

CIMENTO ÓSSEO COM GENTAMICINA NO TRATAMENTO DA INFECÇÃO ÓSSEA. ESTUDO DA ELUIÇÃO *IN VITRO*

BONE CEMENT AND GENTAMICIN IN THE TREATMENT OF BONE INFECTION. BACKGROUND AND *IN VITRO* STUDY

MATHEUS LEMOS AZI, MAURICIO KFURI JUNIOR, ROBERTO MARTINEZ, CLEBER ANTONIO JANSEN PACCOLA

RESUMO

Objetivo: Determinar as características de eluição da gentamicina. **Método:** 480mg de gentamicina foram adicionadas a 40g de cimento ósseo. Dez corpos de teste semelhantes foram produzidos e imersos individualmente em solução salina tamponada por 28 dias. Amostras dos dias 1, 2, 7, 14, 21 e 28 foram analisadas pelo método de imunofluorescência polarizada. **Resultado:** A maior parte da gentamicina foi liberada do cimento nas primeiras 24 horas. Uma queda gradual se deu do 2º ao 14º dia. No 28º dia, a maior parte das amostras não apresentava mais níveis detectáveis do antibiótico. **Conclusão:** A mistura liberou quantidades elevadas e em doses terapêuticas do antibiótico de forma previsível até o décimo quarto dia.

Descritores: Infecção. Osteomielite. Polimetilmetacrilato. Gentamicina.

ABSTRACT

Objective: To determine the elution characteristics of the antibiotic (gentamicin) mixed with bone cement. **Methods:** 480mg of gentamicin was added to 40g of bone cement. Ten specimens were immersed in buffered saline solution for 28 days. Samples of days 1, 2, 7, 14, 21 and 28 were analyzed by the fluorescence polarization immunoassay method. **Results:** Most of the gentamicin was eluted from the cement in the first 24 hours. A gradual downslide occurred between days 2 and 14. By the 28th day, there was no trace of the antibiotic. **Conclusion:** The mixture released high amounts of the antibiotic in a predictable (therapeutic) manner during at least fourteen days.

Keywords: Infection, Osteomyelitis. Polymethylmethacrylate. Gentamicin.

Citação: Azi ML, Kfuri Junior M, Martinez R, Paccola CAJ. Cimento ósseo com gentamicina no tratamento da infecção óssea. Estudo *in vitro* e revisão da literatura. *Acta Ortop Bras.* [periódico na Internet]. 2010; 18(1):31-4. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>

Citation: Azi ML, Kfuri Junior M, Martinez R, Paccola CAJ. Bone cement and gentamicin in the treatment of bone infection. Background and *in vitro* study. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2010; 18(1):31-4. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>

INTRODUÇÃO

O tratamento da infecção óssea é um grande desafio terapêutico e a estratégia mais frequentemente utilizada é uma combinação de desbridamento cirúrgico e uso de antibióticos. Adiciona-se a isso a eventual remoção dos implantes ortopédicos e a cobertura com flaps musculares, permitindo melhora da vascularização no local. Além de curar a infecção, outros objetivos desejáveis são obter estabilidade e evitar o espaço morto na ferida. O controle da infecção ocorre em 78% dos pacientes no primeiro ano, e a erradicação da doença é alcançada em apenas 77% dos pacientes.^{1,2}

A penetração dos agentes antimicrobianos no osso depende de suas características farmacológicas, mas pode ser dramaticamente alterada pelas condições locais. Se a bactéria estiver no interior de osso avascular, não é possível alcançar concentrações terapêuticas e, se aderida a biomateriais, níveis 10 a 100 vezes superiores aos usuais são necessários.^{3,4}

Um dos principais avanços no tratamento foi a utilização de antibióticos locais, que permitem alcançar altas concentrações na ferida, com baixos níveis séricos e baixa toxicidade sistêmica.⁵ O uso de antibiótico associado ao polimetilmetacrilato (PMMA) como carreador foi realizado pela primeira vez por Buchholz et al.⁶ para profilaxia e tratamento da infecção em artroplastias do quadril. Klemm⁷ introduziu o seu emprego com sucesso no tratamento da osteomielite, manipulando a mistura para formar um colar de esferas unidas por um cabo que era colocado na região da infecção.

O uso do cimento com antibiótico local associado ou não a um curto período de antibiótico sistêmico é um método efetivo no tratamento da infecção óssea. Klemm⁷ relatou taxa de recorrência de apenas 9,6% em 405 casos de osteomielite, tratados com a implantação de pérolas de gentamicina. Calhoun et al.⁸ obtiveram redução nos custos e controle da infecção em 89,3% dos casos

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Brasil.

Trabalho realizado no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Endereço para Correspondência: Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Av Bandeirantes 1900, CEP 14048-900, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: mlazi@hotmail.com

Trabalho recebido em 30/04/08 aprovado em 16/09/08

tratados com o uso de pérolas de gentamicina, contra 83,3% com o uso de antibiótico sistêmico por quatro semanas. Nelson et al.⁹ compararam o uso de pérolas de gentamicina associadas a antibiótico sistêmico por cinco dias, *versus* antibiótico sistêmico por seis semanas, no tratamento da infecção em próteses de quadril e joelho, com menor taxa de re-infecção com o uso de antibiótico local (15% versus 30%). O uso profilático de pérolas de gentamicina associadas ao antibiótico sistêmico no tratamento de fraturas expostas reduziu o índice de infecção de 17 para 4%¹⁰ e o método também tem sido descrito com sucesso no tratamento de falhas ósseas infectadas.¹¹⁻¹⁴

Muitos fatores estão envolvidos na liberação do antibiótico pelo PMMA. Propriedades do cimento como composição, porosidade e quantidade do monômero, interação com fatores ambientais, como temperatura, umidade e pressão, afetando suas características físicas. O tipo de antibiótico, a quantidade adicionada e a troca de fluidos na ferida também influenciam.^{5,15} A forma tridimensional tem grande importância, sendo a eluição máxima obtida quando se usa pequenas pérolas alongadas, que fornecem maior área de superfície.¹⁵ A adição de antibiótico altera as propriedades mecânicas do cimento e a gentamicina líquida, na dose de 480mg, diminui a resistência à compressão em 49% e à tração em 46%.¹⁶

A liberação do antibiótico pelo PMMA pode ser qualificada como bimodal. Nas primeiras horas é rapidamente dispersado, presumidamente por dissolução na superfície exposta do cimento. Após este período, ocorre liberação bem mais lenta, por meio da difusão passiva através da massa do cimento.^{5,15} Neste padrão bifásico típico, ocorre um pico nas primeiras 24 horas, seguido por longo período de liberação de baixas doses, que pode durar de dias a meses, com traços do antibiótico ainda sendo encontrados após 5 anos da implantação.^{5,15,17}

O antibiótico deve ser preferencialmente em pó, pois a solução aquosa tem incorporação limitada.⁵ O agente deve ser estável a altas temperaturas, pois o interior da massa de cimento pode alcançar 107°C durante a polimerização.¹⁸ Deve ainda apresentar baixo risco de reações alérgicas.⁵ A quantidade de antibiótico liberada depende de sua concentração na mistura e da quantidade da mistura implantada no paciente, sendo as doses recomendadas para uso clínico no tratamento da infecção, de 2 a 3g para a gentamicina, 3g para tobramicina, 4g para vancomicina, cefepime e imipenem, e 6g para cefazolina e nafcilina, para um pacote de 40g de cimento ósseo.^{5,6,19,20}

A gentamicina tem sido o antibiótico mais frequentemente utilizado para aplicação local e a sua mistura ao PMMA é comercialmente disponível na forma de cimento ósseo já misturado ou na forma de pérolas de gentamicina (Septopal®),^{5,7} porém estas apresentações possuem custo elevado.²¹ Em contrapartida, a gentamicina em pó é comercialmente disponível no Brasil a um valor baixo, e a sua adição ao PMMA no momento do uso pode ser uma forma de reduzir custos e facilitar o acesso a este método terapêutico.

O objetivo deste estudo foi analisar *in vitro* as características de eluição da gentamicina adicionada ao cimento ósseo no momento do uso, no intuito de avaliar a segurança para uso clínico desta mistura.

MATERIAL E MÉTODOS

Confecção dos corpos de prova

Para confecção dos corpos de prova foi desenvolvido um molde em resina de teflon® com furos de 15mm de profundidade e 6mm de diâmetro e um segundo furo no centro com 3mm de profundidade e 3mm de diâmetro, que se estendia até a outra face. (Figura 1)

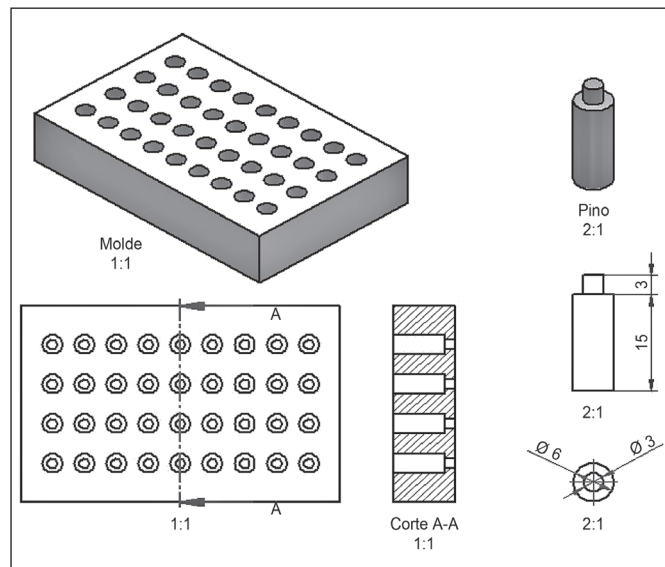


Figura 1 – Modelo esquemático do molde e do corpo de prova.

O cimento ósseo utilizado foi o Surgical Simplex P® (Howmedica, Limerick, Irlanda). O preparo foi realizado à temperatura ambiente sob técnica asséptica. O polímero foi colocado em cuba com 480mg de sulfato de gentamicina em pó, e misturado a 40g de polímero até formar uma mistura homogênea, quando então o monômero (líquido) era adicionado. Em seguida, a mistura foi introduzida manualmente no molde. (Figura 2) O excedente foi removido com espátula e o cimento deixado curar por trinta minutos, antes da retirada dos corpos de prova.

Teste de eluição

Dez corpos de prova foram pesados e medidos, e então colocados individualmente em tubos de ensaio, com 10ml de solução salina tamponada com fosfato (pH 7.4). O experimento foi conduzido à temperatura ambiente, protegido da luz e, a cada 24 horas, foi realizada a troca da solução. As amostras foram estocadas a -20°C até o momento da análise. A concentração da gentamicina nas soluções correspondentes aos dias 1, 2, 7, 14, 21 e 28, foi medida através do método de imunoenensaio de competição (FPIA - Fluorescence Polarization Immunoassay) com o aparelho Abbott TDx (Abbott Diagnostics, North Chicago, IL, USA),²² sendo cada amostra testada duas vezes. A análise estatística foi realizada com o programa GraphPad Prism 3.02® e foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn e nível de significância de $p = 0,05$.

RESULTADOS

Os corpos de prova apresentaram área total de superfície de 367mm². O peso médio foi de 0,58 gramas, podendo-se deduzir que cada um possuía em média 6,8mg de gentamicina em sua composição. O estudo foi conduzido na temperatura média de 25°C e a quantidade média de gentamicina liberada nas primeiras 24 horas foi de 6,15µg/ml. No segundo dia este valor caiu para 0,31µg/ml e nos dias 7, 14, 21 e 28 foi de 0,15µg/ml, 0,14µg/ml, 0,06 µg/ml e 0,08 µg/ml respectivamente, sendo a quantidade de gentamicina eluída no primeiro dia significativamente maior ($p < 0,001$) que nos dias 7, 14, 21 e 28. No vigésimo oitavo dia, 80% das amostras não apresentavam mais níveis detectáveis do antibiótico. (Figura 3)

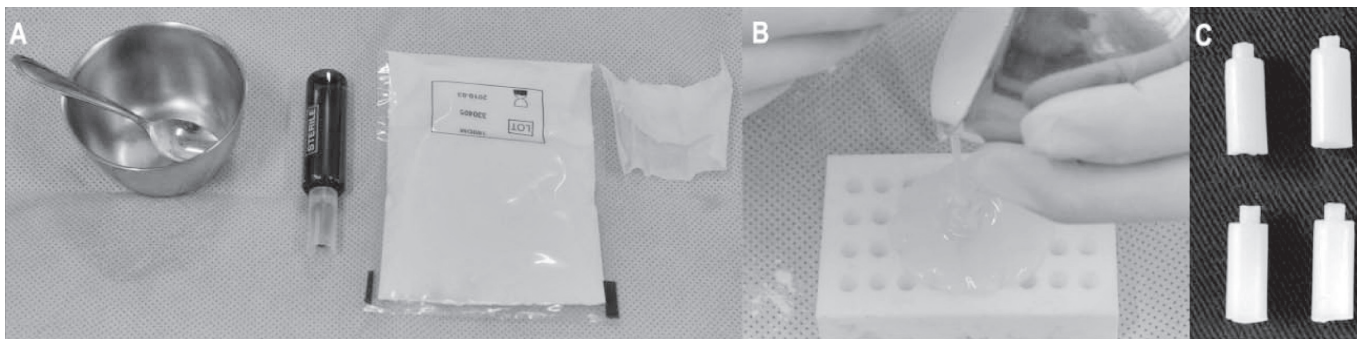


Figura 2 – Preparo dos corpos de prova. Da esquerda para a direita: A – Cuba e colher, monômero, polímero, gentamicina em pó. B – Mistura já preparada, sendo colocada no molde. C – Corpos de Prova.

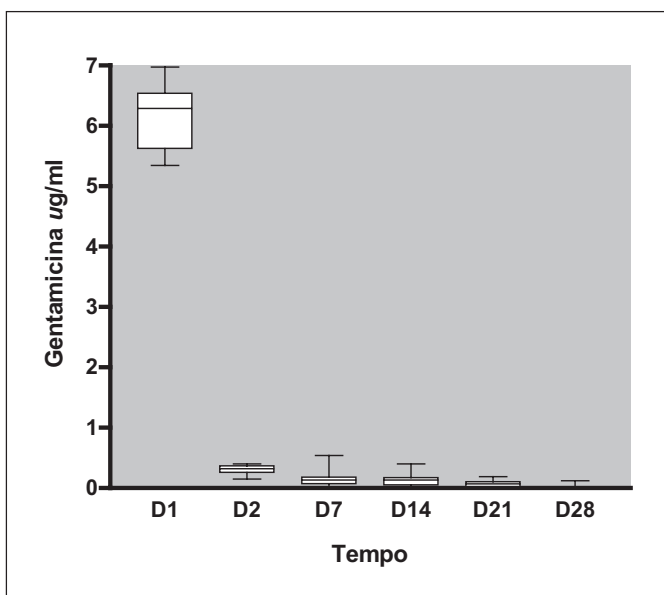


Figura 3 – Gentamicina eluída x tempo (valor máximo / percentil 25, 50, 75 / valor mínimo). D1 > D7, D14, D21 e D28 ($p < 0,001$). D2 > D21, D28 ($p < 0,01$). D7 > D28 ($p < 0,05$). D14 > D28 ($p < 0,05$). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

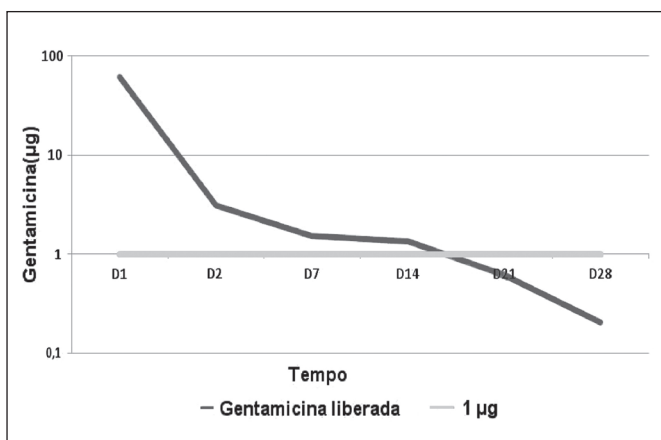


Figura 4 – Total de Gentamicina eluída (Escala logarítmica). Eixo X em 1µg (concentração no tecido ósseo com a administração sistêmica de gentamicina).

A Figura 4 mostra o padrão de eluição da gentamicina, com altas concentrações sendo obtidas nas primeiras 24 horas, seguido de uma queda abrupta no segundo dia. Ocorreu então uma diminuição lenta entre o 2º e o 14º dias e, entre o 14º e o 21º dias, uma nova queda acelerada. Até a segunda semana, o total de gentamicina liberada por cada espaçador foi superior a 1µg (concentração no tecido ósseo esperada com a administração sistêmica de gentamicina).^{23,24}

DISCUSSÃO

Com a administração parenteral de gentamicina na dose padrão recomendada (1,5mg/Kg a cada 8 horas), são conseguidos picos séricos que variam de 5 a 8µg/ml,²⁵ porém estudos experimentais estimaram que as concentrações no tecido ósseo são inferiores a 1µg/ml.^{23,24}

Seldes et al.¹⁶ avaliaram *in vitro* a adição de 480mg de gentamicina líquida ao Palacos R®, utilizando corpos de teste cilíndricos com área de 282,6mm². Nas primeiras 24 horas foram alcançados níveis médios de 26,4µg/ml, caindo para 4,15µg/ml com três semanas.

No presente estudo com a adição de 480mg de gentamicina em pó ao Simplex® e a confecção de corpos de prova com área de 367mm², foram obtidas concentrações de 6,15µg/ml nas primeiras 24 horas, caindo para 0,06 µg/ml na terceira semana. Esta diferença pode ser explicada pelas variações nas condições dos experimentos e ao fato do cimento Simplex® apresentar um desempenho inferior ao Palacos® para a eluição da gentamicina.²⁰

Com base nos resultados obtidos no presente estudo a utilização de 480mg de gentamicina foi capaz de dispersar quantidades superiores a 1µg até o 14º dia. Concentrações maiores e por tempos mais prolongados devem ser esperadas ao se aumentar a quantidade de antibiótico adicionada ao cimento e a quantidade da mistura utilizada.

CONCLUSÃO

A mistura de 480mg de gentamicina em pó a um pacote de 40g de cimento acrílico, apresentou propriedades de eluição previsíveis, mantendo níveis terapêuticos de antibiótico até a segunda semana, sendo portanto uma alternativa para viabilizar a expansão do uso do antibiótico local no tratamento e na profilaxia da infecção óssea.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de São Paulo).

REFERÊNCIAS

1. Stengel D, Bauwens K, Sehoul J, Ekkemkamp A, Porzolt F. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet*. 2001;1:175-88.
2. Lazzarini L, Mader JT, Calhoun J H. Osteomyelitis in long bones. *J Bone Joint Surg Am*. 2004;86:2305-18.
3. Gristina AG, Costerton J W. Bacterial adherence to biomaterials and tissue: the significance of its role in clinical sepsis. *J Bone Joint Surg Am*. 1985;67:264-73.
4. Nelson CL. The current status of material used for depot delivery of drugs. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;(427):72-8.
5. Zalavras C, Patzakis MJ, Holtom P. Local antibiotic therapy in the treatment of open fractures and osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;(427):86-93.
6. Buchholz HW, Elson RA, Engelbrecht E, Lodenkämper H, Röttger J, Siegel A. Management of deep infection of total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br*. 1981;63:342-53.
7. Klemm KW. Antibiotic bead chains. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):63-76.
8. Calhoun JH, Henry SL, Anger DM, Cobos JA, Mader JT. The treatment of infected nonunions with gentamicin- polymethylmethacrylate antibiotic beads. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):23-7.
9. Nelson CL, Evans RP, Blaha JD, Calhoun J, Henry S, Patzakis MJ. A comparison of gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate bead implantation to conventional parenteral antibiotic therapy in infected total hip and knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):96-101.
10. Ostermann PAW, Henry SL, Seligson D. The role of local antibiotic therapy in the management of compound fractures. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):102-11.
11. Christian EP, Bosse MJ, Robb G. Reconstruction of large diaphyseal defects, without free fibular transfer, in grade-IIIB tibial fractures. *J Bone Joint Surg Am*. 1989;72:427-38.
12. Patzakis MJ, Mazur K, Wilkins J, Sherman R, Holtom P. Septopal beads and autogenous bone grafting for bone defects in patients with chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):112-8.
13. Masquelet AC, Fitoussi F, Begue T, Muller GP. Reconstruction des os longs par membrane induite et autogreffe spongieuse. *Ann Chir Plast Esthet*. 2000;45:346-53.
14. Masquelet AC. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch Surg*. 2003;388:344-6.
15. Seeley SK, Seeley JV, Telehowski P, Martin S, Tavakoli M, Colton SL, et al. Volume and surface area study of tobramycin-polymethylmethacrylate beads. *Clin Orthop Relat Res*. 2003;(420):298-303.
16. Seldes RM, Winiarsky R, Jordan LC, Baldini T, Brause B, Zodda F, et al. Liquid gentamicin in bone cement: a laboratory study of a potentially more cost-effective cement spacer. *J Bone Joint Surg Am*. 2005;87:268-72.
17. Hendriks JGE, Van Hornb JR, Van Der Mei HC, Busscher HJ. Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection. *Biomaterials*. 2004;25:545-56.
18. Leeson MC, Steven BL. Thermal aspects of the use of polymethylmethacrylate in large metaphyseal defects in bone: a clinical review and laboratory study. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(295):239-45.
19. Buchholz HW, Elson RA. Antibiotic-loaded acrylic cement: current concepts. *Clin Orthop Relat Res*. 1984;(190):96-108.
20. Nelson CL, Griffin FM, Harrison BH, Cooper RE. In vitro elution characteristics of commercially and noncommercially prepared antibiotic PMMA beads. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;(284):303-9.
21. Fischmann AMA. Guia farmacêutico brasíndice. São Paulo: Andrei Publicações médicas, farmacêuticas e técnicas Ltda; 2008.
22. Jolley ME. Fluorescence polarization immunoassay for the determination of therapeutic drug levels in human plasma. *J Anal Toxicol*. 1981;5:236-40.
23. Wiggins CE, Nelson CL, Clarke R, Thompson CH. Concentration of antibiotics in normal bone after intravenous injection. *J Bone Joint Surg Am*. 1967;60:60-93.
24. Perry CR, Rice S, Ritterbusch JK, Burdge RE. Local administration of antibiotics with an implantable osmotic pump. *Clin Orthop Relat Res*. 1985;(192):284-90.
25. Schafer JA, Hovde LB, Rotschafer JC. Consistent rates of kill of *Staphylococcus aureus* by gentamicin over a 6-fold clinical concentration range in an in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:108-11.