in patients undergoing cardiac surgery. *Braz j med biol Res* (Brazil) 2005; 38:713-21.

Casabó VG, Nácher A, Sanjuán MM, Carretero RP. Pharmacokinetic models of the saturable absorption of cefuroxime axetil and saturable elimination of cefuroxime. *Eur. J. Pharm. Sci.*(England) 2003; 21: 217–223.

Coomber PA, Jefferies JP, Woodford JD, 1982. High-performance liquid chromatographic determination of cefuroxime. *Analyst* (United States) 1982; 1451–1456.

Dellamonica P. Cefuroxime axetil. *International Journal of Antimicrobial Agents*.(Netherlands) 1994; 4 (1):23-36.

Dwight AM, Bosso JA, Townsend RJ. Compatibility of clindamicyn phosphate with aztreonamin in polypropylene syringes and with cefoperazone sodium, cefonicid sodium, and cefuroxime sodium in partialfill glass bottles. *Drug Intell. Clin. Pharm.* (United States) 1998; 22: 54-57.

EI-Gindy A, Walily AFME, Bedair, MF. First-derivative spectrophotometric and LC determination of cefuroxime and cefadroxil in urine. *J. Pharm. Biomed. Anal* (England) 2000; 23: 341–352.

EI Oakley R, Paul E, Wong PS. et al. Mediastinitis in patients undergoing cardiopulmonary bypass: risk analysis and midterm results. *Journal of Cardiovascular Surgery*(United States) 1998; 38: 595-600.

EI-Sooud KA, El-Banna HA, Hanafy MSM, Goudah A, 2000. Pharmacokinetics and intramuscular bioavailability of cefuroxime sodium in goats. *Res. Vet. Sci*(United States) 2000; 69: 219–224.

EI-Walily AFM, Gazy AA, Belal SF, Khamis EF. Quantitative determination of ome thiazole cephalosporins through complexation with palladium (II) chloride. *J. Pharm. Biomed. Anal* (England) 2000; 22: 385–392.

Emmerson AM. Cefuroxime axetil. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. (United States)1988; 22 (2):101-4.

Garton AM, Rennie RP, Gilpin J, Marrelli M, Shafran SD. Comparison of dose doubling with probenecid for sustaining serum cefuroxime levels. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (United States) 1997; 40 (6): 903-906.

Garzone P, Lyon J, Yu LV. Third-generation and investigational cephalosporins: I. Structure-activity relationships and pharmacokinetics review. Drug Intelligence and Clinical Pharmacy. 1983; 17: 507-515.

Goucke CR, Keaveny JP, Kay B, Healy TE, Ryan M. The effect of cardiopulmonary bypass on the pharmacokinetics of drugs. Clin Pharmacokinet, 1982; 7:234-251.

Guglielmo JB, Salazar AT, Rodoni CL, Carver M, Goldstone J, Stoney JR. Altered pharmacokinetics of antibiotics during vascular surgery. The American Journal of Surgery (United States)1989; 157: 410-412.

Harbi Al M, Antimicrobial prophylactic practice in surgical patients. East African Med. J.(Kenya) 1998; 75 (12):703-707.

Hartmann C, Smeyers-Verbeke J, Massart DL, McDowall RD. Validation of bioanalytical chromatographic methods (England) 1998;17:193-218.

Hekster, Y.A., Baars, A.M., Vree, T.B., J. Antimicrob. Chemother (United States)1980; 6:65-71.

Hendriks G. Theoretical models in LC based bioanalytical method development. J. Pharm. Biomed. Anal (England) 2009; 49:1-10.

Holley FO, Ponganis KV, Stanski DR. Effect of cardiopulmonary bypass on the pharmacokinetics of drugs. Clinical pharmacokinetics (United States) 1982, 7: 234-251.

Inkster T. Antibiotic prophylaxis for cardiac surgery: a shift away from traditional cephalosporins? Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia (United States) 2009.

Jacobs MR. Optimisation of antimicrobial therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Clin Microbiol Infect (United States)* 2001;589-596.

Jakob HG, Borneff-Lipp M, Bach A, Puckler S, Windeler J, Sonntag H, Hagl S. The endogenous pathway is a major route for deep sternal wound infection. *The European Journal Of Cardiothoracic Surgery (Germany)* 2000; 17:154-160.

Kaukonen JP;Tuomainen P, Makijarvi J, Mokka R, Mannisto PT. Intravenous cefuroxime prophylaxis. Tissues levels after one 3-gram dose in 40 cases of hip fracture. *Acta Orthop Scand (Danmark)*1995, 66 (1): 14-16.

Konishi K, Suzuki H, Hayashi M, Saruta T. Pharmacokinetics of cefuroxime axetil in patients with normal and impaired renal function. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy (England)* 1993; 31 (3):413-420.

Kriaras I, Michalopoulos A, Michalis A, Palatianos G, Economopoulos G, Anagnostopoulos C, Geroulanos S. Antibiotic prophylaxis in cardiac surgery. *Journal of Cardiovascular Surgery (Italy)* 1997; 38 (6): 605-10.

Levison EM, Levison HJ. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antibacterial Agents. *Infect Diseases Clinical and Ambulatorial (United States)* 2009; 23:791-815.

Loop FC, Lytle BW, Cosgrove DM, Mahfood S, Mchenry MC. Sternal wound complications after isolated coronary artery bypass grafting: Early and late mortality, morbidity, and cost of care. *Annals of Thoracic Surgery (England)* 1990; 49:179-187.

Mcintosh J, Earnshaw JJ. Antibiotic Prophylaxis for the Prevention of Infection after Major Limb Amputation. *The European Journal of Vascular & Endovascular Surgery (Germany)*2009; 37: 696 – 703.

Mahmoud AO, Osama H. Abdelmageed, Tamer ZA. Kinetic spectrofluorimetric determination of certain cephalosporins in human plasma. *Talanta*, 2009; 77: 1394-1404.

Mandell GL, Petri WA. Antimicrobial agents: Penicilins, cefalosporins, and other β -lactam antibiotics. In: Hardman JG, Limbird LE. (Eds.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics (United States)*1996, 9:1074.

Mastoraki S, Michalopoulos A, Kriaras I. Cefuroxime as antibiotic prophylaxis in coronary artery bypass grafting surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* (Switzerland) 2007; 6:442-446.

Murillo JA, Lemus JM, Garcia LF. Spectrofluorimetric analysis of cefuroxime in pharmaceutical dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal*(England)1994; 12 (7): 875–881.

Nafiz ÖC, Göksel A, Hassan YA. Determination of cefuroxime axetil in tablets and biological fluids using liquid chromatography and flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 2006; 576:246-252.

Nascimento JWL. Estudo da disposição cinética da cefuroxima em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorporeal e hipotermia [Tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2004.

Nascimento JWL, Carmona MJC, Strabelli TMV et al. Systemic availability of prophylactic cefuroxime in patients submitted to coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *J Hosp Infect* (England) 2005; 59:299-303.

Nilsson-Ehle I, Nilsson-Ehle P. Liquid chromatographic assay of cefuroxime in serum. *Clin. Chem. (United States)* 1978; 24 (2): 365–367.

O'callaghan CH; Sykes RB, Griffiths A, Thornton J. Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic: activity in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother* (United States)1976; 9, 511–519.

Okoye NN, Nwokedi GIC, Ukwueze NN, Okoye FBC. Spectrophotometric determination of some cephalosporin antibiotics using Prussian blue reaction. *Sci.Res. Essay* 2007; 2 (8): 342–347.

Omar AM, Abdelmageed OH, Attia T. Kinetic spectrofluorimetric determination of certain cephalosporins in human plasma. *Talanta*. 2009; 77: 1394-1404.

Pajchel G, Tyski S. Adaptation of capillary electrophoresis to the determination of selected cephalosporins for injection. *J. Chromatogr. A*(Netherlands) 2000; 895: 27–31.

Partani P, Gurule S, Khuroo A, Monif T, Bhardwaj S. Liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of cefuroxime in human plasma: Application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B (Netherlands)* 2010; 878(3-4):428-434

Pass SE, Miygawa CI, Healy DP, Ivey TD. Serum concentrations of cefuroxime after continuous infusion in coronary bypass graft patients. *Ann Pharmacother (United States)* 2001; 35:409-413.

Pass SE, Miygawa CI, Healy DP et al. Serum concentrations of cefuroxime after continuous infusion in coronary bypass graft patients. *Ann Pharmacother (United States)* 2001; 35:409-413.

Pereira VA, Carmona MJC, Omosako CEK, Auler Jr JOC, Santos SRJC. Obesity influences of propranolol pharmacokinetics in patients undergoing coronary grafting employing cardiopulmonary by pass. *Brazilian Journal of pharmaceutical Sciences (Brazil)* 2003; 39(4):409-414.

Perry CM, Brogden RN. Cefuroxime axetil: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs (New Zealand)* 1996; 52(1):125-158.

Polk RE, Archer GL, Lower R. Cefamandole kinetics during cardiopulmonary bypass. *Clin. Pharmacol. Ther. (United States)* 1978; 23(4):473-480.

Polk HC Jr, Lopez-Mayor JF. Postoperative wound infection: a prospective study of determinant factors and prevention. *Surgery (United States)* 1969; 66:97-103.

Porta V, Kano EK. Etapa analítica dos estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos In: Storpirtis S, Gonçalves JE, Chiann C, Gai MN. *Biofarmacotécnica. (Brazil)* 2009; 144-150.

Ritschel WA. *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. 3th ed, Drug Intelligence Publications, Bethesda, 1986.

Rodenbach MP, Hecq, JD, Vanbeckbergen D, Jamart J, Galanti L. Stability of cefuroxime infusion: the brand-name drug versus a generic product. *Eur. J. Hosp. Pharm. Sci (England)* 2006; 12: 32-34.

Salem H, Askal H. Colourimetric and aas determination of cephalosporins using reineck's salt. *J. Pharm. Biomed. Anal (Netherlands)* 2002; 29:347–354.

Sato Y, Kanazawa H, Okazaki H, Kosuge T, Imaizumi K, Eguchi SA. A comparison of the penetration characteristics of latamoxef and cephalothin into the right atrial appendage and pericardial fluid of adult patients undergoing open heart surgery. *Jpn. J. Antibiot. (Japan)* 1984; 37(4):671-679.

Schmidt AC, Agarrayua AD, Laporta LV, Machado JC, Manfio ML, Bittencourt CF. Development and validation of a microbiological agar assay for determination of cefuroxime sodium in pharmaceutical preparations. *Journal of Microbiological Methods (United States)* 2009; 77: 308-315.

Sciacchitano CJ, Mopper B, Specchio JJ. Identification and separation of Five cephalosporins by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr., B (United States)* 1994; 657: 395–399.

Tartaglione AT, Polk ER. Review of the new second-generation cephalosporins: Cefonocid, Ceforanide, and Cefuroxime. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy. (United States)* 1985; 19: 188-195.

Trick WE, Scheckler WE, Tokars JI, Jones KC, Rappen ML, Smith EM, Jarvis WR. Modifiable risk factors associated with deep sternal site infection after coronary artery bypass grafting. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery (United States)* 2000; 119: 108-14.

Vuorisalo S, Pokela R, Syrjälä H. Comparison of vancomycin and cefuroxime for infection prophylaxis in coronary artery bypass surgery. *Infection Control and Hospital Epidemiology (United States)* 1998; 19: (4) 234-9.

Zivanovic L, Ivanovic I, Vladimirov S, Zecevic M. Investigation of chromatographic conditions for the separation of cefuroxime axetil and its geometric isomer. *Journal of Chromatography B*, 2004; 800: 175-179.

Wang D, Notari RE. Cefuroxime hydrolysis kinetics and stability predictions in aqueous solution. *J. Pharm Sci. (United States)* 1994; 83 (4):577-581.

Wellens F, Pirlet M, Larbuisson R, De Meireleire F, De Somer P. Prophylaxis in cardiac surgery. A controlled randomized comparison between cefazolin and

cefuroxime. The European Journal of Cardiothoracic Surgery (Germany) 1995; 9 (6), 325-9.

ANEXO 1

Termo de consentimento

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :.....
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO: .M F
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO:.....CIDADE.....
 CEP:.....TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE :..... SEXO: M F
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO:.....CIDADE:
 CEP:.....TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: FARMACOCINÉTICA DA CEFUROXIMA PARA UM NOVO REGIME POSOLÓGICO DE ANTIBIOTICOPROFILAXIA DE PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Profa. Dra. Maria José Carvalho Carmona

CARGO/FUNÇÃO: .Professora Associada INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 54.142

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto do Coração HCFMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO
 RISCO BAIXO RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa ; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconforto e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.
1. **Justificativa e os objetivos da pesquisa:** para ser submetido à cirurgia cardíaca, o senhor receberá antibióticos profiláticos, isto é, medicações que visam prevenir a ocorrência de infecção no local da cirurgia. O antibiótico atualmente utilizado com esta finalidade chama-se CEFUROXIMA. O objetivo do presente estudo é avaliar se o nível deste antibiótico, na quantidade utilizada, atinge quantidades satisfatórias no sangue e no local da incisão.
2. **Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais:** o senhor receberá o antibiótico nas doses e nos momentos normalmente utilizados pelos pacientes submetidos a cirurgia cardíaca. Serão coletadas amostras de sangue e pequenas porções de tecido subcutâneo do local onde é realizada a incisão cirúrgica. No sangue e no tecido subcutâneo serão dosados a quantidade do antibiótico através de métodos laboratoriais específicos.
3. **Desconforto e riscos esperados:** o risco a que o senhor será submetido é mínimo e refere-se à coleta das amostras de sangue e de subcutâneo, procedimento que é feito normalmente de forma estéril, com material descartável, por profissionais altamente treinados. A quantidade necessária de subcutâneo é mínima (cerca de 200 mg, no máximo), sendo esta quantidade muitas vezes desprezada em casos de re-operações, sem prejuízo para o paciente.
4. **Benefícios que poderão ser obtidos:** após os resultados deste estudo, caso seja necessário, serão realizados ajustes nas doses e intervalos de doses de antibióticos utilizados a tal procedimento deverá futuramente beneficiar muito outros pacientes.
5. **Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo:** neste caso, não há procedimentos alternativos, desde que trata-se de procedimento rotineiro em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, sendo a CEFUROXIMA o antibiótico habitualmente utilizado como agente profilático.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Profa. Dra. Maria José Carvalho Carmona
Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44
Fone: 3069-5232 ou 9645-0293

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa
São Paulo, de de 2005. .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO
(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterà o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
6. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito

ANEXO 2