

## Micrométodo para quantificação de cefuroxima em plasma através da cromatografia líquida de alta eficiência. Aplicação na profilaxia de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca

Jorge Willian Leandro Nascimento<sup>1</sup>, Célia Etsuco Omosako<sup>2</sup>, Maria José Carmona<sup>3</sup>,  
José Otávio Auler Junior<sup>3</sup>, Silvia Regina Cavani Jorge Santos<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Farmacologia e Terapêutica, Unidade de Pesquisa Clínica, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Laboratório de Farmacologia, Instituto do Coração Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, <sup>3</sup>Serviço de Anestesiologia, Instituto do Coração Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

*O objetivo desta investigação foi desenvolver metodologia analítica adequada, simples e precisa para quantificação da cefuroxima plasmática para controle de pacientes cirúrgicos em profilaxia com esse antimicrobiano. Realizou-se a quantificação da cefuroxima na matriz biológica através da cromatografia líquida de alta eficiência CLAE-UV. Apenas 200 µL de plasma foram requeridos para a precipitação das proteínas com acetonitrila. Empregou-se coluna de fase reversa (NovaPak C18, 150 x 3,9 mm, 4 µm) e os picos foram eluídos isocraticamente com fase móvel (tampão acetato 0,375 M, pH 5,0 e acetonitrila, 96:4, v/v, 0,8 mL/min) em 12,5 min (cefuroxima) e 4,0 min (vancomicina, padrão interno) sendo os picos monitorados a 280 nm. Os limites de confiança são referidos a seguir: 0,2-100 µg/mL (linearidade, r<sup>2</sup> 0,9963), 0,1 µg/mL (sensibilidade: LD), 98,2% e 96,9% (exatidão intra- e inter-dias), 3,2% e 4,2% (precisão intra- e inter-dias), e boa estabilidade e recuperação (99,2%). A metodologia analítica foi aplicada para quantificação de cefuroxima no plasma de pacientes em profilaxia no período transoperatório de cirurgia cardíaca. Administraram-se 6 g i.v. bolus de cefuroxima nas 24 horas, divididas em 4 doses de 1,5 g; após a última dose no início do pós-operatório tardio, as concentrações plasmáticas médias foram de 108,0 µg/mL (zero), 32,8 µg/mL (3ª hora), 9,9 µg/mL (6ª hora), 3,4 µg/mL (9ª hora) e 0,8 µg/mL (12ª hora). O método analítico descrito mostrou-se simples, rápido e seguro garantindo sensibilidade e seletividade suficientes para a quantificação da cefuroxima plasmática e monitoramento da antibioticoprofilaxia no paciente cirúrgico.*

### Unitermos:

- Cefuroxima
- CLAE-UV
- Profilaxia
- Cirurgia cardíaca

### \*Correspondência:

S. R. C. J. Santos  
Departamento de Farmácia  
FCF-USP  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580  
05389-970 - São Paulo - SP - Brasil  
E-mail: parther@usp.br

## INTRODUÇÃO

O risco de infecção no período pós-operatório é reduzido pelo uso profilático de antibióticos, sendo a esco-

lha do antimicrobiano baseada no tempo de recuperação do paciente (Kriaras *et al.*, 1997; Vuorisalo *et al.*, 1998).

Em concentrações terapêuticas, a cefuroxima é ativa contra *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*,

*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e outros estreptococos, excetuando-se o grupo D. A sensibilidade bacteriana à cefuroxima inclui ainda enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella sp* e *Shigella sp*) e *Staphylococcus aureus* (cepas meticilina-sensíveis) e *Staphylococcus epidermidis* (Dellamonica, 1994). A concentração inibitória mínima (CIM90) deste antimicrobiano varia na faixa de 1-4 mg/mL para a maioria das bactérias sensíveis. Entretanto, dependendo da espécie e da cepa bacteriana, no caso da antibioticoprofilaxia e no tratamento das infecções do trato urinário, ortopedia e traumatologia ou na cirurgia geral, podem ser necessárias concentrações superiores do antimicrobiano circulante (Bundtzen *et al.*, 1981; Kaukonen *et al.*, 1995).

Na revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea e hipotermia, CEC-H, a frequência de infecções por *S. aureus* varia entre 12 e 36,4% (Jacob *et al.*, 2000). Este tipo de complicação é comum em cirurgias cardíacas com CEC-H e está associado a aumento da morbidade e da mortalidade dos pacientes, podendo chegar a 14% das causas do óbito pós-cirúrgico (Trick *et al.*, 2000; El Oakley *et al.*, 1998).

Inúmeros métodos analíticos foram reportados utilizando as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência e a microbiológica para a quantificação de cefuroxima plasmática (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978; Aziz *et al.*, 1978; Bundtzen *et al.*, 1981; Brisson, Fourtellan, 1981; Kaukonen *et al.*, 1995). A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido a escolhida pela seletividade, precisão e linearidade na faixa de trabalho requerida. De forma geral, a quantidade de amostra exigida na realização do ensaio laboratorial, o custo, o tempo para a emissão do laudo e a seletividade são fatores fundamentais e determinantes na escolha do método mais adequado. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi desenvolver método analítico simples, sensível e seguro para a quantificação da cefuroxima plasmática por CLAE-UV, permitindo o monitoramento do paciente cirúrgico em profilaxia com este antimicrobiano.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Procedimento analítico

Determinaram-se os níveis plasmáticos da cefuroxima através da cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa utilizando o detector universal ultravioleta. Efetuou-se a purificação da cefuroxima na matriz biológica (tubo *Eppendorf*, 2 mL) pela precipitação das proteínas plasmáticas, adicionando-se 400 µL de acetonitrila a 200 µL de plasma contendo padrão interno

(vancomicina 2,5 µg/ensaio). Procedeu-se à homogeneização em agitador de tubos horizontal, seguida de centrifugação, 10 000 g por 30 minutos. Volumes de 200 µL do sobrenadante foram transferidos para tubos cônicos de vidro para evaporação completa do solvente, sob corrente de nitrogênio, 37 °C. O resíduo foi dissolvido com 50 µL da fase móvel, transferido para *microvials* e volume de 10 µL submetido à análise cromatográfica através da injeção automática.

Utilizou-se cromatógrafo líquido SHIMADZU, sistema modulado constituído por bomba LC-10 AVP, injetor automático de amostras SIL-10ADVP e detector UV SPD-10A. A análise quantitativa da cefuroxima plasmática foi realizada em sistema cromatográfico constituído por coluna NovaPak® C18 (150 x 3,9 mm, 4 µm) e fase móvel (tampão acetato 0,375 M pH 5,0: acetonitrila, 94:6, v/v) em fluxo de 0,8 mL/min.

Os picos referentes aos compostos eluídos foram monitorados em 280 nm, registrados e a área, integrada por meio de registrador-integrador CR6A SHIMADZU.

A calibração foi obtida a partir da adição de solução padrão estoque 1 mg/mL a alíquotas de plasma humano livres do fármaco (branco de plasma) para fornecer as concentrações na faixa 0-200 µg/mL. Construíram-se as curvas de calibração com base nos dados de concentração plasmática da cefuroxima e a razão da área (fármaco:padrão interno). A linearidade do método foi determinada pela análise de série de padrões, avaliando-se a concentração compreendida entre 0,2 e 200 µg/mL (11 calibradores, n = 3 replicatas). Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados a partir da análise de padrões em replicata (n = 5 para cada limite), considerando-se a razão de sinal 3:1 e 10:1 relativamente ao ruído da linha de base para o LD e LQ, respectivamente.

Para os estudos de recuperação, precisão, exatidão, robustez e estabilidade utilizaram-se 3 concentrações: alta (200 µg/mL), média (12,5 µg/mL) e baixa (0,8 µg/mL).

Determinaram-se as recuperações relativa e absoluta pelo ensaio de replicatas, n = 10, para os padrões nas 3 concentrações distintas. A inexatidão ou erro sistemático foi determinada pela análise de replicatas n = 10 de forma semelhante, sendo expressa em %. Determinou-se a precisão pela análise quantitativa de replicatas n = 5 em 1 dia para a precisão intra-dia e em 3 dias para a precisão inter-dias, sendo expressas através do coeficiente de variação (CV %).

Efetuaram-se ligeiras modificações no sistema cromatográfico, de forma a testar a robustez do método, conforme referidas a seguir: 1) Modificação na fase móvel: tampão acetato 0,375 M pH 5,0: acetonitrila, 95:5 (v/v) em substituição à definida anteriormente; 2) Modificação no fluxo da fase móvel: fluxo (0,7 mL/min) ao invés

de 0,8 mL/min; 3) Utilização de outra coluna analítica de fase reversa: outro lote de NovaPak C18, 150 x 3,9 mm, 4 mm.

Paralelamente à calibração do dia, prepararam-se controles de qualidade internos para a garantia dos resultados obtidos em cada série de análises efetuadas. Amostras de plasma foram adicionadas de cefuroxima nas concentrações de 0,8 µg/mL (baixo); 50 µg/mL (médio); e 200 µg/mL (alto). Para cada lote analisado de amostras dos pacientes, estes controles foram injetados, de forma intercalada com as amostras.

Investigou-se a estabilidade da cefuroxima na matriz biológica ou extratos orgânicos através da avaliação: a) estabilidade do fármaco no extrato seco até 3 horas a temperatura ambiente, previamente à corrida cromatográfica (n = 6); b) estabilidade do fármaco após 3 ciclos de congelamento e descongelamento (n = 9); c) estabilidade de longa duração até 3 meses em congelador, 20 °C negativos (n = 6); d) estabilidade da cefuroxima na bandeja (injetor automático) durante corrida analítica do dia (n = 6). Os resultados dos testes de estabilidade foram expressos através da perda percentual, referente à concentração obtida relativamente ao valor nominal.

### Casuística e Protocolo Clínico

Preconiza-se a antibioticoprofilaxia no paciente cirúrgico utilizando-se o total de 6 g divididas em quatro doses de 1,5 g i.v. de cefuroxima, no transoperatório de revascularização do miocárdio com CEC, conforme detalhado a seguir. Investigaram-se cinco pacientes coronarianos adultos, de ambos os sexos (3M e 2F, 48 anos, 72,4 kg, 1,66 m, 26,2 m<sup>2</sup>, valores médios), com indicação cirúrgica para revascularização do miocárdio com CEC-H. Administraram-se 6 g de cefuroxima em 24 horas (4 x 1,5 g i.v. bolus) através de injeção intravenosa: a 1ª dose foi efetuada no momento da indução anestésica e previamente a incisão; a 2ª dose ao término da CEC-H; a 3ª dose no pós-operatório imediato e a 4ª dose (última dose) no início do pós-operatório tardio, isto é na 24ª hora da indução na sala de operação. Efetuou-se coleta seriada de amostras sanguíneas (3 a 5 mL) após administração da última dose da medicação nos períodos zero (ao término da administração), 3, 6, 9 e 12 horas da injeção em *bolus*. Uma vez que o paciente se encontra anticoagulado com heparina, de forma a se evitar os riscos de tromboembolia e re-infarto, as coletas foram efetuadas em tubo seco contendo gel. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 g durante 20 minutos, o plasma separado e armazenado em congelador (20 °C, negativos) até o momento da análise. A quantificação da cefuroxima nas amostras dos pacientes

foi realizada pela aplicação do método analítico acima detalhado. Todos os pacientes foram informados em detalhes sobre o protocolo de estudo e coleta seriada de amostras sanguíneas, fornecendo o consentimento escrito pós-informação. O protocolo foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética das Instituições envolvidas.

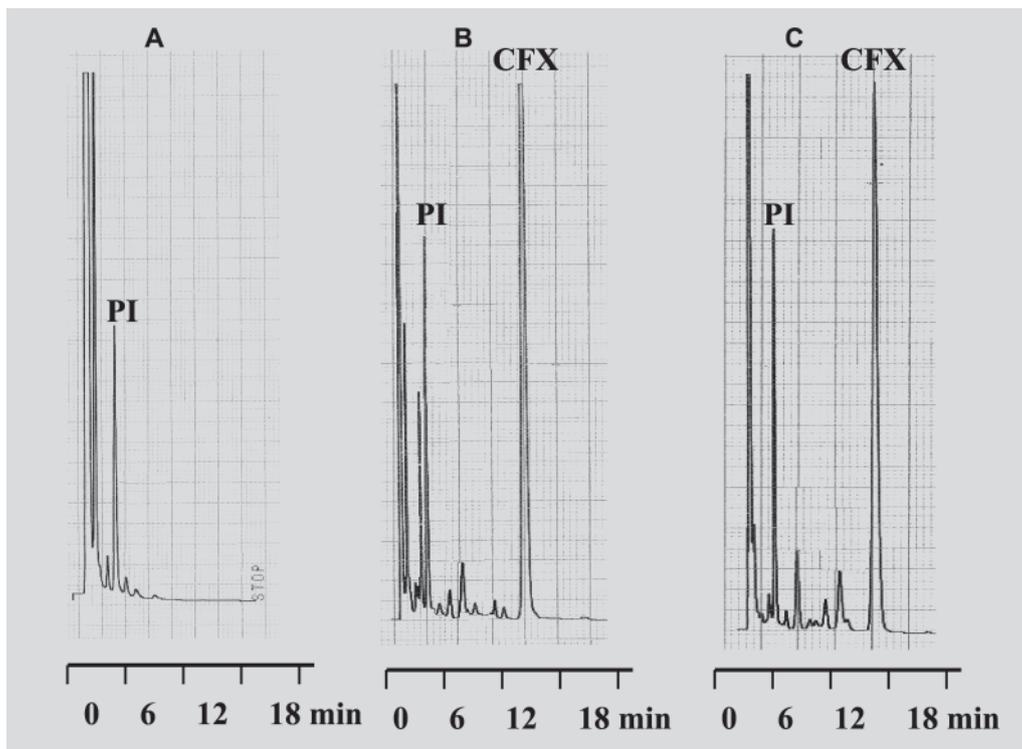
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método analítico descrito no presente estudo foi validado com base nos parâmetros dos limites de confiança para a quantificação da cefuroxima plasmática. A cefuroxima e seu padrão interno foram eluídos da coluna cromatográfica em 12,5 min e 4,8 min, respectivamente (Figura 1), sendo o tempo de corrida exigido para cada análise equivalente a 15 minutos, permitindo a realização de grande número de ensaios diariamente. Este método analítico apresentou alta sensibilidade, 0,1 µg/mL (LD) e 0,2 µg/mL (LQ), linearidade entre 0,2 - 200 µg/mL, recuperação, exatidão e precisão aceitáveis (Tabela I). A curva de calibração para a cefuroxima em plasma foi construída a partir de 11 concentrações, conforme ilustrada na Figura 2.

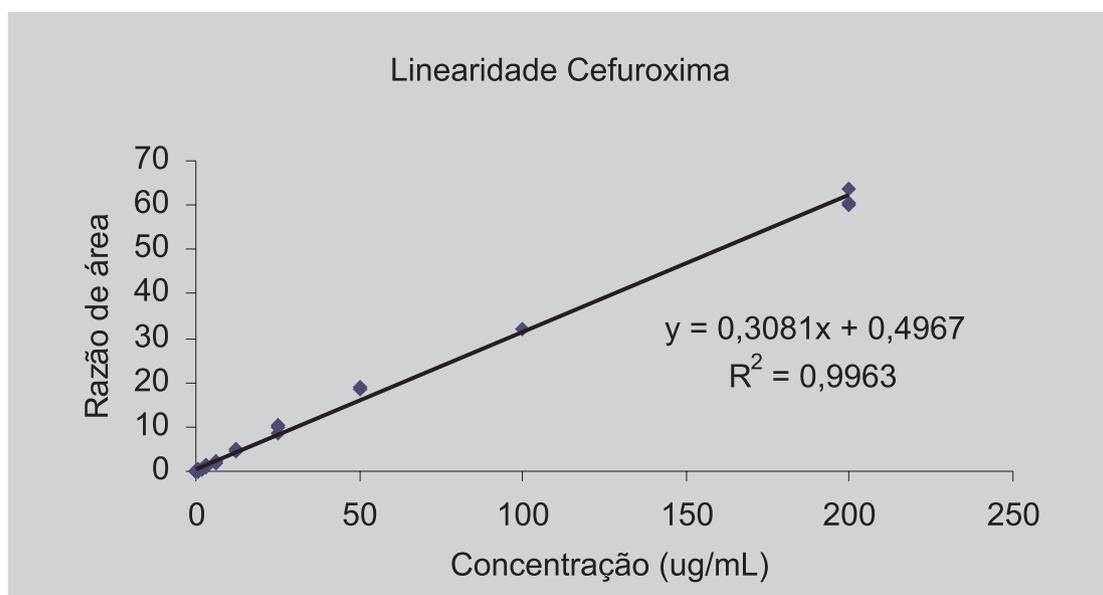
**TABELA I** - Limites de confiança do método analítico para quantificação da cefuroxima plasmática

Parâmetro	Valores Obtidos
Linearidade	0,2 – 200 µg/mL
Regressão linear	r <sup>2</sup> = 0,9963
Limite de detecção	0,1 µg/mL
Limite de quantificação	0,2 µg/mL
Estabilidade	
Ciclo de congelamento (*)	94,9 – 98,4 %
Após 3 meses (*)	96,2 – 100 %
Extrato seco (*)	84,5 – 88,2 %
Na bandeja (*)	94,4 – 96,2 %
Precisão (CV)	
Intra-dia (*)	3,2 %
Inter-dias (*)	4,2 %
Exatidão	
Intra-dia (*)	98,2 %
Inter-dias (*)	96,9 %
Recuperação (*)	99,2 %
Robustez	
Fase móvel (*)	-3,2 %
Fluxo (*)	-5,7 %
Coluna (*)	-5,4 %

(\*) Valores expressos através da média referente às 3 concentrações avaliadas para cada teste: alta (200 µg/mL), média (12,5 µg/mL) e baixa (0,8 µg/mL)



**FIGURA 1** - Perfil cromatográfico CLAE UV da cefuroxime plasmática. (A) Branco de plasma com padrão interno; (B) Padrão de plasma contendo 50 µg/mL; (C) amostra de paciente no transoperatório de revascularização do miocárdio. Tempos de retenção: 4,0 min (padrão interno) e 12,5 min (cefuroxime).



**FIGURA 2** - Curva de calibração para a cefuroxime na faixa de 0,2 a 200 µg/mL, utilizada para avaliação da linearidade, 11 calibradores (n = 3).

A literatura é escassa nos procedimentos analíticos para a quantificação da cefuroxima em matrizes biológicas envolvendo técnicas cromatográficas e não cromatográficas (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978; Aziz *et al.*, 1978; Brisson, Fourtellan, 1981; Bundtzen *et al.*, 1981; Kaukonen *et al.*, 1995), uma vez que a eletroforese capilar (Sciachitano *et al.*, 1994) e a CLAE vêm sendo aplicadas na determinação de inúmeras cefalosporinas em produtos farmacêuticos (Su *et al.*, 1984; Das Gupta, 1984; Fabre *et al.*, 1984; Lorenz *et al.*, 1992).

A utilização da técnica microbiológica reportada para determinação de cefuroxima em plasma apresentou como desvantagem a baixa seletividade e estreita linearidade frente à técnica de CLAE-UV (Bundtzen *et al.*, 1981). Reportaram-se, ainda, dois outros métodos utilizando a técnica de CLAE-UV para a determinação da cefuroxima plasmática, empregando a extração líquido-líquido na purificação da matriz biológica (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978; Brisson, Fourtellan, 1981). Nesses procedimentos exigiu-se o tratamento do plasma com dimetilformamida previamente à CLAE-UV, (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978) ou à 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 (Brisson, Fourtellan, 1981). De forma geral, estes métodos mostraram-se trabalhosos para a garantia da seletividade do método cromatográfico.

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). Previamente à análise cromatográfica, Aziz *et al.* (1978) reportaram 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; este procedimento foi modificado posteriormente por Bundtzen *et al.* (1981) para quantificação de cefuroxima. O uso de outros agentes precipitantes de proteínas foi reportado por Holt *et al.* (1990) e Kaukonen *et al.* (1995), que empregaram o ácido perclórico 4% com desvantagens relativas à vida média da coluna e pH do fluido injetado no sistema cromatográfico. A utilização da acetonitrila na proporção de 2 volumes para 1 de plasma, como precipitante de proteínas plasmáticas, se mostrou eficiente e pouco agressivo ao sistema cromatográfico, conforme descrito no presente estudo.

A escolha da coluna analítica e da fase móvel é crítica e fator determinante da seletividade cromatográfica. Nas décadas de 70-80, utilizaram-se colunas de fase reversa tipo m-bondapack C18, 10  $\mu\text{m}$  (300 x 3,9 mm, diâmetro interno), e fase móvel binária constituída por

mistura de metanol e ácidos fracos, tampões (pH 3,0–7,0) em diversas proporções (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978; Brisson, Fourtellan, 1981; Holt *et al.*, 1990). Posteriormente, substituíram-se aquelas colunas por outras de maior eficiência, como a Spherisorb 5 ODS-2 (150 x 4,6 mm), reportada por Kaukonen *et al.* (1995) e a NovaPak C18, 4  $\mu\text{m}$ , (150 x 3,9 mm), empregada no presente estudo; a fase móvel em ambos os casos foi preparada com tampão fosfato ou acetato e acetonitrila, garantindo-se a seletividade do sistema cromatográfico, boa reprodutibilidade dos resultados e operação do sistema em menor fluxo, relativamente àquelas contendo metanol.

Com relação à sensibilidade da metodologia, os fatores determinantes estão vinculados fundamentalmente à técnica analítica empregada e ao volume de amostra requerido no ensaio. Alguns procedimentos analíticos reportados anteriormente evidenciaram boa sensibilidade (Nilsson-Ehle, Nilsson-Ehle, 1978; Brisson, Fourtellan, 1981), entretanto, volume relativamente grande da matriz biológica foi requerido. Posteriormente, outros procedimentos foram publicados utilizando apenas 0,1-0,2 mL de plasma (Bundtzen *et al.*, 1981; Holt *et al.*, 1990; Kaukonen *et al.*, 1995). Da mesma forma, o micrométodo descrito no presente estudo utilizou volume reduzido da matriz biológica e precipitação de proteínas plasmáticas, mostrando-se seletivo para a análise de cefuroxima, uma vez que não se registraram picos interferentes durante a corrida analítica (Figura 1). A aplicação do método analítico desenvolvido para a quantificação de cefuroxima plasmática nos pacientes cirúrgicos em antibioticoprofilaxia é ilustrada na Figura 3.

Reportou-se anteriormente que a administração intravascular de 750 mg para a cefuroxima mantém níveis plasmáticos acima de 2  $\mu\text{g/mL}$  apenas nas primeiras horas da injeção. Adicionalmente, doses de 1,5 g mantêm níveis circulantes bactericidas no paciente cirúrgico até 4 horas da administração, em decorrência da alta depuração plasmática desse antimicrobiano hidrofílico. A curta meia-vida pode estar prolongada pela co-administração de probenecida, conhecido inibidor da secreção tubular renal (Garton *et al.*, 1997). Como a taxa de ligação do fármaco às proteínas plasmáticas é baixa e o volume de distribuição é pequeno (0,200 L/kg), tem-se recomendado dose suplementar do antimicrobiano para pacientes submetidos à diálise (Emmerson *et al.*, 1988). Adicionalmente, uma vez que a eliminação do fármaco é dependente da função renal, o intervalo entre doses deve ser aumentado para os pacientes portadores de insuficiência renal grave e uremia (Bundtzen *et al.*, 1981).

Se a concentração inibitória mínima (CIM90) deste antimicrobiano no *steady state* é da ordem de 4  $\mu\text{g/mL}$

para a maioria das bactérias, esquemas de dose de 1,5 g, 2 a 4 vezes ao dia têm sido recomendados, durante período de até 48 horas, para a profilaxia das infecções nos pacientes submetidos a cirurgia pulmonar e cardíaca com CEC (Bernard *et al.*, 1994; Wellens *et al.*, 1995; Jakob *et al.*, 2000; Trick *et al.*, 2000): uma série de fatores deve, ainda, ser considerada no pré- e no intra-operatório, tais como escolha do agente antimicrobiano, presença de obesidade e, para os pacientes portadores de diabetes *mellitus*, glicemia: acima de 200 mg/dL (Trick *et al.*, 2000).

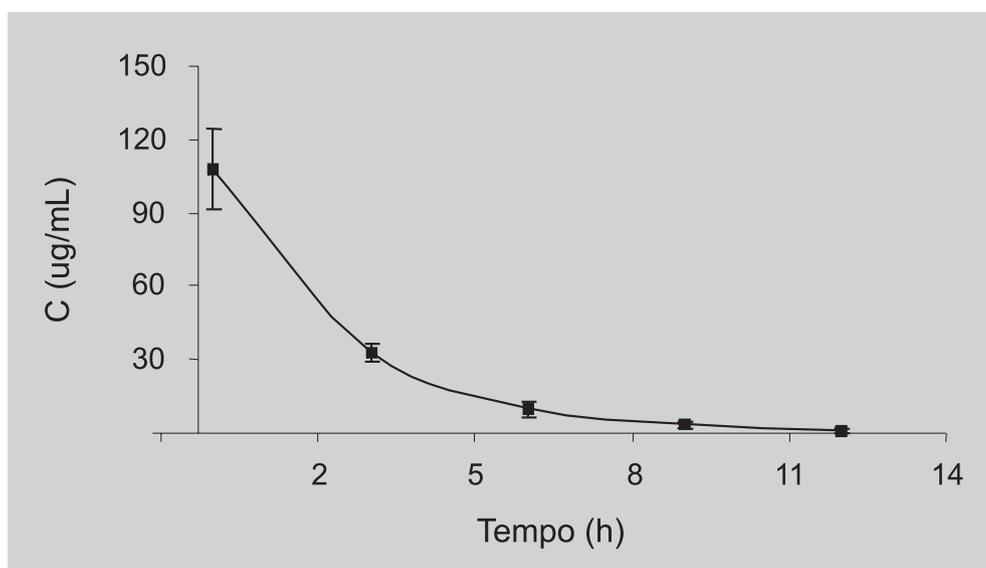
A administração de cefuroxima ou cefazolina, agentes de escolha propostos anteriormente na profilaxia das infecções em cirurgia cardíaca e geralmente administrados em doses de 3 g nas 24 horas (Wellens *et al.*, 1995), foi contestada por Jakob *et al.* (2000), que sugeriram a administração de doses de 1,5 g, 3 vezes ao dia, totalizando 4,5 g diários para os pacientes cirúrgicos submetidos a CEC-H.

No presente estudo, ao paciente coronariano submetido a cirurgia cardíaca com CEC-H, em antibioticoprofilaxia das infecções cirúrgicas, administraram-se 6 g de cefuroxima (4 doses de 1,5 g em 24 horas). Após a administração da 4ª e última dose, no início do pós-operatório tardio, efetuou-se a coleta seriada de sangue, fornecendo os resultados ilustrados na Figura 3.

Evidenciou-se que a cefuroxima administrada ao paciente coronariano, conferiu picos plasmáticos elevados variando entre 85-131 µg/mL, IC95, imediatamente após a injeção da cefuroxima, reduzindo-se rapidamente para concentrações, expressas pelas médias, desvio padrão (IC95%):  $32,8 \pm 3,8$  µg/mL (3ª hora, 28-38 µg/mL),  $9,9 \pm 3,3$  µg/mL

(6ª hora, 5-14 µg/mL),  $3,4 \pm 1,6$  µg/mL (9ª hora, 1-6 µg/mL) e  $0,8 \pm 1,1$  µg/mL (12ª hora, 0-2,4 µg/mL), conforme ilustrado na Figura 3. Baixas concentrações plasmáticas foram registradas precocemente para a cefuroxima, já a partir da 6ª hora; tais resultados não eram esperados pelo esquema de dose utilizado que gerou níveis inferiores aos requeridos na antibioticoprofilaxia (16 µg/mL: 4 x 4 µg/mL, MIC). Conseqüentemente, sugere-se que o esquema terapêutico deva ser reavaliado, para se atingir níveis circulantes adequados e manutenção dos mesmos no intervalo entre doses, de forma a garantir a antibioticoprofilaxia no paciente cirúrgico com a cefuroxima.

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que a metodologia analítica proposta se mostrou seletiva e suficientemente sensível para a detecção de até 0,1 µg/mL, possibilitando determinação dos níveis plasmáticos circulantes bastante baixos para a cefuroxima. Além disso, a linearidade obtida contempla as concentrações encontradas após administração de 1,5 g de cefuroxima i.v., sendo os limites de quantificação e de detecção considerados adequados para o monitoramento da antibioticoprofilaxia no paciente cirúrgico. O método analítico mostrou-se robusto e vantajoso relativamente àqueles reportados na literatura pela sensibilidade, seletividade, rapidez e simplicidade do procedimento, garantindo a realização de grande número de ensaios a custo reduzido. Complementarmente, a aplicação do método evidenciou baixas concentrações para a cefuroxima circulante no paciente cirúrgico (1º PO), inferiores aos níveis profiláticos requeridos.



**FIGURA 3** - Níveis plasmáticos de cefuroxima no pós-operatório de cirurgia cardíaca após administração da 4ª dose (1º PO tardio), concentrações médias e desvios padrão, n = 5.

**ABSTRACT****Micromethod for plasma cefuroxime quantification through high performance liquid chromatography. Application to the prophylaxy of patients submitted to cardiac surgery**

*An improved, simple, selective and sensitive micromethod based on HPLC-UV is described to determine cefuroxime plasma levels, a second generation cephalosporin. Once changes on pharmacokinetics of drugs in patients submitted to heart surgery with cardiopulmonary bypass and hypothermia (CPB-H) were reported previously, the objective of the present study was to investigate cefuroxime plasma levels for antimicrobial prophylaxis of infections in those patients after surgery using HPLC-UV. Only 200 µL of plasma were required, and cefuroxime was determined by a chromatographic method using reversed phase system, after a simple clean up of plasma samples. Peaks monitored at 280 nm were eluted isocratically at 12.5 min (cefuroxime) and at 4.0 min (vancomycin, internal standard,) from a 4 µm, NovaPak column (150 x 3.9 mm) using a binary mobile phase at flow rate 0.8 mL/min, consisting of 0.375 M acetate buffer, pH 5,0 and acetonitrile, 96:4 (v/v). The method validated with basis of parameters evaluated for the confidence limits of cefuroxime measurements in spiked blank plasma, presents 0.1 µg/mL sensitivity, 0.2 – 200 µg/mL linearity, ( $r^2$  0.998), systematic error of 98.2% and 96.9% (intra- and interday accuracy), intra- and interday precision (CV %: 3.2 % and 4.2 %). A good stability and high percentage of recovery (99.2%) were obtained. Patients received cefuroxime 6 g i.v. bolus (1,5 g, 4 times in 24 hours), showed in the first postoperative day plasma levels of 108.0 µg/mL (zero), 32.8 µg/mL (3<sup>rd</sup> h), 9.9 µg/mL (6<sup>th</sup> h), 3.4 µg/mL (9<sup>th</sup> h) and 0.8 µg/mL (12<sup>th</sup> h), after the last dose.*

**UNITERMS:** Cefuroxime. Plasma. HPLC-UV. Prophylaxis. Heart surgery.

**AGRADECIMENTOS**

À FAPESP, pelo auxílio à pesquisa concedido para este projeto (processo 01/ 02613-2), e ao CNPq (processo 141518/2000-6), pela bolsa DT e a Valéria Adriana Pereira, doutoranda FBC-FCFUSP, pela colaboração na parte gráfica e revisão deste manuscrito.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AZIZ, N. S.; GAMBERTOGLIO, J. G.; LIN, E. T.; GRAUSZ, H.; BENET, L. Z. Pharmacokinetics of cefamandole using a HPLC assay. *J. Pharm. Biopharm.*, Shannon, v.6, n.2, p.153-164, 1978.
- BERNARD, A.; PILLET, M.; GOUDET, P.; VIARD, H. Antibiotic prophylaxis in pulmonary surgery: a prospective randomized double-blind trial of flash cefuroxime versus forty-eight-hour cefuroxime. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, Saint Louis, v.107, n.3, p.896-900, 1994.
- BRISSON, A. M.; FOURTILLAN, J. B. Determination of cephalosporins in biological material by reversed-phase liquid column chromatography. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v.223, p.393-399, 1981.
- BUNDTZEN, R. W.; TOOTHAKER, R. D.; NIELSON, O. S.; MADSEN, P. O.; WELLING, P. G.; CRAIG, W. A. Pharmacokinetics of cefuroxime in normal and impaired renal function: comparison of high-pressure liquid chromatography and microbiological assays. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Washington, v.19, n.3, p.443-449, 1981.
- DAS GUPTA, V. Stability of cefotaxime sodium as determined by high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.*, New York, v.73, n.4, p.565-567, 1984.
- DELLAMONICA, P. Cefuroxime axetil. *Int. J. Antimicrob. Agents*, Amsterdam, v.4, n.1, p.23-36, 1994.
- EL OAKLEY, R.; PAUL, E.; WONG, P. S. Mediastinitis in patients undergoing cardiopulmonary bypass: risk analysis and midterm results. *J. Cardiovasc. Surg.*, Torino, v.38, p.595-600, 1998.
- EMMERSON, A. M. Cefuroxime axetil. *J. Antimicrob. Chemother.*, Oxford, v.22, n.2, p.101-104, 1988.
- FABRE, H.; EDDINE, N. H.; BERGE, G. Degradation kinetics in aqueous solution of cefotaxime sodium, a third-generation cephalosporin. *J. Pharm. Sci.*, New York, v.73, n.5, p.611-739, 1984.

- GARTON, A. M.; RENNIE, R. P.; GILPIN, J.; MARRELLI, M.; SHAFRAN, S. D. Comparison of dose doubling with probenecid for sustaining serum cefuroxime levels. *J. Antimicrob. Chemother.*, Oxford, v.40, n.6, p.903-906, 1997.
- HOLT, D. E.; LOUVOIS, J.; HURLEY, R.; HARVEY, D. A high performance liquid chromatography system for the simultaneous assay of some antibiotics commonly found in combination in clinical samples. *J. Antimicrob. Chemother.*, Oxford, v.26, p.107-115, 1990.
- JACOB, H. G.; 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. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.*, Heidelberg, v.17, p.154-160, 2000.
- KAUKONEN, J. P.; TUOMAINEN, P.; MAKIJARVI, J.; MOKKA, R.; MANNISTO, P. T. Intravenous cefuroxime prophylaxis. *Acta Orthop. Scand.*, Copenhagen, v.66, n.1, p.14-16, 1995.
- KRIARAS, I.; MICHALOPOULOS, A.; MICHALIS, A.; PALATIANOS, G.; ECONOMOPOULOS, G.; ANAGNOSTOPOULOS, C.; GEROULANOS, S. Antibiotic prophylaxis in cardiac surgery. *J. Cardiovasc. Surg.*, Torino, v.38, n.6, p.605-610, 1997.
- LORENZ, L. J.; BASHORE, F. N.; OLSEN, B. A. Determination of process-related impurities and degradation products in cefaclor by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.*, Niles, v.30, p.211-216, 1992.
- NILSSON-EHLE, I.; NILSSON-EHLE, P. Liquid chromatographic assay of cefuroxime in serum. *Clin. Chem.*, Washington, v.24, n.2, p.365-367, 1978.
- PERRY, C. M.; BROGDEN, R. N. Cefuroxime axetil: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, Auckland, v.52, n.1, p.125-158, 1996.
- SCIACCHITANO, C. J.; MOPPER, B.; SPECCHIO, J. Identification and separation of five cephalosporins by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.*, Amsterdam, v.657, n.2, p.395-399, 1994.
- SU, K. S. E.; QUAY, J. F.; CAMPANALE, K. M.; STUCKY, J. F. Nonaqueous cephalosporin suspension for parenteral administration: cefazolin sodium. *J. Pharm. Sci.*, New York, v.73, n.11, p.1602-1606, 1984.
- TARTAGLIONE, T. A.; POLK, R. E. Review of the new second-generation cephalosporins: cefonicid, ceforanide, and cefuroxime. *Drug Intell. Clin. Pharm.*, Hamilton, v.19, n.3, p.188-198, 1985.
- TRICK, W. E.; SCHECKLER, W. E.; TOKARS, J. I.; JONES, K. C.; RAPPEN, M. L.; SMITH, E. M.; JARVIS, W. R. Modifiable risk factors associated with deep sternal site infection after coronary artery bypass grafting. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, Saint Louis, v.119, p.108-114, 2000.
- VUORISALO, S.; POKELA, R.; SYRJÄLÄ, H. Comparison of vancomycin and cefuroxime for infection prophylaxis in coronary artery bypass surgery. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, Thorofare, v.19, n.4, p.234-239, 1998.
- WELLENS, F.; PIRLET, M.; LARBUISSON, R.; DE MEIRELEIRE, F.; DE SOMER, P. Prophylaxis in cardiac surgery: a controlled randomized comparison between cefazolin and cefuroxime. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.*, Heidelberg, v.9, n.6, p.325-329, 1995.

Recebido para publicação em 30 de agosto de 2002.