

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



**VALORACIÓN DE LA PERFUSIÓN REGIONAL DE LA
PORCIÓN DISTAL DE LA EXTREMIDAD ANTERIOR
DEL CABALLO CON VANCOMICINA:
ESTUDIO EXPERIMENTAL**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR**

Luis Manuel Rubio Martínez

Bajo la dirección de los Doctores:
Fidel San Román Ascaso
Francisco Javier López San Román
Antonio Cruz Madorrán

Madrid, 2004

ISBN: 84-669-2690-9



Tesis doctoral

**VALORACIÓN DE LA PERFUSIÓN REGIONAL DE LA
PORCIÓN DISTAL DE LA EXTREMIDAD ANTERIOR DEL
CABALLO CON VANCOMICINA. ESTUDIO EXPERIMENTAL**

Luis Manuel Rubio Martínez

Directores:

Dr. Fidel San Román Ascaso

Dr. Francisco Javier López San Román

Dr. Antonio Cruz Madorrán

Facultad de Veterinaria

Universidad Complutense de Madrid

2004

D. Fidel San Román Ascaso, Doctor en Veterinaria y Catedrático de Cirugía del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad Complutense de Madrid,
D. Francisco Javier López San Román, Doctor en Veterinaria y Profesor Titular del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad Complutense de Madrid, y,
D. Antonio Cruz Madorrán, Doctor en Veterinaria, que ocupa el puesto de Assistant Professor in the Department of Clinical Studies of the Ontario Veterinary College, de la Universidad de Guelph, Canadá.

Certifican:

Que **D. Luis Manuel Rubio Martínez**, licenciado en Veterinaria por la Universidad de Zaragoza, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo experimental titulado **“VALORACIÓN DE LA PERFUSIÓN REGIONAL DE LA PORCIÓN DISTAL DE LA EXTREMIDAD ANTERIOR DEL CABALLO CON VANCOMICINA. ESTUDIO EXPERIMENTAL”**, que ha sido desarrollado en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid, para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

El trabajo reúne, a nuestro juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarios para que pueda ser sometido a su lectura y defensa ante la comisión correspondiente.

Madrid, a 25 de abril de 2004.

Fdo. F San Román Ascaso

Fdo. F J López San Román

Fdo. A Cruz Madorrán

A mis padres y hermanos

Agradecimientos

A mi director **Fidel San Román Ascaso**, por haber contestado a mi carta en el año 1998 ofreciéndome a posibilidad de realizar el doctorado con él, por su disposición, su criterio y su ánimo.

A mi director, **Javier López San Román**, por su disposición, cooperación y ayuda constante, por su compañerismo, guía y amistad.

A mi director **Antonio Cruz Madorrán**, por su disposición y por haber mantenido una posición tan crítica en todo momento. Por su ayuda y su comprensión, haciendo que la distancia no fuera un problema.

A **Martín Santos** y al resto de miembros del **equipo anestésico**, por su disposición y ayuda en el desarrollo experimental.

A **Manuel San Andrés**, a **Casilda Rodríguez** y a **Carlos Ballesteros**, por su disposición y ayuda en la parte farmacológica de este trabajo.

A **Eva**, por su apoyo constante y su ánimo en los momentos buenos y malos.

A los **alumnos internos** de Cirugía de Équidos, por su disposición, interés y ayuda en el desarrollo experimental y en la recolección de tantas muestras.

A **Consuelo Serres**, por su cooperación y ayuda para conseguir animales de experimentación, aspecto altamente difícil en estos trabajos.

Al **P.A.S. del Hospital Clínico Veterinario**, especialmente del área de caballos, técnicos de radiología y de laboratorio clínico.

Al **P.A.S. de la Biblioteca y Hemeroteca**, por su paciencia y simpatía.

A **Santiago Cano** y **Pedro Cuesta**, por su ayuda con el estudio estadístico de los resultados.

A **Jorge**, a **Rubén** y a **Mofli**, por su amistad, ayuda y compañerismo.

A **Elena** y **Javi**, por su amistad y por haberme hecho más agradable la vida en Madrid.

A mis **abuelos**, por haberme transmitido el interés por esta profesión.

A mis **padres**, a mis **hermanos** y a **Arancha**, por haber estado a mi lado desde el principio y haberme animado en todo momento.

A la **Unidad Docente de Cirugía** del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de esta Facultad, por su apoyo económico sin el cuál este trabajo no se podría haber realizado.

Luis

• Índice

Índice	<i>i</i>
Abreviaturas	<i>iv</i>
Índice de figuras	<i>vi</i>
Índice de tablas	<i>viii</i>
Resumen	<i>xi</i>
Summary	<i>xiii</i>
Revisión bibliográfica	<i>1</i>
<hr/>	
1. Infecciones ortopédicas en los equinos	<i>2</i>
1.1 Fisiopatología de la artritis infecciosa.	<i>2</i>
1.2 Fisiopatología de la infección ósea.	<i>5</i>
1.3 Epidemiología de las infecciones ortopédicas	<i>7</i>
2. Microbiología de la infecciones ortopédicas en los equinos.....	<i>12</i>
2.1 Etiología microbiana.	<i>12</i>
2.2 Sensibilidad a antibióticos.	<i>16</i>
2.3 Estafilococos meticilina-resistentes.	<i>20</i>
3. Tratamiento quirúrgico de las infecciones ortopédicas	<i>23</i>
4. Antibioterapia de las infecciones ortopédicas.....	<i>24</i>
4.1 Principios generales de la antibioterapia.	<i>25</i>
4.2 Factores que determinan la sensibilidad o resistencia de los microorganismos	<i>26</i>
4.3 Parámetros de eficacia de la actividad antimicrobiana de los antibióticos	<i>28</i>
4.4 Efectos persistentes de los antibióticos	<i>29</i>
4.5 Actividad antimicrobiana de algunos grupos de antibióticos	<i>30</i>
4.6 Vías de administración de los antibióticos	<i>32</i>
4.6.1 Antibioterapia sistémica	<i>32</i>
4.6.2 Antibioterapia loco-regional	<i>34</i>
4.6.2.1 Infiltración local directa. Administración intraarticular	<i>34</i>
4.6.2.2 Implantes de liberación lenta no biodegradables. Polimetilmetacrilato	<i>35</i>
4.6.2.3 Implantes de liberación lenta biodegradables	<i>36</i>
4.6.2.4 Bombas de infusión mantenida	<i>37</i>
4.7 Perfusión regional con antibióticos.....	<i>37</i>
4.7.1 Historia de la perfusión regional	<i>37</i>
4.7.2 Características de la perfusión regional	<i>38</i>
4.7.3 Torniquetes. Tipos y características	<i>38</i>
4.7.4 Técnicas de realización	<i>39</i>
4.7.5 Distribución de la solución infundida	<i>42</i>
4.7.6 Dosificación	<i>42</i>
4.7.7 Complicaciones de la perfusión regional	<i>43</i>
4.7.8 Eficacia de la perfusión regional	<i>44</i>

5 Vancomicina.....	47
5.1 Características fisico-químicas.....	47
5.2 Actividad antibacteriana.....	47
5.3 Mecanismo de acción. Resistencias.....	48
5.4 Actividad bactericida de la vancomicina en aerobiosis y anaerobiosis.....	48
5.5 Farmacocinética.....	49
5.6 Toxicología. Efectos adversos.....	49
5.7 Aplicación clínica. Normas de utilización.....	51
5.8 Parámetros de eficacia de la actividad bactericida.....	53
5.9 Efectos persistentes.....	54
Justificación y objetivos.....	55
• Justificación.....	56
• Objetivos.....	57
Materiales y métodos.....	58
• Animales.....	59
• Materiales.....	60
• Métodos.....	63
1. Método experimental.....	63
2. Método de seguimiento clínico y radiológico.....	70
2.1 Seguimiento clínico.....	70
2.1.1 A nivel loco-regional.....	70
2.1.2 A nivel sistémico.....	71
2.2 Seguimiento radiológico.....	71
2.3 Agrupación de los resultados clínicos.....	71
3. Método de determinación de los niveles de vancomicina.....	73
3.1 Procesamiento y análisis de las muestras.....	73
3.2 Agrupación de los resultados farmacológicos.....	74
4. Estudio estadístico de los resultados.....	76
4.1 Resultados clínicos.....	76
4.2 Resultados farmacológicos.....	77
Resultados.....	78
1. Resultados clínicos y radiológicos.....	79
1.1 Resultados clínicos regionales.....	79
1.1.1 Observaciones clínicas individuales.....	80
1.1.2 Observaciones clínicas agrupadas. Estadística descriptiva.....	84
1.1.3 Estudio estadístico de Kolmogorov-Smirnov.....	86
1.1.4 Representaciones gráficas de los parámetros clínicos.....	91
1.2 Resultados clínicos a nivel sistémico.....	97
1.2.1 Efectos adversos derivados del torniquete.....	97
1.2.2 Efectos adversos derivados de la vancomicina.....	97
1.3 Observaciones radiológicas.....	98
2. Resultados farmacológicos.....	99
2.1 Niveles de vancomicina individuales.....	99
2.2 Niveles de vancomicina agrupados. Estadística descriptiva.....	102
2.3 Comparación de los estudios experimentales intravenoso e intraóseo.....	103
2.3.1 Articulación metacarpofalángica.....	105
2.3.2 Articulación interfalángica distal.....	108
2.3.3 Médula ósea de primera falange.....	111
2.3.4 Sangre sistémica.....	113

2.4 Comparación de los niveles de vancomicina entre articulaciones.....	116
2.4.1 Estudio intravenoso	116
2.4.2 Estudio intraóseo	119
2.5 Estudio de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia	122
2.5.1 Determinación de los parámetros	122
2.5.2 Comparación de los estudios experimentales intravenoso e intraóseo	125
<i>Discusión</i>	127
<hr/>	
1. Discusión de los resultados clínicos y radiológicos	128
2. Discusión de los resultados farmacológicos	137
<i>Conclusiones</i>	148
<hr/>	
<i>Referencias bibliográficas</i>	150
<hr/>	

• *Abreviaturas por orden alfabético*

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AUC_t	Área bajo la curva desde tiempo 0 hasta tiempo t.
C-	Coagulasa-negativa
C+	Coagulasa-positiva
C_{max}	Concentración máxima
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CTL	Control
DLPMO	Dorsolateral-palmaromedial oblicua
DMPLO	Dorsomedial-palmarolateral oblicua
DP	Dorsopalmar
DT	Desviación típica
EPA	Efecto post-antibiótico
EPA-SCMI	Efecto post-antibiótico a concentraciones de antibiótico inferiores a CMI
FPIA	Inmunoensayo de polarización de la fluorescencia
G-	Gram-negativo
G+	Gram-positivo
IFD	Articulación interfalángica distal
IO	Intraósea
IV	Intravenosa
LM	Lateromedial
MENCA	Calor a la palpación en la articulación metacarpofalángica o menudillo
MENEF	Efusión sinovial de la articulación metacarpofalángica o menudillo
MENSE	Sensibilidad a la palpación de la articulación metacarpofalángica o menudillo
mg	Miligramo
min	Minutos
ml	Mililitro
MO	Médula ósea de primera falange
MTCF	Articulación metacarpofalángica
MTCIII	Hueso metacarpiano III
PI	Punto de infusión
PIDE	Descarga del punto de infusión
PIF	Inflamación del punto de infusión
PISE	Sensibilidad a la palpación del punto de infusión
PMMA	Polimetilmetacrilato
PR	Perfusión regional
PRIO	Perfusión regional intraósea
PRIV	Perfusión regional intravenosa
PV	Presión venosa
PVM	Presión venosa máxima
RCP	Reacción en cadena de la polimerasa
RLPA	Refuerzo leucocitario post-antibiótico
RM	Resistente a la meticilina o meticilina-resistente

rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundos
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
SHR	Síndrome del hombre rojo
SS	Sangre sistémica
SxT	Combinación de sulfamida más trimetoprim
T>CMI	Tiempo durante el cuál la concentración de antibiótico permanece por encima de la concentración mínima inhibitoria
UI	Unidades Internacionales
VCM	Vancomicina
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> con sensibilidad intermedia a la vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la vancomicina

• Índice de figuras

Fig. 1.	Aparato de rayos portátil.	62
Fig. 2.	Clorhidrato de vancomicina.	62
Fig. 3.	Catéter de teflón 22G x 25 mm. Estudio IV.	62
Fig. 4.	Tornillo de cortical canulado. Estudio IO.	62
Fig. 5.	Bomba de infusión. Estudio IV.	62
Fig. 6.	Sistema de infusión manual. Estudio IO.	62
Fig. 7.	Cateterización vena digital palmar. Estudio IV.	68
Fig. 8.	Abordaje cavidad medular de primera falange. Estudio IV.	68
Fig. 9.	Aplicación de venda de Esmarch. Estudio IV.	68
Fig. 10.	Aplicación de torniquete. Estudio IV.	68
Fig. 11.	Sistema de perfusión regional intravenoso.	68
Fig. 12.	Recogida de muestras sinoviales y medular. Estudio IV.	68
Fig. 13.	Labrado de rosca en MTCIII. Estudio IO.	69
Fig. 14.	Inserción de tornillo canulado en MTCIII. Estudio IO.	69
Fig. 15.	Abordaje cavidad medular de primera falange. Estudio IO.	69
Fig. 16.	Aplicación de venda de Esmarch. Estudio IO.	69
Fig. 17.	Retirada de venda de Esmarch. Estudio IO.	69
Fig. 18.	Toma de muestras sinoviales y medular. Estudio IO.	69
Fig. 19.	COJERA, estudio IV.	92
Fig. 20.	COJERA, estudio IO.	92
Fig. 21.	COJERA, grupos VCM.	92
Fig. 22.	COJERA, grupos CTL.	92
Fig. 23.	MENEF, estudio IV.	93
Fig. 24.	MENEF, estudio IO.	93
Fig. 25.	MENEF, grupos VCM.	93
Fig. 26.	MENEF, grupos CTL.	93
Fig. 27.	MENCA, estudio IV.	94
Fig. 28.	MENCA, estudio IO.	94
Fig. 29.	MENCA, grupos VCM.	94
Fig. 30.	MENCA, grupos CTL.	94
Fig. 31.	MENSE, estudio IV.	95
Fig. 32.	MENSE, estudio IO.	95
Fig. 33.	MENSE, grupos VCM.	95
Fig. 34.	MENSE, grupos CTL.	95
Fig. 35.	PIF, estudio IO.	96
Fig. 36.	PIDE, estudio IO.	96
Fig. 37.	PISE, estudio IO.	96
Fig. 38.	Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en MTCF.	107
Fig. 39.	Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en IFD.	110
Fig. 40.	Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en MO.	112

Fig. 41.	Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en SS.	115
Fig. 42.	Evolución en el tiempo de las concentraciones sinoviales de vancomicina. Estudio IV.	118
Fig. 43.	Evolución en el tiempo de las concentraciones sinoviales de vancomicina. Estudio IO.	121

• Índice de tablas

Tabla 1.	Prevalencia de los diferentes microorganismos etiológicos en las infecciones ortopédicas de los caballos.....	12
Tabla 2.	Sensibilidad antibiótica de los microorganismos etiológicos más frecuentes en las infecciones ortopédicas de los caballos.....	17
Tabla 3.	Sensibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus</i> spp. aislados de infecciones ortopédicas equinas.....	17
Tabla 4.	Protocolo de recogida de muestras para medición de niveles de vancomicina.....	67
Tabla 5.	Momentos de las observaciones clínicas.	79
Tabla 6.	Cojera, grupo IV-VCM.	80
Tabla 7.	Cojera, grupo IV-CTL.	80
Tabla 8.	Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IV-VCM.	80
Tabla 9.	Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IV-CTL.	80
Tabla 10.	Calor en menudillo (MENCA), grupo IV-VCM	80
Tabla 11.	Calor en menudillo (MENCA), grupo IV-CTL.	80
Tabla 12.	Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IV-VCM.	81
Tabla 13.	Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IV-CTL.	81
Tabla 14.	Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IV-VCM.	81
Tabla 15.	Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IV-CTL.	81
Tabla 16.	Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IV-VCM.	81
Tabla 17.	Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IV-CTL.	81
Tabla 18.	Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IV-VCM.	82
Tabla 19.	Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IV-CTL.	82
Tabla 20.	Cojera, grupo IO-VCM.	82
Tabla 21.	Cojera, grupo IO-CTL.	82
Tabla 22.	Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IO-VCM.	82
Tabla 23.	Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IO-CTL.	82
Tabla 24.	Calor en menudillo (MENCA), grupo IO-VCM.	83
Tabla 25.	Calor en menudillo (MENCA), grupo IO-CTL.	83
Tabla 26.	Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IO-VCM.	83
Tabla 27.	Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IO-CTL.	83
Tabla 28.	Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IO-VCM.	83
Tabla 29.	Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IO-CTL.	83
Tabla 30.	Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IO-VCM.	84
Tabla 31.	Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IO-CTL.	84
Tabla 32.	Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IO-VCM.	84
Tabla 33.	Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IO-CTL.	84
Tabla 34.	Valores estadísticos descriptivos de los parámetros clínicos COJERA y los referentes al menudillo.	85

Tabla 35.	Valores estadísticos descriptivos de los parámetros clínicos referentes al punto de infusión del estudio IO.	86
Tabla 36.	Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor vía de administración IV.	87
Tabla 37.	Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor vía de administración IO.	88
Tabla 38.	Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor grupo VCM.	89
Tabla 39.	Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor grupo CTL.	90
Tabla 40.	Test Kolmogorov-Smirnov para los parámetros del punto de infusión. Estudio IO.	91
Tabla 41.	Urea plasmática (mg/ml), grupo IV-VCM.	97
Tabla 42.	Urea plasmática (mg/ml), grupo IV-CTL.	97
Tabla 43.	Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IV-VCM.	97
Tabla 44.	Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IV-CTL.	97
Tabla 45.	Urea plasmática (mg/ml), grupo IO-VCM.	98
Tabla 46.	Urea plasmática (mg/ml), grupo IO-CTL.	98
Tabla 47.	Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IO-VCM.	98
Tabla 48.	Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IO-CTL.	98
Tabla 49.	Concentraciones de vancomicina individuales ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IV.	100
Tabla 50.	Concentraciones de vancomicina individuales ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IO.	101
Tabla 51.	Estadística descriptiva de las concentraciones de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IV.	102
Tabla 52.	Estadística descriptiva de las concentraciones de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IO.	103
Tabla 53.	Efectos intra-sujetos globales en MTCF.	105
Tabla 54.	Efectos intrasujetos sobre los intervalos intermuestreo en MTCF.	105
Tabla 55.	Concentración media de vancomicina en MTCF; estudios IV e IO.	106
Tabla 56.	Efecto inter-sujeto global, MTCF.	106
Tabla 57.	Test <i>t</i> de Student, MTCF.	107
Tabla 58.	Efectos intra-sujetos globales en IFD.	108
Tabla 59.	Efectos intrasujetos sobre los intervalos intermuestreo en IFD.	108
Tabla 60.	Concentración media de vancomicina en IFD; estudios IV e IO.	109
Tabla 61.	Efecto inter-sujeto global, IFD.	109
Tabla 62.	Test <i>t</i> de Student, IFD.	110
Tabla 63.	Efectos intra-sujetos globales en MO.	111
Tabla 64.	Efectos intrasujetos sobre los intervalos intermuestreo en MO.	111
Tabla 65.	Concentración media de vancomicina en MO; estudios IV e IO.	112
Tabla 66.	Efecto inter-sujeto global, MO.	112
Tabla 67.	Test <i>t</i> de Student, MO	113
Tabla 68.	Efectos intra-sujetos globales en SS.	113
Tabla 69.	Efectos intrasujetos sobre los intervalos intermuestreo en SS.	113
Tabla 70.	Concentración media de vancomicina en SS; estudios IV e IO.	114
Tabla 71.	Efecto inter-sujeto global, SS.	114
Tabla 72.	Test <i>t</i> de Student, SS	115
Tabla 73.	Efectos sobre la evolución global de la concentración sinovial de vancomicina. Estudio IV	116
Tabla 74.	Efectos sobre los intervalos intermuestreo. Estudio IV.	116
Tabla 75.	Concentración media de vancomicina. Estudio IV	117
Tabla 76.	Efecto del factor articulación sobre la concentración global de vancomicina. Estudio IV.	117
Tabla 77.	Estadística descriptiva. Estudio IV.	118
Tabla 78.	Test <i>t</i> de Student, estudio IV.	119

Tabla 79.	Efectos sobre la evolución global de la concentración sinovial de vancomicina. Estudio IO.	119
Tabla 80.	Efectos sobre los intervalos intermuestreo. Estudio IO.	119
Tabla 81.	Concentración media de vancomicina. Estudio IO.	120
Tabla 82.	Efecto del factor articulación sobre la concentración global de vancomicina. Estudio IO.	120
Tabla 83.	Estadística descriptiva. Estudio IO.	121
Tabla 84.	Test <i>t</i> de Student, estudio IO.	122
Tabla 85.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF, estudio IV.	123
Tabla 86.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO, estudio IV.	123
Tabla 87.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD, estudio IV.	123
Tabla 88.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS, estudio IV.	123
Tabla 89.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF, estudio IO.	124
Tabla 90.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO, estudio IO.	124
Tabla 91.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD, estudio IO.	124
Tabla 92.	Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS, estudio IO.	124
Tabla 93.	Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF.	125
Tabla 94.	Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD.	125
Tabla 95.	Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO.	125
Tabla 96.	Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS.	126

• **Resumen**

El aislamiento de microorganismos que muestran alto grado de resistencia a la mayor parte de los antibióticos utilizados de forma rutinaria, como agentes responsables de infecciones ortopédicas en los caballos, está originando la introducción de otros quimioterápicos en la medicina equina. Tal es el caso de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), agente habitualmente asociado a las infecciones ortopédicas de origen iatrogénico en personas, cuya prevalencia en las infecciones equinas está en aumento. SARM presenta sensibilidad a la vancomicina, sustancia asociada con numerosos efectos adversos.

El empleo de sistemas de administración loco-regional de antibióticos, como la perfusión regional (PR), representa una pieza clave en el tratamiento de las infecciones del sistema musculoesquelético.

El objetivo de este trabajo es la valoración clínica y farmacológica de la administración de vancomicina por PR como posible herramienta terapéutica para el tratamiento de las infecciones por microorganismos multi-resistentes que presentan sensibilidad a la vancomicina. Se utilizaron 12 caballos con una edad media (valor medio \pm desviación típica) de $10 \pm 5,67$ años y peso medio (valor medio \pm desviación típica) de $419,17 \pm 43,04$ Kg, distribuidos en 2 estudios experimentales con 6 animales cada uno. En el primer estudio se realizaron perfusiones regionales de la porción distal de la extremidad por vía intravenosa [estudio intravenoso (IV)], mientras que en el segundo estudio, la perfusión regional de la misma porción anatómica fue realizada por vía intraósea [estudio intraóseo (IO)].

El procedimiento experimental fue realizado en las extremidades anteriores de los caballos, siendo ambas extremidades distribuidas aleatoriamente en 2 grupos: grupo vancomicina (VCM) y grupo control (CTL), dentro de cada estudio experimental. La PR en el grupo VCM consistió en la infusión de 60 ml de solución de NaCl al 0,9%, con 300 mg de hidrocloreto de vancomicina en disolución. En el grupo CTL, se administraron 60 ml de una solución de NaCl al 0,9% sin vancomicina. Con el caballo bajo anestesia general, la infusión fue realizada durante 30 min, a velocidad constante (2 ml/min), en la vena digital lateral en el estudio IV, y en la cavidad medular del hueso metacarpiano III en el estudio IO.

Todos los caballos fueron sometidos a exámenes clínicos diarios de forma previa a la realización de la PR y durante los 7 días siguientes a la misma, para evaluar la evidencia clínica de posibles signos indicativos de toxicidad a los niveles local, regional y sistémico.

También se realizaron estudios radiológicos de la extremidad perfundida de forma previa, al día siguiente y en los 7 y 30 días posteriores a la realización de la PR.

Se recogieron muestras de líquido sinovial de la articulación interfalángica distal (IFD) y de la médula ósea de la primera falange (MO) durante 90 min, y muestras de líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica (MTCF) y de sangre sistémica (SS) durante 24 horas. En todas estas muestras se determinaron los niveles de vancomicina.

No se observaron signos clínicos indicativos de toxicidad ejercida por la vancomicina. La mayoría de los caballos mostró signos de cojera leve y efusión sinovial leve a moderada. En todas las localizaciones la concentración de vancomicina varió significativamente a lo largo del tiempo. Los niveles de vancomicina en MTCF, IFD y MO por ambas vías fueron superiores a la concentración mínima inhibitoria descrita para *S. aureus*. En MTCF, la concentración de VCM a las 24h fue significativamente superior con la técnica IO. Los niveles de vancomicina en IFD fueron significativamente diferentes a los tiempo 65 y 90 min, siendo superiores en el caso de la PR IV. En MO, la farmacocinética de la vancomicina fue similar no existiendo diferencias significativas entre ambas técnicas, lo que también ocurrió en SS.

Se concluye que la administración de vancomicina de forma regional es un procedimiento que no presenta consecuencias adversas para el caballo, y ofrece niveles de vancomicina adecuados para el tratamiento de procesos infecciosos causados por microorganismos sensibles a la vancomicina, como SARM, y localizados en las estructuras de la porción distal de la extremidad del caballo.

• **Summary**

The isolation of highly resistant bacterial strains from equine orthopaedic infections is leading to the introduction of new antimicrobials in equine medicine. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), traditionally associated with iatrogenic infections in humans, is emerging with an increasingly prevalence in horse orthopaedic infections. It is sensitive to vancomycin, which has been associated with important adverse effects.

Loco-regional antibiotic administration systems, such as regional perfusion (RP), represent one of the main aspects for a successful treatment of infectious musculoskeletal disorders.

The objective of this study was to evaluate the clinical and pharmacological aspects of the administration of vancomycin by regional perfusion as a therapeutic procedure for multi-resistant infections sensitive to vancomycin.

Twelve healthy adult horses with an age of (mean \pm standard deviation) of $10 \pm 5,67$ years and a mean weight of $419,17 \pm 43,03$ Kg, were distributed into 2 equal experimental studies. In the first study, distal limb intravenous perfusions were performed [intravenous (IV) study], whereas in the second study, regional perfusion was administered through an intraosseous route [intraosseous (IO) study].

The front limbs of each horse was randomly assigned to either vancomycin (VCM) or control (CTL) groups. The perfusate consisted of 60 ml of a 0,9% NaCl solution for CTL limbs, and 60 ml of a 0,9% NaCl solution containing 300 mg of vancomycin hydrochloride for VCM group limbs. With the horse under general anaesthesia, the solution was infused at a constant rate of 2 ml/min during a period of 30 min. It was infused either in the lateral digital vein in the IV study, or in the medullar cavity of third metacarpal bone in the IO study.

All the horses in both studies sustained daily clinical examinations prior to the RP procedure and during the following 7 days after perfusion, in order to evaluate evident signs of local, regional and systemic toxicity related to vancomycin. Radiographic studies of the perfused limb were also conducted prior to the procedure, the following day, and on days 7 and 30 after perfusion.

Synovial fluid samples from the distal interphalangeal joint (IFD), and bone marrow of the first phalanx (MO) were collected during 90 min; and synovial fluid samples from the interphalangeal joint (MTCF), and systemic blood (SS) were collected during 24 hours following the beginning of the infusion. All these samples were submitted for vancomycin level determination.

No clinical signs indicating toxicity associated with vancomycin were observed. Most of the horses showed mild lameness and mild-to-moderate joint distension. In every location, time resulted to act as a significant factor. Vancomycin levels in MTCF, IFD and MO were above the minimal inhibitory concentration described for *S. aureus*, with both IV and IO techniques. Vancomycin concentration at time 24 hours was significantly superior with IO perfusion compared to IV technique. Vancomycin levels in IFD at time 65 and 90 min after IV RP, were significantly greater than those with IO technique. Pharmacokinetics of vancomycin in MO and SS were similar and no significant differences were observed between both studies. It is concluded that the administration of vancomycin by regional perfusion in the horse is a safe non-toxic procedure, and according to the obtained vancomycin levels, it could be indicated in distal limb infections with organisms sensitive to vancomycin, such as MRSA.

Revisión bibliográfica

1. Infecciones ortopédicas en los equinos

Dentro de las alteraciones del sistema musculoesquelético en los equinos, los procesos infecciosos representan un problema clínico serio con consecuencias como la cojera crónica, la pérdida de funcionalidad del caballo o, en ocasiones, la muerte del animal (Schneider y col, 1992a). Debido a las características anatómo-funcionales de los caballos y al fin deportivo al que actualmente son destinados, estos procesos se localizan con frecuencia en la parte distal de las extremidades.

En función de la estructura anatómica a la que afectan, las infecciones ortopédicas se pueden clasificar de la siguiente forma:

1. Si afectan a una estructura sinovial: sinovitis infecciosa o séptica.
 1. Artritis infecciosa o séptica: infección de una articulación.
 2. Tenosinovitis infecciosa o séptica: infección de una vaina tendinosa.
 3. Bursitis infecciosa o séptica: infección de una bolsa sinovial.
2. Si afectan a hueso.
 1. Osteítis infecciosa o séptica: sólo el hueso cortical está afectado.
 2. Osteomielitis infecciosa o séptica: tanto el hueso cortical como la médula ósea están afectados.
3. Si afectan a otras estructuras del sistema musculoesquelético.
 1. Miositis infecciosa o séptica: infección del tejido muscular.
 2. Tendinitis infecciosa o séptica: infección de estructuras tendinosas.
 3. Desmitis infecciosa o séptica: infección de estructuras ligamentosas.

A continuación se revisan los aspectos fundamentales de la fisiopatología y la epidemiología de las artritis sépticas y las infecciones del tejido óseo. Las infecciones de las vainas sinoviales comparten la mayor parte de las características epidemiológicas y etiológicas que las artritis sépticas. La principal diferencia fisiopatológica viene determinada por la ausencia de cartílago articular. La degeneración de éste representa una de las consecuencias más importantes de la infección articular (Hardy y col, 1998), fenómeno que no se observa en el resto de estructuras sinoviales. Sin embargo, otros fenómenos como la fibrosis y la formación de adherencias a estructuras importantes como los tendones, suponen consecuencias de gran importancia (Honnas y col, 1991).

1.1 Fisiopatología de la artritis infecciosa

La colonización bacteriana causa la reacción inflamatoria más severa que ha sido descrita en una articulación (Bertone, 1996). Representa una enfermedad grave, de evolución rápida, que produce una rápida destrucción del cartílago articular (Goldenberg, 1998), y si afecta al tejido

óseo (osteomielitis) subcondral, puede originar una pérdida irreparable de superficie articular (Patti y col, 1994).

La invasión de la cavidad articular, bien por vía hematológica, externa o iatrogénica, por microorganismos inicia una reacción articular (Bertone, 1996). El grado o la magnitud con que una articulación responde al estímulo bacteriano depende del hospedador, del número de bacterias y de la virulencia de las mismas. En condiciones normales, la membrana sinovial es capaz de eliminar un número elevado de bacterias (Hardy y col, 1993); en cambio, cuando el número es excesivo, el microorganismo es excesivamente virulento, o los mecanismos defensivos de la membrana sinovial están disminuidos, se produce la infección (Hardy y col, 1994). La rapidez y facilidad con que el microorganismo es capaz de colonizar los tejidos y la habilidad del mismo para liberar toxinas y enzimas extracelulares definen su patogenicidad y virulencia. En el caso de *S. aureus* (el organismo más frecuentemente aislado en infecciones articulares de origen iatrogénico), las cepas con una copia activa de los genes que regulan la capacidad de adhesión del microorganismo al colágeno, producen una tasa de infección del 70%; frente al 27% en el caso de cepas con los genes inactivos (Abdelnour y col, 1993a; Patti y col, 1994).

Estos mismos factores, junto con el grado y la duración de la inflamación articular y la existencia de enfermedad articular previa, van a determinar el grado de destrucción articular y la respuesta al tratamiento (Goldenberg, 1998; Saroux y col, 1997). En este último caso, las características de la terapia instaurada y el período de tiempo transcurrido desde la instauración de la infección hasta el comienzo del tratamiento también son importantes (Gibson y col, 1989).

El reconocimiento del microorganismo infeccioso por parte del hospedador desencadena una reacción inflamatoria aguda, caracterizada por un extraordinario incremento del volumen de líquido sinovial y la llegada de gran cantidad de células inflamatorias, mayoritariamente neutrófilos (Bertone y col, 1987; Bertone, 1999). Valores de 100000-200000 células/ μ l se han señalado como representativos de la respuesta máxima de la articulación equina (Palmer y Bertone, 1994b). Como consecuencia de esta reacción inflamatoria y de la acción de los neutrófilos, se forma un exudado fibrinopurulento y la membrana sinovial sufre fenómenos de trombosis, fibrosis y necrosis que originan alteraciones vasculares y funcionales de la articulación. Al mismo tiempo, se produce la liberación de grandes cantidades de mediadores inflamatorios (prostaglandinas, radicales libres, interleukinas, factor de necrosis tumoral...) y de enzimas extracelulares degradativas (lisozima, elastasa, catepsina G, gelatinasa, caseinasa y colagenasa); sustancias que producen una rápida degradación del cartílago articular (Palmer y Bertone, 1994a).

Los altos niveles sinoviales de mediadores inflamatorios (interleukinas, FNT, radicales libres, PG, eicosanoides), que también se encuentran aumentados en sangre sistémica, activan a su vez al condrocito (Palmer y Bertone, 1994a; Bertone y col, 1993). El condrocito responde con una disminución de la síntesis de proteoglicanos y con la liberación de metaloproteinasas (estromelina, colagenasa, gelatinasa), que, a su vez, ejercen un efecto catabólico sobre la matriz cartilaginosa (Cawston y col, 1990; Palmer y Bertone, 1994a; Spiers y col, 1994b). El origen de las enzimas extracelulares destructivas son los neutrófilos que llegan a la cavidad articular, los monocitos una vez diferenciados en macrófagos tisulares y localizados en la membrana sinovial, y los propios sinoviocitos del hospedador una vez que han sido estimulados y activados por diferentes citokinas (Palmer y Bertone, 1994a; Spiers y col, 1994a). Por otro lado, la disrupción de la barrera sangre-membrana sinovial que se produce en el proceso inflamatorio, permite la entrada de otros mediadores no específicos de la inflamación, que amplifican la inflamación y la activación de los sinoviocitos y condrocitos (Bertone, 1996). Una vez que los sinoviocitos y los condrocitos han sido estimulados, éstos continúan la producción de enzimas incluso después de la retirada del estímulo infeccioso (Goldenberg, 1983). Este fenómeno se denomina "artritis post-infecciosa" y se caracteriza por la continuación del proceso degradativo del cartílago articular después de que la infección haya sido resuelta (Goldenberg, 1983; Spiers y col, 1994b; Hardy y col, 1998).

Al mismo tiempo y también como parte de la respuesta articular a la infección, se desencadena una reacción inmunológica humoral y celular frente a los antígenos bacterianos, siendo en la mayoría de los casos, una reacción inmediata y clínicamente pronunciada (Bertone y col, 1987 y 1999; Bremell y col, 1992; Tissi y col, 1990; Abdelnour y Tarkowsky, 1993b; Palmer y Bertone, 1994a; Patti y col, 1994). Sin embargo, ciertos microorganismos, como algunos estreptococos β -hemolíticos, pueden inducir reacciones inmunológicas retardadas en las que la expresión clínica de la artritis no sea tan manifiesta (Deighton, 1993).

Por último, se deben tener en cuenta factores físicos como la efusión articular, la presencia de fibrina intrarticular y la alteración de las propiedades biomecánicas del cartílago, que son características de la artritis infecciosa, y que también contribuyen en la fisiopatología del proceso séptico (Hardy y col, 1996).

La presión intraarticular elevada debida a la efusión articular, produce un aumento de la presión intraarticular que, a su vez, origina la edematización de la epífisis del hueso y reduce significativamente el flujo sanguíneo de la membrana sinovial y de la cápsula articular (Hasegawa e Ito, 1991). Esta situación agrava el estado de la articulación y disminuye su capacidad para luchar contra la infección (Hasegawa e Ito, 1991; Uren y Howman-Giles, 1991; Hardy y col, 1996).

La acumulación de fibrina en el espacio intraarticular impide la correcta nutrición del cartílago articular que tiene lugar a través del líquido sinovial, y además, su depósito sobre la membrana sinovial puede afectar a la vascularización de la misma (Bertone y col, 1987).

Como se ha señalado anteriormente, los mediadores inflamatorios y las enzimas producen notables alteraciones en la composición de los proteoglicanos y del colágeno del cartílago articular, situación que conlleva unas consecuencias biomecánicas (Smith y col, 1982). Se produce una pérdida de la rigidez compresiva del cartílago y el ácido hialurónico disminuye en concentración y en calidad, lo que reduce la capacidad de lubricación (Hardy y col, 1998; Tulamo y col, 1994). Como resultado, el cartílago articular queda en un estado débil, en el que no es capaz de soportar las fuerzas mecánicas a las que se somete sin consecuencias en condiciones normales, pero que en este estado, producen un desgaste mayor (Bertone y col, 1987 y 1992; Bertone, 1999; Tulamo y col, 1994). La degradación del cartílago se produce de forma rápida, sin embargo, los daños articulares no suelen ser visibles macroscópicamente en el momento de la evaluación inicial del caso (Schneider y col, 1992a; Curtiss y Cline, 1965; Harris y col, 1969).

En conclusión, la articulación reacciona drásticamente y de forma máxima a la invasión por microorganismos produciendo la sinovitis más severa que has sido descrita (Palmer y Bertone 1994b). Los mecanismos fisiopatológicos de la artritis séptica son extremos; sin embargo, hay que señalar que en todos los casos de sinovitis tienen lugar los mismos procesos aunque en un grado menor (Bertone y col, 1993).

1.2 Fisiopatología de la infección ósea

El hueso es un tejido de sostén vivo compuesto por células óseas, matriz orgánica y matriz mineral. Al igual que otros tejidos de soporte, el hueso posee vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, y una sustancia fundamental con proteoglicanos y fibras colágenas, similares a los encontrados en el tejido cartilaginoso. Sin embargo, la sustancia intersticial o matriz ósea, que se deposita en capas o "lamelas", está mineralizada. Las células (osteocitos), se localizan en lagunas situadas entre estas lamelas desde las que parten en todas las direcciones, unos túbulos estrechos que penetran en la sustancia intersticial lamelar y que reciben el nombre de canalículos. Estos canalículos se anastomosan con los de las lagunas adyacentes y se forma un sistema continuo de cavidades o pasajes que son esenciales para la nutrición de las células óseas, ya que el depósito de sales cálcicas en la sustancia intersticial la hacen impermeable para los nutrientes (Bloom y Fawcett, 1975). Por tanto, la nutrición de las células óseas es dependiente de los canales vasculares, no como en las células cartilaginosas cuyos nutrientes difunden a través de la matriz hialina. Aparte de estos canalículos, el espacio extracelular está formado por los canales haversianos y los canales de

Volkman, por los que se distribuyen los vasos sanguíneos también responsables de la nutrición de las células óseas. Por su parte, el hueso esponjoso está compuesto por un entramado de finas laminillas y espículas de hueso lamelar, que se entrecruzan en distintas direcciones. Los espacios existentes entre las laminillas se encuentran ocupados por la médula ósea y se denominan espacios medulares. El espacio extravascular en este hueso son canalículos diminutos que interconectan las lagunas y se extienden a la superficie (Bloom y Fawcett, 1975).

Esta red de canalículos anastomosados posee gran importancia en la infección ósea ya que constituyen las vías de expansión del proceso infeccioso en el tejido óseo. En las fases iniciales del proceso infeccioso, los tejidos afectados son los tejidos blandos conectivos del hueso, que incluyen el periostio, los canales de Havers y de Volkman, el endostio y la cavidad medular. Los cambios en los componentes mineralizados del hueso son secundarios a los cambios inflamatorios en el tejido conjuntivo blando y consisten en procesos de degeneración, resorción y regeneración del tejido óseo (Owen, 1982). La densidad ósea disminuye como resultado de una reducción del contenido de sales cálcicas. Sin embargo, estos cambios no son visibles radiográficamente hasta aproximadamente 7-10 días después del inicio de la infección, salvo en los potros que pueden desarrollar una osteólisis significativa en 3 días (Rudd, 1985). A medida que la infección progresa (10 a 14 días), se hacen evidentes reacciones periósticas irregulares, la densidad medular aumenta y se observan márgenes escleróticos alrededor de las regiones líticas debido a formación de nuevo hueso (Owen, 1982).

Para que las bacterias patógenas que alcanzan el tejido óseo produzcan osteomielitis séptica, deben existir factores que favorezcan su localización (p. ej. éstasis vascular) y un ambiente que permita el crecimiento bacteriano (hematomas, plasma, necrosis) (Kahn y Pritzker, 1973). En ocasiones, el hospedador es capaz de controlar la infección, aunque normalmente, la virulencia del organismo supera la capacidad de respuesta del hospedador. En los animales jóvenes la destrucción del tejido óseo es más rápida (Rudd, 1985).

En el proceso de extensión de la infección a través del entramado de canalículos, el sistema de vascularización del hueso se ve seriamente alterado. Además, se producen fenómenos de trombosis vascular, que reducen aún más el aporte sanguíneo. Estas circunstancias originan la muerte de osteocitos adyacentes y representan un obstáculo para la llegada del antibiótico (Baxter, 1996; Turner, 1987).

En los casos de traumatismos en los que se produce una herida, quedando el periostio expuesto al exterior o dañado, las capas más externas de la cortical del hueso suelen morir por falta de aporte vascular desde el periostio; en cambio, las capas más profundas sobreviven gracias al aporte del endostio (Belknap y col, 1993; Booth y Feeney, 1982). Las bacterias acceden a través de la herida en la piel y se asientan en las capas superficiales del

hueso, dando lugar a una porción o capa de tejido óseo muerto infectado. Este tejido muerto (secuestro óseo), es rodeado por un tejido de granulación (*involucrum*), cuyo tejido óseo de alrededor sufre un proceso de esclerosis (Baxter y Turner, 2002). Este fenómeno también puede ocurrir como consecuencia de traumatismos en los que se mantiene la integridad de la piel, aunque la frecuencia es menor. En estos casos, el hematoma que se forma como consecuencia del traumatismo, suele ser infectado de forma secundaria por vía hematógena, desarrollándose el secuestro (Baxter y Turner, 2002). El *involucrum* y la esclerosis ósea separan a la porción necrótica del hueso vivo. Sin embargo, a medida que las bacterias proliferan, el *involucrum* puede quedar necrótico, reiniciándose de nuevo el proceso.

Aislado del sistema sanguíneo, el tejido óseo necrótico del interior del secuestro alberga bacterias y constituye una potencial fuente de reinfección. La curación requiere la extirpación quirúrgica del secuestro ya que ni los antibióticos, ni los anticuerpos producidos por el propio animal, pueden penetrarlos (Turner, 1987). Un implante óseo infectado crea la misma situación de avascularidad que un secuestro, y la reacción frente a un implante infectado es similar a la reacción frente a una porción de hueso infectado (Bramlage, 1998).

Durante la osteomielitis, el proceso inflamatorio puede aumentar la presión intraósea, lo que afecta al aporte sanguíneo, produciendo el mismo resultado: necrosis ósea y posible formación de secuestro (Turner, 1987). A causa de ese incremento en la presión medular, las bacterias localizadas en la cavidad medular invaden los canales vasculares del hueso cortical y la infección se extiende (Bramlage, 1998).

1.3 Epidemiología de las infecciones ortopédicas

Según el origen de la infección, se diferencian 3 síndromes de infecciones ortopédicas en el caballo: hematógeno, traumático (o por penetración directa) e iatrogénico (Baxter, 1996).

Existen pocos estudios que describan una incidencia precisa de cada tipo de infección en la población equina total, ya que los trabajos suelen centrarse en grupos subpoblacionales. La infección hematógena tiene lugar preferentemente en neonatos y es menos frecuente en animales adultos. La traumática puede ocurrir en caballos de cualquier edad y normalmente es consecuencia de heridas penetrantes o fracturas abiertas (Schneider y col, 1992b). Las causas iatrogénicas de la infección incluyen procesos quirúrgicos, como la fijación interna de fracturas, y las inyecciones intraarticulares de fármacos (con finalidad diagnóstica o terapéutica).

En el caso de la artritis infecciosa, las causas más comunes en los caballos son: herida articular (24%), inyección articular previa (22%), infección postquirúrgica (13%), origen hematógeno (17 a 34%) y causas idiopáticas (6%) (Schneider y col, 1992b; Meijer y col, 2000). La incidencia de infección varía para cada articulación, siendo la articulación

tarsocrural la más afectada (34%), seguida por la metacarpofalángica (20%), el carpo (18%) y la femorotibiorrotuliana (9%) (Schneider y col, 1992b). La articulación metacarpofalángica es la que más heridas sufre, y el carpo, la más afectada por infección postquirúrgica (Schneider y col, 1992b).

La infección de más de una articulación (poliartritis infecciosa) se sitúa alrededor del 15% de todos los casos de artritis sépticas en personas (Dubost y col, 1993) y del 20% en caballos (Schneider y col, 1992b). En los caballos adultos la incidencia se reduce al 1,5% (Schneider y col, 1992b), siendo la mayoría de las veces procesos monoarticulares; mientras que en los potros, representa el 50% de todas las artritis sépticas (Dubost y col, 1993; Schneider y col, 1992b; Platt, 1977; Firth, 1983). En los caballos adultos, las causas principales son la inoculación iatrogénica de bacterias por artocentesis (19,84-22%), por cirugía intrasinovial (19,8-22%) y heridas (36,5-55,5%) (Schneider y col, 1992b; Meijer y col, 2000). En cambio, en los potros, el origen más frecuente es la diseminación hematógena (Firth y col, 1980; Martens y col, 1986).

Infecciones ortopédicas de origen hematógeno

La infección articular u ósea se produce de forma secundaria a una bacteriemia originada a partir de un foco séptico que puede estar localizado en cualquier punto del organismo del animal. Es la más observada en potros menores de 2 meses, fundamentalmente neonatos y en la mayor parte de las ocasiones, afecta a más de una articulación y/o de un hueso de forma simultánea o secuencial (Martens y col, 1986; Hance, 1998). Los focos sépticos primarios más frecuentes originarios de la bacteriemia son la onfaloflebitis, la enteritis o los procesos infecciosos respiratorios (Hance, 1998).

La infección de la articulación se produce por la colonización directa de la membrana sinovial por microorganismos circulantes en sangre. La configuración de los capilares en las vellosidades de la membrana sinovial favorece el asentamiento de los microorganismos (Nade, 1983). También es posible que desde un foco de osteomielitis localizado en la epífisis o metafisis adyacente, la infección se extienda a través de los vasos transfisarios llegando a la articulación (Martens y col, 1986; Resnick y Niwayama, 1981; Shaw y Kasser, 1990; Firth y Poulos, 1983).

La colonización bacteriana del hueso puede ocurrir a una edad temprana favorecida por una incompetencia y, en cambio, la manifestación clínica ser evidente de forma posterior (Hance, 1998). La infección tiende a localizarse en los puntos donde el crecimiento es más activo, como en la epífisis y en el lado metafisario de la fisis de los huesos largos (Bramlage, 1998). En esta última localización, la porción distal de la arteria nutricia diafisaria forma arcos o meandros muy cerrados (180°) que progresan hacia grandes venas sinusoidales que recorren el mismo camino que la circulación arterial en sentido inverso (Trueta, 1959; Firth y Poulos,

1983). En el hueso subcondral del cartílago articular y en el cartílago de crecimiento de la epífisis, existe una red capilar similar a la metafisaria, lo que hace de estas localizaciones otros puntos frecuentes. Este lecho de capilares finos y extremadamente curvados, junto con el descenso de la velocidad del flujo sanguíneo, debido al aumento del diámetro vascular, facilita el asentamiento endotelial de las bacterias, su multiplicación y la trombosis de los vasos sanguíneos (Martens y col, 1986). En los neonatos, los vasos transfisarios que conectan las circulaciones metafisaria y epifisaria sirven frecuentemente de vía para la extensión de la infección desde la fisis a la epífisis adyacente (Ogden y Lister, 1975). La perforación de un foco séptico localizado en la epífisis puede producir la infección articular (Martens y col, 1986).

La osteomielitis suele acompañar al 60% de los casos de artritis séptica y representa el síndrome de artritis/osteomielitis séptica de los potros, que se conoce con diferentes nombres como poliartritis séptica, epifisitis séptica o fisitis séptica (Firth y col, 1980; Schneider y col, 1992b; Raisis y col, 1996; Steel y col, 1999; Meijer y col, 2000; Bertone, 2003).

Según la localización de las lesiones, Firth y col (1980) clasificaron este síndrome en 4 tipos, que pueden presentarse en solitario o combinados:

- tipo S (artritis sépticas sin osteomielitis).
- tipo E (artritis sépticas con osteomielitis de la epífisis).
- tipo P (artritis sépticas con osteomielitis de la región fisaria).
- tipo T (artritis sépticas con afección de los huesos cuboidales del tarso).

La expansión hematogena de los microorganismos (bacteriemia) es la causa más común de artritis infecciosa en potros (Firth, 1983; Martens y col, 1986; Schneider y col, 1992a y 1992b; Platt, 1977; Cohen, 1994). El riesgo de infección es mayor durante los primeros 30 días de vida (Cohen, 1994). Los factores predisponentes principales son aquellos que interfieren con la capacidad inmunológica del animal. La hipogammaglobulinemia, ya sea genética o por fallo en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas calostrales, está asociada con un mayor riesgo de infección (Platt, 1977; Cohen, 1994; Firth, 1983; Martens y col, 1986; Gibson y col, 1989; Bertone y col, 1990). Debido a que la cojera suele aparecer de forma brusca, se suele asociar la causa a un traumatismo sobre la articulación (pisotón o coz de la madre), lo que ocasiona un retraso en el diagnóstico y en la instauración del tratamiento. No obstante, el trauma local representa un factor potenciador del desarrollo de una infección hematogena (Resnick y Niwayama, 1981), como también se ha demostrado en medicina humana (Vincent y Amirault, 1990). La sepsis sistémica constituye un factor de riesgo para la infección articular y ósea: los potros con mayores índices septicémicos desarrollan más infecciones articulares (Firth y col, 1980; Martens y col, 1986).

La forma hematogena de infección en los adultos es rara porque la anatomía vascular cambia con la edad. Los factores predisponentes que caracterizan la vascularización del hueso en los neonatos van desapareciendo. Mientras que los potros jóvenes a menudo muestran infecciones multifocales, en animales mayores, generalmente, afecta sólo a una fisis o una articulación (Hance, 1998). Los traumatismos constituyen un factor determinante para el desarrollo de osteomielitis en animales adultos (Whalen y col, 1988; Verschooten y col, 2000; Ramzan y Pilsworth, 2001). La trombosis de la vena yugular se ha señalado como el posible origen de la infección de la fisis en un caballo de 2 años (Ramzan y Pilsworth, 2001). Algunos autores señalan que aquellos animales adultos con artritis séptica de origen idiopático, en los que no se ha identificado el origen del problema, éste probablemente sea hematogeno (Schneider y col, 1992b). La administración de corticosteroides, sustancias con efectos inmunosupresores, también está asociada con un incremento del riesgo de infección (Resnick y Niwayama, 1981; Vincent y Amirault, 1990). En bovinos, la mayor incidencia de osteomielitis hematogena se ha descrito en edades entre 12 y 24 meses (Verschooten y col, 2000).

Infecciones ortopédicas de origen traumático

Estas infecciones son las más frecuentes en los animales adultos. Normalmente se produce un traumatismo con herida, a través de la cuál los microorganismos patógenos son capaces de penetrar de forma directa a la articulación o a la cavidad medular (fracturas abiertas, heridas penetrantes) (Schneider y col, 1992b). No obstante, en casos en que no se ha producido una herida, la destrucción tisular, la celulitis, los hematomas y el tejido necrótico constituyen un buen medio de cultivo para la proliferación de bacterias que lleguen por vía hematogena y pueden producir la infección de una articulación o la osteomielitis (Edwards y Vaughan, 1978). El compromiso vascular aísla el área de los mecanismos de defensa del organismo y de los antimicrobianos circulantes; por eso, las fracturas con fragmentos óseos aislados de aporte sanguíneo poseen un alto riesgo de desarrollo de infección (Baxter, 1996). Los fragmentos avasculares deben ser extraídos o reincorporados en la resolución de la fractura para que sean revascularizados (Turner, 1987; MacClure y col, 1995).

Las heridas penetrantes representan la causa más común de infección en el caso de articulaciones más expuestas a traumatismos e inyectadas con menor frecuencia, como la articulación interfalángica distal (Honnas y col, 1992b). La retención de material extraño (Reginato y col, 1990), y el retraso en la exploración y la instauración del tratamiento (Gibson y col, 1989), son factores determinantes para el desarrollo de la infección.

Infecciones ortopédicas de origen iatrogénico

En el caso de las artritis y osteomielitis sépticas de origen iatrogénico, la infección se desarrolla de forma posterior a una inyección articular o a un procedimiento quirúrgico. Aunque la osteomielitis tras la fijación interna de una fractura es más común en el caso de fracturas abiertas que en las cerradas, la contaminación de la fractura durante el procedimiento quirúrgico puede ocurrir, siendo más frecuente cuanto más prolongada sea la intervención (MacDonald y col, 1994; Baxter, 1996). Junto con la duración del procedimiento quirúrgico, la presencia de implantes, la formación de hematomas y seromas postquirúrgicos, el daño de tejidos blandos asociado con la fractura y la fijación interna, y la situación de avascularidad producen un incremento en el riesgo de infección tras la reparación de la fractura, ya que contribuyen al desarrollo de la osteomielitis ya que proporcionan condiciones favorables para el crecimiento bacteriano (Moore y col, 1992; MacDonald y col, 1994). Las tasas de infección de la herida quirúrgica tras cirugías ortopédicas en caballos alcanzan valores del 10%, siendo más altas tras cirugías más agresivas y más duraderas (MacDonald y col, 1994).

Las bacterias producen una secreción mucosa de exopolisacáridos extracapsulares que forman una película (glicocálix o biofilm) íntimamente adherida a la superficie de los implantes utilizados en cirugía ortopédica (Mayberry-Carson y col, 1984). Estas películas constituyen una fuente ideal de nutrientes, y en su interior, las bacterias proliferan y permanecen protegidas de las defensas del hospedador y de los antibióticos (Gristina y Costerton, 1984). Como consecuencia, la osteomielitis puede desarrollarse a pesar de la aplicación profiláctica de antibióticos, ya que éstos no son capaces de alcanzar las bacterias en el interior de la película (Ramage y col, 2003).

La atrocentesis previa y la administración intraarticular de corticosteroides o de glicosaminoglicanos polisulfatados producen un incremento del riesgo de desarrollo de una infección articular (Gustafson y col, 1989a; Tulamo y col, 1989; Harkins y col, 1993). La raza de caballo trotones (Standardbred), ha sido señalada como factor predisponente; sin embargo, hay que tener en cuenta que esta raza posee la mayor prevalencia de infecciones articulares porque son los caballos que reciben la mayor cantidad de inyecciones articulares que se documentan en la literatura (Ross y col, 1991; LaPointe y col, 1992; Schneider y col, 1992b).

2. Microbiología de la infecciones ortopédicas en los equinos

2.1 Etiología microbiana

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos en los 3 trabajos más extensos realizados sobre la etiología de las infecciones ortopédicas en los equinos. Las cifras indican el porcentaje de los caballos en los que cada tipo bacteriano fue aislado, dentro del total de caballos de los que se recogió muestra para cultivo bacteriano.

Tipos de infección ortopédica (IO)	IO en caballos tras reparación de fractura		IO post-cirugía	Infecciones sinoviales de origen hematógeno, traumático y iatrogénico
(Autores)	(Moore y col, 1992)		(Snyder y col, 1987)	(Schneider y col, 1992)
<i>Enterobacteriaceae</i>	28,8		24%	26,2
<i>Staphylococcus</i> C+	11,8	19,1	23	21,5
<i>Staphylococcus</i> C-	7,3			11,5
<i>Streptococcus</i> no-β-H	13	22,4	18	7,7
<i>Streptococcus</i> β-H	9,4			8,9
Otros G+	3,7			
Otros G-	15,8		16	6,4
Anaerobios			7	10,3
Miscellanea (<i>Pasteurella</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Actinomyces</i>)			10	

Tabla 1. Prevalencia (%) de los diferentes microorganismos etiológicos en las infecciones ortopédicas de los caballos.

(C+: coagulasa positiva; C-: coagulasa negativa; β-H: β hemolíticos; G+: Gram positivo; G-: Gram negativo)

Los resultados de estos estudios muestran que los microorganismos más frecuentemente aislados en el conjunto global de todas las infecciones ortopédicas equinas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, con prevalencias de 24-28% (Snyder y col, 1987; Schneider y col, 1992b; Moore y col, 1992). Los siguientes microorganismos más frecuentes son los Gram-positivos (G+), fundamentalmente representados por los géneros *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (Snyder y col, 1987; Schneider y col, 1992b; Moore y col, 1992). Si agrupamos los microorganismos de forma más general, la etiología de las infecciones ortopédicas en los caballos se divide en los 2 grupos de agentes Gram-negativos (G-) y G+, con frecuencias de aislamiento similares, 44,54 y 44,6%, respectivamente (Moore y col, 1992).

Los microorganismos fúngicos raramente son causa de artritis infecciosa, pero se deben considerar patógenos si son identificados en cultivo puro en más de una ocasión (Madison y col, 1995). *Scedosporium prolificans* y los coccidios se han descrito como agentes etiológicos de infecciones ortopédicas en los equinos (Foley y Legendre, 1992; Swerczek y col, 2001).

Resulta interesante estudiar las frecuencias de los distintos agentes etiológicos dentro de los diferentes grupos subpoblacionales de los caballos. Por ejemplo, los estafilococos representan el 19% de las bacterias cultivadas en todos los casos en general. Sin embargo, *S. aureus* fue aislado en el 42% de las articulaciones infectadas de caballos adultos; y en los caballos con infección articular tras inyección intraarticular o cirugía intrasinovial, esta tasa aumentó hasta 69-86% (Schneider y col, 1992b; LaPointe y col, 1992). Por su parte, la familia *Enterobacteriaceae* comprendía las bacterias más comúnmente aisladas de los caballos con heridas penetrantes y potros menores de 6 meses; mientras que los gérmenes G+ son aislados con menor frecuencia en estos grupos (Schneider y col, 1992b). Por tanto, el origen de la infección es un determinante importante de las especies bacterianas identificadas por el cultivo (Schneider y col 1992b); como también lo es para el hecho de que haya crecimiento de una (cultivo único) o varias (cultivo múltiple o multicultivo) especies bacterianas. En el 73% de los caballos adultos de los que se obtuvo cultivo positivo, el crecimiento fue único (Schneider y col, 1992b; Moore y col, 1992). En los casos de artritis infecciosa iatrogénica, la tasa de crecimiento único aumenta hasta valores ≥ 80 % de los casos en que se obtiene cultivo positivo (Schneider y col, 1992b). En cambio, en el grupo de caballos con artritis por heridas penetrantes y en los potros, el número de casos con cultivo múltiple aumenta de forma significativa (Schneider y col, 1992b; Honnas y col, 1992b; Richardson y col, 1986).

Las bacterias anaerobias han mostrado prevalencias considerables dentro de los aislamientos bacterianos equinos globales, alcanzando valores de 7-10 % (Moore y col, 1992; Schneider y col, 1992b), y > 26 % en el grupo de artritis sépticas por herida penetrante (Schneider y col, 1992b). Sin embargo, esas cifras no reflejan valores reales porque los autores no realizaron cultivo anaerobio en todos los casos clínicos (Schneider y col, 1992), o no todos los anaerobios aislados fueron identificados específicamente (Moore y col, 1992). A pesar de estas limitaciones, las bacterias anaerobias, como *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Enterobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Propionibacterium* spp. han aparecido asociadas a infecciones óseas en personas y caballos (Walker y col, 1983; Nakata y Lewis, 1984; Hall y col, 1984). *Clostridium* spp. fue el género más frecuente y el más común en el caso de las heridas (Moore y col, 1992).

Las infecciones por heridas penetrantes suelen poseer una etiología mixta de gérmenes G+ y G-, siendo frecuente también la identificación de microorganismos anaerobios (Moore y col, 1992; Schneider y col, 1992b).

En el síndrome poliartritis/osteomielitis de los potros neonatos, prácticamente la totalidad (92.5%) de las bacterias implicadas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (Wilson y Madigan, 1989; Brewer y Koterba, 1990; Schneider y col, 1992b; Meijer y col, 2000), siendo *E. coli* el agente más frecuentemente aislado (27-29.31%) (Schneider y col, 1992b; Steel y col, 1999). Este hecho es fácil de comprender ya que estos microorganismos son ubicuitarios en el ambiente en que viven los potros. Por tanto, poseen una alta probabilidad de acceder a través de una herida abierta o por el ombligo desde el material fecal o la contaminación del suelo (Schneider y col, 1992b; Hance, 1998), causando la septicemia que puede originar una infección musculoesquelética (Brewer y Koterba, 1990; Firth, 1990). Por el contrario, en la osteomielitis hematogena en niños el agente etiológico principal es *Staphylococcus aureus*, lo que probablemente es debido a diferentes condiciones medioambientales (Blockey, 1983; Mader y col, 1999). Otras bacterias frecuentemente aisladas en los potros son *Salmonella* spp., *Actinobacillus equuli*, y con menor frecuencia, *Rhodococcus equi*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., y *Bacteroides* spp. (Vaala y col, 1988; Wilson y Madigan, 1989; Brewer y Koterba, 1990; Firth, 1990; Firth, 1992; Schneider y col, 1992b; Baxter, 1996; Paradis, 1997; Meijer y col, 2000).

En los caballos adultos con infección ortopédica de origen hematogeno, las bacterias Gram-positivas (58%) se señalan como los agentes etiológicos más frecuentes (Schneider y col, 1992b). Las prevalencias más altas fueron mostradas por *Staphylococcus* spp. (25-33,3%), la familia *Enterobacteriaceae* (25%) y *Streptococcus* spp. (16,6%) (Schneider y col, 1992b; Meijer y col, 2000). Otros agentes como *Rhodococcus equi* y *Actinomyces pyogenes* han sido involucrados en casos de osteomielitis hematogena en caballos y ganado vacuno, respectivamente (Verschooten y col, 2000; Clark-Price y col, 2003).

Las infecciones iatrogénicas están asociadas a una inyección o una cirugía previa. Estos procedimientos normalmente son realizados en condiciones asépticas, y por tanto, las bacterias que pueden ser vehiculizadas suelen ser agentes nosocomiales resistentes a muchos antibióticos utilizados de forma rutinaria (Baxter, 1996). En el estudio de Moore y col (1992) las bacterias responsables de las infecciones post-quirúrgicas en los caballos se distribuyeron entre agentes G+ y G-, con prevalencias de 41,53% y el 44,6%, respectivamente (Tabla 1). En los caballos con infecciones sinoviales iatrogénicas, *Staphylococcus* spp. fue aislado en más del 50% de todos los casos, y en el 69% de los casos con cultivo positivo (Schneider y col, 1992b). En el estudio sobre caballos con artritis séptica secundaria a artrocentesis, el agente responsable fue un microorganismo cocoide G+ en el 100% de los casos, siendo en el 86% de los casos, *S. aureus* (LaPointe y col, 1992). Por tanto, en este tipo de infecciones, los cocos G+ ocupan un lugar principal (Moore, 1995).

Los estafilococos también han sido los microorganismos etiológicos más frecuentes en los procesos de osteomielitis séptica asociadas a la fijación interna de fracturas en personas (Lowy y Hammer, 1983; Ellington y col, 1999) y en perros (Peltola y Vahvanen, 1984). No ha ocurrido así en los caballos, en los que los autores han descrito además de *Staphylococcus* spp., otros grupos etiológicos importantes como *Streptococcus* spp y *Enterobacteriaceae* (Snyder y col, 1987; Moore y col, 1992). Sin embargo, se debe tener en cuenta que en estos procesos de infección ósea asociada a la reparación quirúrgica de fracturas, se suele producir con frecuencia la dehiscencia de la sutura y la formación de trayectos de drenaje (Moore y col, 1992). Las muestras tomadas de estos tractos no suelen ser adecuadas para la identificación de los agentes etiológicos responsables de la osteomielitis, ya que pueden estar contaminadas por flora ambiental externa. Por ello, se recomienda tomar las muestras de localizaciones más profundas y próximas al hueso (Mackowiak y col, 1978; Snyder y col, 1987). No obstante, las bacterias aisladas de forma mayoritaria pertenecen al grupo de las G+, llegando a alcanzar tasas del 76% (MacDonald y col, 1994). Otro dato interesante fue la observación de Snyder y col (1987), que describe un aumento significativo en la prevalencia de los estafilococos en este tipo de infecciones durante los 12 años de estudio. Estos autores sugirieron que al igual que ocurre en medicina humana, su origen en caballos podría estar asociado al ambiente del quirófano y al incremento en el número de fracturas mayores que se reparan actualmente en los equinos.

Los estafilococos coagulasa-positiva (C+) y –negativa (C-) son comensales normales de las superficies de la piel y membranas mucosas de la especie humana (Lowy y Hammer, 1983, Hope y col, 1989). La cavidad articular y el tejido óseo constituyen ambientes favorables para el crecimiento bacteriano y *Staphylococcus* spp. es un germen con conocida propensión a colonizar estas localizaciones (Wofsy, 1980). En los caballos, su tasa de aislamiento a partir de infecciones iatrogénicas es lo suficientemente alta como para justificar su capacidad de causar infección. Su baja frecuencia de aislamiento en un grupo de 78 caballos infectados por vía hematógena, utilizando las mismas técnicas de cultivo, justifica más aún que no son simples gérmenes presentes en la piel que han contaminado la muestra de líquido sinovial durante la recolección de la muestra (Schneider y col, 1992b). Por tanto, estas bacterias no deberían ser consideradas como contaminantes cuando se aíslan de articulaciones infectadas utilizando técnicas adecuadas, especialmente cuando las defensas locales están disminuidas por la acción de drogas inmunosupresoras, como p. ej. en el caso de las articulaciones tratadas con glicosaminoglicanos polisulfatados (Gustafson y col, 1989b). El aislamiento de un cultivo puro de un organismo único, particularmente un conocido patógeno como un *Staphylococcus* C-, prácticamente siempre indica que la infección está presente, incluso cuando el recuento de células nucleadas es bajo (Bertone, 2003).

Estos resultados indican que los caballos con infecciones ortopédicas de origen iatrogénico, especialmente los casos de artritis sépticas, deben ser tratados como una infección estafilocócica hasta que los resultados de los cultivos demuestren que otro organismo es la causa. Sin embargo, en un estudio reciente (Meijer y col, 2000), los resultados de los cultivos de muestras de artritis sépticas iatrogénicas de 6 caballos, mostraron gran diversidad; de los 6 caballos, no se aisló *S. aureus* en ningún caso si bien la prevalencia de los G+ fue del 50%.

2.2 Sensibilidad a antibióticos

Tanto la prevalencia de los diferentes microorganismos como los patrones de sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos, varían según el sistema orgánico, la edad, el uso, la localización geográfica y el tipo de instalación en la que vive el caballo (Wilson, 2001). Estas diferencias son más acusadas para algunos agentes (Hirsch y Ruehl, 1984), mientras que otros mantienen una sensibilidad menos variable (Wilson, 2001). Por lo tanto, la realización de pruebas de sensibilidad de los microorganismos aislados se considera fundamental en todas las ocasiones. Sin embargo, los estudios retrospectivos realizados sobre etiología y sensibilidad de las infecciones ortopédicas en caballos han de servir de referencia y de guía de la sensibilidad más probable de los patógenos equinos (Wilson, 2001).

Las siguientes tablas muestran los antibióticos recomendados por los diferentes autores para el tratamiento de las infecciones ortopédicas en los caballos en función de la etiología más frecuente y en base a los resultados de sensibilidad obtenidos en sus estudios.

Tipo de infección	Etiología	Sensibilidad		Referencias
Infecciones ortopédicas de origen hematógeno en potros	Bacterias G-	Baja sensibilidad	Penicilina, T×S, kanamicina (sensibilidad en aumento)	Orsini y col, 1985 y 1989; Brewer y Koterba, 1990; Moore y col, 1992; Vastistas y col, 1993.
		Sensibilidad media	Gentamicina	
		Alta sensibilidad	Amikacina, cefalosporinas, cloranfenicol, ticarcilina-clavulánico	
	<i>Actinobacillus equuli</i>	Gentamicina		Brewer y Koterba, 1990; Moore y col, 1992.
	Estreptococos β-hemolíticos	Penicilina, ampicilina, T×S		Papich, 2001; Moore y col, 1992.
	<i>Rhodococcus equi</i>	Rifampicina + eritromicina		Brown, 1995.
	Tratamiento inicial preferido, sobre todo a nivel hospitalario	Penicilina/Cefalosporina + Amikacina		Brewer y Koterba, 1990; Steel y col, 1999; Wilson, 2001.
Infecciones ortopédicas por heridas	Infecciones mixtas con anaerobios	Penicilina G + aminoglucósido		Hirsch y col, 1985; Hirsch y Jang, 1987; Moore y col, 1992.
	En caso de <i>Bacteriodes fragilis</i>	Metronidazol, cloranfenicol, clindamicina		
Artritis séptica	<i>Staphylococcus spp.</i>	Amikacina, cefalotina		Moore y col, 1992.
OM tras reparación de fracturas por fijación interna	Infección mixta por <i>Enterobacteriaceae</i> y G+ (<i>Staphylococcus</i> / <i>Streptococcus spp.</i>)	Amikacina + cefalosporinas		Snyder y col, 1987; Moore y col, 1992

Tabla 2. Sensibilidad antibiótica de los microorganismos etiológicos más frecuentes en las infecciones ortopédicas de los caballos (OM: osteomielitis).

Infecciones estafilocócicas		
Baja sensibilidad	Penicilina, aminopenicilinas, ticarcilina	(Moore y col, 1992)
Sensibilidad media	Ampicilina+sulbactam, eritromicina	(Lavoie y col, 1991)
Alta sensibilidad	Amikacina, cefalotina, cloranfenicol, oxacilina, dicloxacilina, clindamicina, lincomicina rifampicina+ceftiofur	(Papich y Riviere, 2001 Schneider y col, 1992b)

Tabla 3. Sensibilidad antibiótica de *Staphylococcus spp.* aislados de infecciones ortopédicas equinas.

La sobreutilización de determinados antibióticos es causa de cambios en las tasas de prevalencia y los patrones de sensibilidad de los microorganismos etiológicos de las infecciones. Como consecuencia de este uso inadecuado, los microorganismos desarrollan nuevos mecanismos de resistencia que disminuyen la eficacia de los antibióticos utilizados de forma tradicional (Davies y Gray, 1984; Brewer y Koterba, 1990). Tal es el caso de los microorganismos G- responsables de las infecciones ortopédicas en potros, en los que la

administración indiscriminada de gentamicina originó la aparición de bacterias resistentes a ella (Orsini y col, 1985; Orsini y col, 1989). De la misma forma, los microorganismos aislados de pacientes hospitalarios (agentes nosocomiales) o de animales de granjas donde los antibióticos son utilizados frecuentemente, muestran mayor resistencia que las bacterias aisladas de pacientes en los que la administración de antibióticos no está extendida (Brown, 1995). No obstante, cuando un paciente al que se le están administrando antibióticos para el tratamiento de una infección ortopédica, no muestra mejoría clínica, se deben considerar otros factores además de la posible resistencia microbiana. Si las pruebas laboratoriales indican que el organismo es sensible al fármaco que se está administrando, el antibiótico puede estar siendo infradosificado. O, en el caso de las infecciones del sistema musculoesquelético, las alteraciones patogénicas locales pueden estar haciendo inefectiva la administración sistémica de antibióticos (Brown, 1995).

Para el tratamiento de las infecciones ortopédicas en potros, la combinación de penicilina con amikacina ofrece un adecuado espectro antimicrobiano. En casos en que no se observe respuesta, se puede sustituir la penicilina por una cefalosporina (Brewer y Koterba, 1990; Wilson, 2001). La aparición de nuevas resistencias frente a la gentamicina parece haberse estabilizado por la utilización de la amikacina (Wielunsky y col, 1983). Desafortunadamente, aunque el desarrollo de resistencias a la amikacina por parte de las bacterias G- es bajo (Brewer y Koterba, 1990), ya se han descrito casos en la literatura humana sobre gérmenes G- resistentes a la amikacina y agentes nosocomiales amikacina-resistentes (García y col, 1995; Martínez y Pinto, 1993). En el caso de infección por *Rhodococcus equi* se debe administrar la combinación de rifampicina más eritromicina; y cuando se trata de *Actinobacillus equuli*, penicilina (Moore y col, 1992; Brown, 1995).

Las infecciones ortopédicas de origen traumático suelen poseer una etiología mixta que incluye microorganismos anaerobios. Por tanto, además de un aminoglucósido (amikacina es más efectivo que gentamicina), se debe administrar penicilina que suele abarcar la mayoría de los anaerobios excepto *Bacteriodes fragilis* (Moore y col, 1992). Este agente muestra sensibilidad a metronidazol, cloranfenicol y clindamicina (Hirsch y col, 1985; Hirsch y Jang, 1987; Moore y col, 1992).

A los caballos con artritis séptica tras inyección intraarticular se les debería administrar un antibiótico que se haya probado efectivo frente a estafilococos, antes de conocer los resultados laboratoriales, p. ej. amikacina o cefalotina (Moore y col, 1992). En las infecciones desarrolladas tras la reparación quirúrgica de fracturas, se recomiendan combinaciones de antibióticos de amplio espectro como amikacina más una cefalosporina, que muestran la

mayor efectividad frente a la etiología más frecuente (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp.) (Snyder y col, 1987; Moore y col, 1992).

La penicilina G ha representado el antibiótico preferido para las cepas sensibles de estafilococos C- en personas (Lowy y Hammer, 1983). Sin embargo, su efectividad actual ha disminuido. Mientras que Snyder y col (1987) describían una efectividad del 75% para penicilina y ampicilina en casos de caballos con osteomielitis por *Staphylococcus* spp., en estudios posteriores estos antibióticos se han mostrado inefectivos (Moore y col, 1992; Lavoie y col, 1991). *Staphylococcus* spp. aislado de caballos es probable que sea C+ y puede que sea β -lactamasa positivo. La β -lactamasa inactivará las penicilinas, aminopenicilinas (ampicilina), y algunas de las penicilinas de espectro ampliado como la ticarcilina. La adición de sulbactam a la ampicilina incrementa su actividad, incluyendo cepas de estafilococos productoras de β -lactamasa (Papich, 2001). Los estafilococos C- suelen ser más resistentes que los estafilococos C+ (Moore y col, 1992).

Para el tratamiento de infecciones estafilocócicas en caballos, los autores recomiendan la administración de amikacina o cefazolina. La amikacina fue el único antibiótico que se mostró altamente efectivo (más del 95%) frente a todas las bacterias aisladas de artritis sépticas postquirúrgicas (Schneider y col, 1992b). Sin embargo, en otro estudio, aunque fue el antibiótico con mayor efectividad frente al amplio rango de bacterias aisladas de todos los casos de artritis infecciosa en general, los estafilococos C- y los estreptococos no mostraron alta sensibilidad a la amikacina (Moore y col, 1992). La cefazolina posee una buena penetración tisular y su persistencia es mayor que la de otras cefalosporinas como la cefalotina (Neu, 1984). Además, la cefalotina fue efectiva sólo frente al 50% de los estafilococos C- aislados de caballos con osteomielitis (Moore y col, 1992).

Otros antibióticos como cloranfenicol, oxacilina, dicloxacilina, clindamicina, eritromicina y la combinación amoxicilina más ácido clavulánico, han mostrado una actividad adecuada frente a *Staphylococcus* spp. aislados de animales, aunque la resistencia es posible (Rosin, 1990; Lavoie y col, 1991; Papich, 2001). Sin embargo, la clindamicina produce severas diarreas en caballos (Kohn, 1978), y la oxacilina y la dicloxacilina no son utilizados en caballos de forma rutinaria (Papich, 2001). El cloranfenicol muestra una alta actividad frente a un amplio margen de bacterias, incluyendo a estafilococos y estreptococos (Moore y col, 1992), y microorganismos anaerobios (Hirsch y Jang, 1987). Sin embargo, no se recomienda su utilización ya que su manejo representa un riesgo para la salud humana (Yunis y Bloomberg, 1964). Además, el cloranfenicol es bacteriostático, por lo que no se debería administrar a animales inmunocomprometidos, ni se debería combinar con antibióticos bactericidas (Moore y col, 1992).

La rifampicina también es utilizada como parte del tratamiento contra los estafilococos, siempre combinada con otro antibiótico, como el ceftiofur, por la alta probabilidad de

desarrollo de resistencias a ella cuando se administra sola (Frank, 1990; Brown, 1995). Tanto la eritromicina como la lincomicina pueden causar diarrea (Brumbaugh, 1994), especialmente la lincomicina que no debe ser administrada por vía sistémica a los caballos (Raisbeck y col, 1981). En cambio, ambas pueden ser utilizadas en soluciones de lavado intraoperatorias (Moore y col, 1992).

La administración oral de la combinación de una sulfamida con trimetoprim (S×T), suele constituir la terapia de seguimiento después de que la infección haya sido controlada mediante la administración parenteral de antibióticos. Sin embargo, su espectro de acción es muy estrecho, por lo que se recomienda conocer siempre de forma previa los resultados de las pruebas de cultivo y sensibilidad (Moore y col, 1992). Su administración también ha sido asociada con el desarrollo de colitis (Brown, 1995).

La conclusión de todos estos estudios es que la administración conjunta de una cefalosporina junto con amikacina ofrece el mayor espectro frente a las bacterias aisladas en todos los tipos de infecciones ortopédicas equinas. Sin embargo, esta combinación no se debe administrar de forma general a todos los caballos si se quiere evitar el desarrollo de resistencias microbinas y la creación de bacterias que presentan multirresistencia antibiótica y suponen un riesgo para la salud animal y humana. Sí está indicada para caballos que se vayan a someter a la reparación quirúrgica de fracturas de huesos largos donde la infección frecuentemente conduce a una no-uniión, inestabilidad o eutanasia. En el resto de casos y como combinación profiláctica en otros tipos de cirugías, se recomienda la combinación de penicilina G y gentamicina (Moore y col, 1992).

2.3 Estafilococos meticilina-resistentes

La aparición de resistencia microbiana a las penicilinas por parte de las bacterias Gram-positivas hizo necesario el desarrollo y la utilización de nuevos fármacos que fueran, como las penicilinas semisintéticas, resistentes a las penicilinasas sintetizadas por esos microorganismos. Sin embargo, poco después de la introducción clínica de la meticilina en medicina humana, se aislaron cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) (Barber, 1961). A partir de entonces, las infecciones y los brotes hospitalarios de SARM en medicina humana aparecieron por todo el mundo (McDonald, 1982; Wenzel y col, 1991; Panlilio y col, 1992; Emori y Gaynes, 1993). Inicialmente, aparecían de forma esporádica y eran resistentes sólo a β -lactámicos, por lo que no causaban problemas importantes. Sin embargo, las cepas resistentes que aparecieron en Australia a principios de la década de 1980 mostraron un comportamiento diferente, con un alto grado de resistencia frente a otros tipos de antibióticos (McDonald, 1982). Posteriormente su resistencia ha

aumentado y se han extendido por todo el mundo, manteniendo su alta virulencia (Oguri, 1992; Aldridge y col, 1992).

En Veterinaria, las infecciones por SARM han sido menos frecuentes. El primer aislamiento de SARM en animales fue a partir de la leche de vacas con mastitis (Devriese y col, 1972). Posteriormente se han descrito más casos de infecciones por SARM en ganado vacuno y en animales de compañía (Cefai y col, 1994; Scott y col, 1988; Tomlin y col, 1999).

Los primeros SARM en equinos se aislaron de yeguas con metritis y de un semental con dermatitis en Japón (Anzai y col, 1996). Durante los años 1993 y 1994, se produjo un brote de infecciones por estos microorganismos en un hospital Universitario, en el que se aislaron 15 cepas SARM a partir de 11 caballos que desarrollaron infección después de procedimientos médicos o quirúrgicos (Seguin y col, 1999). En 1997, Hartmann y col describieron el caso de un caballo que desarrolló una infección por SARM en una herida en un miembro que previamente había sido intervenido quirúrgicamente en un hospital equino (Hartmann y col, 1997). El último caso, documentado en 2001, se trata de un caballo que desarrolló una infección por *S. epidermidis* resistente a la meticilina (RM), tras la reparación quirúrgica de una fractura de Monteggia (Trostle y col, 2001). Este estafilococo RM, a pesar de no ser *S. aureus*, solamente mostró sensibilidad a eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina y vancomicina y era resistente a la enrofloxacina.

La importancia de esta situación se debe al hecho de que estos microorganismos suelen mostrar resistencia a la mayoría de los antibióticos utilizados comúnmente como aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas, cloranfenicol y a veces también a eritromicina y clindamicina (McDonald, 1982). Aunque inicialmente eran sensibles a las fluoroquinolonas, han desarrollado resistencias también a este grupo de antimicrobianos (Aldridge y col, 1992). Además del mecanismo clásico de resistencia por producción de β -lactamasa, SAMR, así como el 40-60% de las cepas de *S. epidermidis* RM, deben su resistencia a una proteína de unión a la penicilina (proteína PBP2a o SARM-PBP) de alto peso molecular (Murakami y col, 1987; Rossi y col, 1985), codificada por el gen cromosomal *mecA* (Archer y Pennell, 1990; Gerberding y col, 1991). Esta proteína está presente en la pared celular de la bacteria y posee muy poca afinidad por los antibióticos β -lactámicos (Spratt, 1994; Fantin y col, 1991). Estas bacterias producen además una secreción de mucopolisacáridos que forman películas íntimamente adheridas a los implantes en cuyo interior las bacterias se multiplican, hecho que se ha señalado como un aspecto importante de su mecanismo de resistencia (Raad y col, 1998; Hamilton-Miller, 1999; Mayberry-Carson y col, 1984; Gristina y Costerton, 1984). En el interior de estas películas las bacterias muestran una tasa de crecimiento reducida,

posiblemente consecuencia de un ambiente de anaerobiosis, lo que dificulta su erradicación (Svensson y col, 1997).

La resistencia a múltiples antibióticos, incluyendo otros β -lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, clindamicina y tetraciclina, es un buen indicador de que el microorganismo aislado puede ser SARM (Hartmann y col, 1997). Las cepas SARM deberían ser consideradas también resistentes a las cefalosporinas y otros β -lactámicos como amoxicilina-clavulánico, ticarcilina-clavulánico, piperacilina-tazobactam, imipenem y carbapenems, con independencia de los resultados *in vitro*, ya que la respuesta clínica a estos agentes es pobre (Hartmann y col, 1997). De forma ocasional, se observan importantes discrepancias entre la eficacia *in vivo* e *in vitro* de las penicilinas tradicionales frente a los microorganismos SARM (Greenwood, 1981; Drusano, 1988); ya que se han mostrado efectivas en modelos animales (Francioli y col, 1991; Moreillon, 1994), a pesar de mostrar niveles de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) relativamente altas en condiciones *in vitro*. Esto es debido a que la presencia NaCl en el medio y la incubación a 35-50°C estimulan la expresión del gen *mecA* (Kloos y Bannerman, 1995).

La alta sensibilidad de estos gérmenes a los glucopéptidos, determinó hace unos años la consideración de la vancomicina como el fármaco de elección para el tratamiento de estas infecciones (Chambers, 2001b). Desgraciadamente, su uso indiscriminado ha originado la emergencia de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes a la vancomicina que podrían transferir esa resistencia a SARM (Noble y col, 1992). Este hecho, junto con las recomendaciones de los centros para el control y prevención de enfermedades por el uso prudente de la vancomicina, han estimulado la búsqueda de alternativas.

SARM constituye un patógeno nosocomial frecuente en infecciones postquirúrgicas en personas y se está convirtiendo en la mayor causa de infección asociada a los implantes quirúrgicos, donde prolifera protegido en la barrera de polisacáridos (Gristina y Costerton, 1984; Ellington y col, 1999). También se ha aislado en infecciones animales, como en caballos (Snyder y col, 1987; Hartmann y col, 1997; Seguin y col, 1999), en los que ya existen referencias de casos en los que se ha administrado vancomicina para su tratamiento (Trostle y col, 2001). La epidemiología y la patogénesis de las infecciones por SARM en los caballos y en veterinaria no se conoce completamente. Los SARM son parte de la microflora habitual de la piel humana y se cree que son un patógeno oportunista en personas (Raad y col, 1998; Hamilton-Miller, 1999; Strausbaugh, 1999). Y aunque no está claro si los SARM que causan las infecciones en caballos proceden de personas o son parte de la microflora de la piel equina, se recomienda la utilización de barreras de precaución para los caballos afectados (Shimizu y col, 1997; Seguin y col, 1999). Se deberían realizar cultivos y pruebas de

sensibilidad de todas las infecciones postoperatorias, ya que la detección precoz de SARM podría evitar la administración de antibióticos inapropiados y limitar el potencial de problemas a largo plazo (Hartmann y col, 1997). Debido a su importancia en infecciones hospitalarias en personas, a la conocida colonización de personas fuera de los hospitales y a su creciente multirresistencia, está indicado realizar un control más exhaustivo de los pacientes veterinarios y de las instalaciones hospitalarias por el potencial de transmisión de microorganismos RM (Hartmann y col, 1997).

El empleo de vancomicina en animales es controvertido debido a la emergencia de microorganismos resistentes en medicina humana (Stobberingh y col, 1999; Gambarotto y col, 2000). La vancomicina sólo debería ser utilizada en animales si no existen otras alternativas de tratamiento y las pruebas de sensibilidad *in vitro* del organismo etiológico sugiere que la vancomicina será efectiva.

3. Tratamiento quirúrgico de las infecciones ortopédicas

El tratamiento de las infecciones ortopédicas posee dos objetivos fundamentales:

1. La eliminación de los microorganismos infecciosos.
2. La eliminación de los detritus celulares, productos derivados de la inflamación sinovial, fibrina y tejidos necróticos.

Además, se debe realizar una terapia complementaria y de soporte que, dependiendo del caso clínico, consistirá en la administración de antiinflamatorios, inmovilización y reposo.

La precocidad en la instauración del tratamiento está directamente relacionada con el pronóstico. Los mejores resultados se obtienen mediante la identificación temprana del problema y la instauración inmediata de una terapia agresiva (Gibson y col, 1989); mientras que el retraso en el diagnóstico y en el tratamiento empeora el pronóstico (Morris, 1980). Si la infección se elimina antes de que tengan lugar cambios irreversibles, los caballos pueden recuperar la función atlética completa (Schneider y col, 1992b).

El drenaje, el desbridamiento y el lavado quirúrgicos del foco séptico son fundamentales ya se trate de una articulación, de una vaina sinovial, de tejidos blandos o de una infección ósea. Los detritus orgánicos infectados, los mediadores inflamatorios y las enzimas, las células inflamatorias y la fibrina son sustancias nocivas para el cartílago articular (Schneider y col, 1992a; Bertone, 1996; Butson y col, 1996; Steel y col, 1999; Meijer y col, 2000), y su eliminación disminuye el grado de deterioro del mismo (Bertone y col, 1987). La presencia de una efusión purulenta disminuye la efectividad de muchos antibióticos ya que produce una reducción de la tasa metabólica de las bacterias (Daniel y col, 1976; Svensson y col, 1997), y

una acidificación del pH, lo que resta actividad a algunos antibióticos (Tack y Sabath, 1985; Smith y col, 1988; Hardy y col, 1988).

La isquemia y la presencia de tejido necrótico constituyen el problema principal del tratamiento de las infecciones ortopédicas, y son la causa fundamental de la alta tasa de fracaso de la terapia antibiótica que se observa (Waldvogel y Vasey, 1980). Los microorganismos localizados en el tejido necrótico y avascular son resistentes a la terapia antibiótica y al sistema inmune del hospedador, y constituyen la causa de la persistencia de la infección. Por tanto, además de una correcta antibioterapia, es necesario realizar un desbridamiento quirúrgico de todos los tejidos afectados, incluyendo abscesos si están presentes y el tejido óseo necrótico (Martens y col, 1986). Se debe establecer un drenaje efectivo y una antibioterapia que asegure altas concentraciones de antibiótico en el foco de infección (Schneider, 1999).

En casos de artritis infecciosa con componente óseo, de carácter progresivo y crónico en caballos adultos, la artrodesis de la articulación puede constituir la única solución viable para la eliminación del dolor articular (Wisner y col, 1991; Honnas y col. 1992a; Groom y col, 2000). En osteomielitis asociadas a fracturas cuya estabilización resulte imposible, la amputación o la eutanasia pueden ser las únicas alternativas, ya que la probabilidad de que la infección se resuelva es muy baja (Turner, 1987).

4. Antibioterapia de las infecciones ortopédicas

El objetivo de la terapia antibiótica es conseguir concentraciones adecuadas de antibiótico en el foco de infección, es decir, concentraciones que sean efectivas para erradicar los microorganismos infecciosos, a la vez que sean compatibles con la viabilidad de los tejidos orgánicos locales (Verwey y col, 1965; Fitzgerald, 1984). Para conseguir las, se debe realizar un correcto diseño de una terapia antibiótica: elección del fármaco, vía de administración y dosificación. Para ello se deben tener en cuenta los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos que caracterizan la actividad bactericida del antibiótico elegido, las características de los microorganismos etiológicos, las características individuales del paciente y los factores ambientales locales de los tejidos infectados (Brumbaugh, 1994).

La precocidad en la instauración de la terapia antibiótica adecuada puede ser un factor determinante para conseguir la curación del proceso infeccioso (Bertone y col, 1987), y además, previene en gran medida la pérdida de componentes del cartílago articular en el caso de artritis séptica (Smith y col, 1987).

4.1 Principios generales de la antibioterapia

La aparición de infecciones bacterianas multi-resistentes se ha convertido en un problema emergente de tal importancia que actualmente, la utilización correcta de fármacos altamente activos, es más importante que nunca antes. El uso racional de estos fármacos es esencial para prevenir el desarrollo de más resistencias. Ante un paciente con manifestación clínica de enfermedad infecciosa, la primera decisión a tomar es si la administración de un antimicrobiano está o no indicada. La acción refleja de asociar fiebre con infecciones tratables y la administración sistemática de antibióticos sin mayor evaluación es una práctica irracional y potencialmente peligrosa. Los antibióticos pueden ser causa de toxicidad seria y su empleo incorrecto favorece la selección de microorganismos resistentes.

En condiciones ideales, la identificación definitiva del agente bacteriano se debe realizar antes del comienzo del tratamiento antibiótico ya que, si el cultivo se realiza de forma posterior, el diagnóstico puede quedar enmascarado. Sin embargo, en muchas ocasiones esta práctica no es posible. En general, el empleo de los antibióticos se puede clasificar en 3 categorías: como terapia empírica, como terapia definitiva, y como terapia profiláctica o preventiva. Cuando se utilizan como terapia empírica o inicial, el antibiótico debe cubrir todos los patógenos probables, ya que todavía no se ha identificado la etiología del proceso. En estos casos se suele administrar bien una terapia de combinación o bien un único agente de amplio espectro. Sin embargo, una vez identificado el agente etiológico, se debe instaurar una terapia antimicrobiana definitiva que consista en un fármaco de espectro estrecho y baja toxicidad hasta completar el curso del tratamiento. El objetivo es elegir un antibiótico que sea selectivamente activo frente al microorganismo infeccioso más probable y que posea el mínimo potencial de causar toxicidad o reacciones alérgicas en el individuo tratado.

Los antibióticos se clasifican según su estructura química y mecanismo de acción de la siguiente forma (Chambers, 2001a):

1. Agentes que inhiben la síntesis de la pared celular de las bacterias: penicilinas, cefalosporinas, cicloserina, vancomicina, bacitracina, y los agentes antifúngicos del grupo azol.
2. Agentes que actúan directamente en la membrana celular del microorganismo, alterando su permeabilidad y originando la pérdida de componentes intracelulares: polimixina y los agentes antifúngicos poliene nistatina y anfotericina B.
3. Agentes que afectan a la síntesis de proteínas mediante la alteración de la función de las subunidades ribosomales 30S y 50S: cloranfenicol, tetraciclinas, eritromicina, aminoglucósidos, clindamicina y pristinamicinas,.
4. Agentes que afectan al metabolismo de los ácidos nucleicos bacterianos: rifampicinas, quinolonas, trimetoprim y sulfamidas.

En base al efecto final que producen sobre las bacterias, los antibióticos se distribuyen en 2 grupos (Shah y col, 1976):

- Efecto bactericida: el antibiótico produce la muerte bacteriana.
- Efecto bacteriostático: el antibiótico no produce la muerte bacteriana directamente, sino que detiene su crecimiento.

Como regla básica, la concentración de antibiótico en el punto de infección debe ser suficiente para inhibir el crecimiento del microorganismo. Si las defensas del hospedador están intactas y activas, un efecto inhibitor mínimo, como el que ofrecen los agentes bacteriostáticos, puede ser suficiente. En cambio, si los mecanismos defensivos del hospedador están disminuidos, puede ser necesario un antibiótico bactericida para erradicar la infección (Chambers, 2001a). Por otro lado, la concentración del antibiótico debe mantenerse por debajo del umbral de toxicidad para las células del hospedador. Si estas condiciones se pueden conseguir, el microorganismo se considera sensible al antibiótico. En cambio, si una concentración inhibitoria o bactericida no puede alcanzarse con seguridad biológica, el microorganismo se considera resistente a la droga (Chambers 2001a). No obstante, un mismo antibiótico puede mostrar un efecto bacteriostático o bactericida en función de la concentración del mismo (Zahnel, 2001).

4.2 Factores que determinan la sensibilidad o resistencia de los microorganismos

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* que sirven de base para la determinación del punto frontera que define a un organismo como sensible o resistente a un antibiótico, suelen estar basadas en las concentraciones que se alcanzan en sangre sistémica. Sin embargo, las concentraciones en el punto de infección pueden ser considerablemente diferentes a las concentraciones plasmáticas (Stengel y col, 2001). En algunas localizaciones (p. ej. orina), las concentraciones del antibiótico pueden ser muy superiores a las plasmáticas, lo que significa que determinados microorganismos clasificados como “resistentes”, pueden responder a la terapia cuando la infección está limitada al tracto urinario. En cambio, en localizaciones como el humor vítreo del ojo, el líquido cefalorraquídeo, cavidades de abscesos, tejidos isquémicos y zonas necróticas, a pesar de que las pruebas laboratoriales *in vitro* definan al microorganismo como “sensible”, el fármaco puede resultar parcialmente eficaz o incluso, totalmente ineficaz. Estas colecciones de fluidos poseen una menor relación entre superficie y volumen que la mayoría de los tejidos, o simplemente, un menor grado de vascularización, que es lo más frecuente en el caso de las infecciones ortopédicas. Las concentraciones en estas localizaciones serán menores que las plasmáticas (Kalager y col,

1984). Por tanto, la utilización de los niveles séricos en estos casos originará una inadecuada estimación de parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos indicadores de la eficacia antimicrobiana del antibiótico. En conclusión, el establecimiento de una simple relación entre la concentración plasmática del fármaco y la eficacia clínica no es sencillo (Chambers, 2001a).

De forma general, se describen 3 tipos de resistencia bacteriana frente a los agentes antibacterianos (Spratt, 1994):

- 1- el fármaco no alcanza su objetivo (en este caso el microorganismo).
- 2- el fármaco no está activo.
- 3- el objetivo está alterado.

El antibiótico localizado en el espacio intravascular debe atravesar la pared capilar para acceder al espacio del líquido intersticial y difundir a los diferentes tejidos (membrana sinovial, líquido sinovial...). El grado de unión del antibiótico a las proteínas puede reducir su difusión a los tejidos mediante una reacción reversible entre los lugares de unión a las proteínas plasmáticas y tisulares, y el antibiótico disponible. La parte de antibiótico libre difunde fácilmente al interior del tejido y es más activa frente a las bacterias. La concentración de fármaco en los tejidos depende por tanto, del grado de unión del fármaco a ese tejido (Gibaldi y McNamara, 1978). Sin embargo, un grado de unión a proteínas alto no siempre es adverso, ya que puede significar una actividad prolongada en el tejido debido a una tasa de excreción menor, derivada de una liberación mantenida del antibiótico unido a las proteínas tisulares (Neu, 1984). Por otro lado, existen antibióticos que se unen en un grado muy alto a las proteínas plasmáticas, mientras que el grado de unión en los tejidos es menor. En este caso, la concentración total en plasma será muy superior a la concentración total en líquido sinovial; sin embargo, las concentraciones libres (activas) pueden ser similares en ambos compartimentos (Howell y col, 1972). Además, existen estudios que muestran que los efectos específicos del grado de unión a proteínas sobre la capacidad de penetración tisular del antibiótico y sobre las concentraciones tisulares activas del mismo, son mínimos (Cunha y col, 1977; Waterman y col, 1976; Bergamini y Polk, 1989).

La actividad antibacteriana de los antibióticos es variable y está influenciada por numerosos factores como aspectos fisiológicos del microorganismo, el estadio de crecimiento del inóculo bacteriano, mecanismos de resistencia, factores microambientales (presencia de enzimas inactivadoras del antibiótico, pH, altas concentraciones de proteína), y el estado del sistema inmune del hospedador (DiPiro y col, 1996). La infección de un tejido produce un descenso del pH, lo que origina un gradiente de pH entre el foco de infección y los tejidos de alrededor; situación que puede producir la acumulación de antibióticos alcalinos. Además, el pH bajo

disminuye la actividad de algunos antibióticos e incrementa la CMI para algunos microorganismos (Smith y col, 1988; Hardy y col, 1988). En el foco séptico, se crea con frecuencia un ambiente de anaerobiosis o microanaerobiosis, condición que disminuye la tasa metabólica de las bacterias, lo que a su vez, reduce la actividad de los antibióticos (Svensson y col, 1997). Por otro lado, la infección de un tejido produce una alteración de la permeabilidad vascular, lo que va a influir definitivamente en la tasa de penetración del antibiótico (Bloom y col, 1980). Otras características patogénicas de las infecciones ortopédicas como la formación de abscesos, la isquemia y la necrosis tisular, reducen la capacidad de difusión de los antibióticos (Fitzgerald, 1982).

En conclusión, la llegada del antibiótico al microorganismo no asegura la muerte bacteriana. La selección y dosificación adecuadas de un antibiótico para la terapia de procesos infecciosos, requiere un conocimiento detallado de los factores microbiológicos y farmacológicos.

4.3 Parámetros de eficacia de la actividad antimicrobiana de los antibióticos

La farmacología de la terapia antimicrobiana comprende el estudio farmacocinético y el estudio farmacodinámico tras la administración del antibiótico:

1. La farmacocinética estudia la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción del fármaco. Describe las concentraciones del antibiótico en sangre sistémica, en líquidos y en tejidos orgánicos frente al tiempo. Sin embargo, no relaciona la concentración del antibiótico con el efecto antibacteriano del mismo, lo que representa el principal interés en el caso de los antibióticos (Zahnel, 2001).
2. La farmacodinamia relaciona las concentraciones plasmáticas o tisulares con el efecto biológico sobre las bacterias y el efecto toxicológico (Zahnel, 2001).

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB), son los indicadores o parámetros de eficacia (PE) que se han utilizado tradicionalmente para cuantificar la actividad del antibiótico frente al patógeno infeccioso y establecer los regímenes de dosificación:

- CMI: es la menor concentración de antibiótico que previene o impide el crecimiento visible después de 18-24 horas de incubación.
- CMB: es la menor concentración de antibiótico que da lugar a una reducción del 99,9% en el recuento bacteriano.

CMI y CMB indican la potencia de la interacción droga-microorganismo, pero no ofrecen información acerca de la actividad antimicrobiana a lo largo del tiempo y, además, pueden no

detectar subpoblaciones de bacterias resistentes (Zahnel, 2001). Por ello, en los últimos años se han añadido otros PE:

- C_{max}/CMI o C_{max}/CMB : cociente de la concentración máxima (o concentración pico: C_{max}) frente a la CMI o la CMB.
- $T > CMI$ o $T > CMB$: tiempo (T) durante el cuál las concentraciones plasmáticas son superiores a la CMI o CMB.
- AUC_t/CMI o AUC_t/CMB : área bajo la curva (AUC) en la curva de la concentración frente al tiempo por encima de la CMI o CMB, desde el inicio hasta el tiempo t.

Con estos PE se describe la actividad antibacteriana de una manera más correlacionada con el curso de la concentración del antibiótico en el tiempo y, en base a ellos, los antibióticos se agrupan de forma general en 2 tipos de actividad antimicrobiana (Shah y col, 1976):

- Actividad antibacteriana dependiente de la concentración: cuanto mayor es la concentración del antibiótico, más alta la tasa y la extensión de la actividad antimicrobiana. Aminoglucósidos, fluoroquinolonas y metronidazol para los anaerobios (Vogelman y Craig, 1986; Craig y Ebert, 1990; Shah y col, 1976).
- Actividad antibacteriana dependiente del tiempo: la actividad antimicrobiana es directamente dependiente del tiempo de exposición del microorganismo a una concentración de antibiótico determinada (CMI o CMB). Existe una saturación de la tasa de lisis bacteriana a una determinada concentración de antibiótico; concentraciones por encima de este valor no producen una mayor erradicación bacteriana. Sin embargo, concentraciones altas pueden estar asociadas con un comienzo más temprano de la actividad (Craig y Ebert, 1990). β -lactámicos, cefalosporinas, carbapenems, vancomicina, clindamicina y macrólidos (Shah y col, 1976; Vogelman y Craig, 1986; Craig y Ebert, 1990; Craig, 1998; Burgess, 1999; Turnidge, 1999; Woodnutt, 2000).

4.4 Efectos persistentes de los antibióticos

Los antibióticos ejercen una serie de efectos antibacterianos que se observan en el tiempo una vez que su concentración ha disminuido significativamente. Estos efectos junto con los parámetros anteriores ofrecen una descripción mucho más completa y exacta de la actividad antimicrobiana a lo largo del tiempo (Craig, 1998). Los más frecuentemente utilizados son: efecto postantibiótico (EPA), efecto post-antibiótico sub-CMI (EPA-SCMI), y efecto del refuerzo leucocitario post-antibiótico (RLPA) (McDonald y col, 1977 y 1981; Odenholt-Tornqvist y col, 1992).

- **EPA:** es la supresión del crecimiento bacteriano una vez retirado el antibiótico (McDonald y col, 1981; Vogelmann y Craig, 1986; Craig y Gudmunsson, 1996). Indica el tiempo que un organismo necesita para recuperarse de los efectos de la exposición a un antimicrobiano. La duración del EPA depende del antibiótico, de la cepa bacteriana y del tiempo de exposición (Eagle y Musselman, 1949). Todos los antimicrobianos producen EPAs *in vitro* cuando se exponen a ellos bacterias Gram-positivas (Eagle y Musselman, 1949) y, en la mayoría de las ocasiones, los EPAs *in vivo* son más largos que los EPA *in vitro*.
- **EPA-SCMI:** es el efecto post-antibiótico ejercido por concentraciones de antibiótico inferiores a la CMI. Las concentraciones de antibióticos inferiores a la CMI (sub-CMI), reducen la tasa de crecimiento y producen cambios morfológicos en los microorganismos (Cars y Odenholt-Tornqvist, 1993). Estas concentraciones sub-CMI también pueden prolongar la duración del EPA, y se cree que son las responsables de los EPAs más largos que se observan *in vivo* en comparación a los observados *in vitro* (Craig y col, 1991).
- **RLPA:** representa la mayor sensibilidad que muestran las bacterias a ser fagocitadas y lisadas intracelularmente por los leucocitos durante la fase post-antibiótica (después de retirar el antibiótico). El RLPA también puede prolongar la duración del EPA, tanto *in vivo* como *in vitro* (McDonald y col, 1981; Craig y Gudmunsson, 1996).

4.5 Actividad antimicrobiana de algunos grupos de antibióticos

La eficacia antimicrobiana (erradicación bacteriana) de los antibióticos va a estar definida por los PE y los efectos persistentes de manera diferente para los diferentes antibióticos.

β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenems):

Poseen una actividad bactericida dependiente del tiempo, siendo por tanto $T > CMI$ el PE más importante. Mayores concentraciones de antibiótico no eliminan las bacterias más eficazmente que concentraciones menores, siempre y cuando éstas sean superiores a CMI (Craig, 1998; Turnidge, 1999; Burgess, 1999; Woodnutt, 2000).

Muestran sólo suaves a moderados efectos de persistencia contra los patógenos, el recrecimiento bacteriano tiene lugar pronto después de que las concentraciones tisulares del antibiótico caigan por debajo de la CMI. Únicamente en el caso de los estafilococos el EPA es prolongado (Zahnel, 2001).

Sin embargo, no es necesario que la concentración de antibiótico sea superior a la CMI durante todo el intervalo interdosificación. Se considera que para conseguir una actividad bactericida y una curación >85%, es necesario un T>CMI del 40-50% del intervalo entre dosis. La actividad bactericida máxima se consigue cuando T>CMI es aproximadamente el 60-70% del intervalo, y se recomienda un T>CMI mínimo del 40-50% (Craig, 1998; Zahnel, 2001). En casos de osteomielitis, se requiere una mayor persistencia de las concentraciones séricas bactericidas para conseguir la curación, llegando en ocasiones a recomendar el 100% del intervalo interdosis (Weinstein y col, 1987; Craig, 1995).

Para estafilococos, se requiere un T>CMI menor que para estreptococos y bacilos Gram-negativos, lo que se debe al prolongado EPA que muestra *in vivo* frente a los estafilococos.

Aminoglucósidos:

Su actividad bactericida es altamente dependiente de la concentración, y los prolongados EPAs que presentan hacen posible las administraciones poco frecuentes aunque con dosis elevadas. C_{max}/CMI y AUC₂₄/CMI son los PE que mejor se correlacionan con su actividad antimicrobiana, y C_{max}/CMI también está correlacionado con la prevención del desarrollo de resistencias durante la terapia. A mayor C_{max}/CMI, menor es la probabilidad de desarrollo de resistencias (Zahnel, 2001).

En el caso de los aminoglucósidos, se recomienda C_{max}/CMI = 8-10 para conseguir una respuesta clínica ≥ 90% (Craig, 1998). Actualmente se realizan dosificaciones únicas cada 24 h que también disminuyen la incidencia de nefrotoxicidad y ototoxicidad asociadas con los aminoglucósidos (Verpooten y col, 1989).

Fluoroquinolonas:

Al igual que los aminoglucósidos, las fluoroquinolonas poseen su actividad bactericida concentración-dependiente y muestran EPAs prolongados. C_{max}/CMI y AUC₂₄/CMI son los PE que mejor indican su actividad antimicrobiana y, a mayor C_{max}/CMI, menor es la probabilidad de desarrollo de resistencias (Zahnel, 2001).

Las fluoroquinolonas ejercen un efecto bacteriostático cuando AUC₂₄/CMI ~35, y valores de AUC₂₄/CMI ≥100 se asocian con ausencia de mortalidad. Asimismo, valores de C_{max}/CMI = 8-10 también previenen la aparición de mutantes resistentes durante la terapia con fluoroquinolonas (Blaser y col, 1987; Craig, 1998).

Otros antibióticos (macrólidos, vancomicina, azitromicina y estreptograminas):

Los antibióticos incluidos en este grupo poseen una actividad bactericida tiempo-dependiente, por tanto, T>CMI es el factor que más va a determinar la eficacia del tratamiento. Sin embargo, aun no siendo concentración-dependiente, AUC₂₄/CMI es el PE que mejor se ha

correlacionado con su eficacia terapéutica. Este hecho puede estar debido a sus EPAs *in vivo*, que son mucho más prolongados si se comparan con otros antibióticos (Craig y Gudmunsson, 1996; Zahnel, 2001).

Para los macrólidos, las dosis recomendadas consiguen T>CMI durante el 88-100% del intervalo (Craig, 1998) y los resultados obtenidos son buenos salvo en aquellas infecciones por microorganismos con CMI muy altas como *H. influenzae* (Klein, 1993).

En el caso de la vancomicina, se recomienda mantener las concentraciones por encima de CMI durante todo el tiempo que sea posible (DiPiro y col, 1996).

4.6 Vías de administración de los antibióticos

En las infecciones de los tejidos, las bacterias patógenas se localizan extracelularmente, por lo tanto, las concentraciones de antibiótico en líquido intersticial son los determinantes fundamentales de la eficacia (Verwey y col, 1965; Fitzgerald, 1984). De forma general se señala que las concentraciones en sangre sistémica indican mejor los niveles en líquido intersticial que las concentraciones de tejidos homogeneizados, ya que en éstos se mezclan los componentes intersticial, intracelular y vascular. La utilización de concentraciones de homogeneizados tisulares produce la sobreestimación o la subestimación de la concentración de antibiótico en el líquido intersticial, dependiendo de la tendencia del fármaco a acumularse intracelularmente o no (Craig, 1998). Sin embargo, en las infecciones ortopédicas, los fenómenos de alteración vascular también invalidan la equivalencia con la farmacocinética del antibiótico a nivel sistémico (Kalager y col, 1984). Por tanto, la utilización de los niveles séricos originará, en estos casos, una estimación inadecuada de los PE indicativos de la efectividad de la antibioterapia.

4.6.1 Antibioterapia sistémica

El antibiótico localizado en el espacio intravascular debe atravesar la pared capilar para acceder al espacio del líquido intersticial. La Cmax plasmática de un antibiótico tras su administración intravenosa sistémica se alcanza de forma inmediata. Sin embargo, el resto de tejidos poseen un flujo sanguíneo menor, especialmente el hueso cortical, lo que explica la fase compensatoria de retraso entre la inyección IV y el pico de concentración en hueso (Cunha y col, 1977). Los primeros estudios sugerían que los capilares óseos suponían una barrera para la difusión del antibiótico y eran la causa del fracaso para eliminar las infecciones óseas y de su frecuente recidiva tras la terapia antimicrobiana (Verwey y col, 1965). Sin embargo, se ha demostrado posteriormente que estas situaciones se deben a las características patogénicas de la infección ósea (Bloom y col, 1980; Lunke y col, 1981; Hall y

Fitzgerald, 1983; Williams y col, 1983; Neu, 1984; Fitzgerald, 1984; Grimer y col, 1986; Mader y col, 1999). No existen muchos estudios que describan la penetración de los antibióticos en el tejido óseo equino (Budsberg y Kemp, 1990; Nelson y col, 1994), pero se ha comprobado que muchos antibióticos poseen una buena penetración y se alcanzan concentraciones adecuadas en el tejido óseo de personas (Waldvogel y Vasey, 1980; Walker y col, 1983). Para el tratamiento de la osteomielitis se prefieren sustancias bactericidas (McIlwraith, 1986) y se recomienda prolongar la administración de antibióticos durante 4-6 semanas después de observar una curación clínica debido a la alta incidencia de reagudizaciones (Waldvogel y Vasey, 1980).

En potros neonatos, especialmente en prematuros e hipóxicos, existen diferencias en la farmacocinética de algunos antibióticos que requieren modificaciones de los regímenes de dosificación indicados para los adultos. En estos animales se deben monitorizar niveles plasmáticos de los antibióticos para realizar los ajustes de dosificación necesarios (Green y Conlon, 1993; Raisis y col, 1998).

La mayoría de los fármacos antimicrobianos poseen una penetración adecuada de la membrana sinovial sana cuando son administrados por vía sistémica (Bertone y col, 1987; Bertone, 1996; Giguere y col, 1996; Bertone, 1999). Sin embargo, las concentraciones sinoviales no siempre son paralelas a las concentraciones plasmáticas, y por lo tanto, las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para patógenos particulares pueden ser causa de modificaciones en la selección del antibiótico y de su régimen de dosificación. En la fase aguda de la inflamación, la permeabilidad de los vasos está aumentada, lo que puede producir niveles sinoviales de antibiótico superiores a los alcanzados en articulaciones sanas; sin embargo, también es más rápida la eliminación (Nelson, 1971; Firth y col, 1988). No obstante, en un estudio posterior sobre perfusión regional, los niveles sinoviales de gentamicina en articulaciones con inflamación aguda experimental fueron inferiores que en las articulaciones sanas (Whitehair y col, 1992a). A medida que el proceso infeccioso avanza, las alteraciones patogénicas que se producen a nivel local afectan de forma negativa a la difusión desde el compartimento intravascular y por tanto, a la efectividad de los antibióticos (Smith y col, 1988; Hardy y col, 1988; Stengel y col, 2001).

Los fenómenos de trombosis, isquemia y necrosis tisular, la acumulación de detritus celulares, la formación de abscesos y la presencia de material necrótico avascular, disminuyen el aporte sanguíneo al foco de infección. Esta situación puede impedir que se alcancen las concentraciones necesarias para luchar contra los microorganismos infecciosos responsables (Fitzgerald, 1982; Smith y col, 1988; Stengel y col, 2001). El descenso del pH y la situación de anaerobiosis en la zona infectada disminuyen la eficacia de muchos antibióticos (Tack y Sabath, 1985; Tuomanen, 1987; Smith y col, 1988; Svensson y col, 1997). En muchas ocasiones, estos hechos son los responsables del fracaso terapéutico y

del mantenimiento de la infección; además, el riesgo de aparición de resistencias aumenta. La administración de cantidades mayores de antibióticos por vía sistémica podría combatir esta situación. Sin embargo, existen antibióticos cuya administración a dosis normales constituye ya un riesgo de desarrollo de efectos tóxicos, o situaciones en las que el incremento de la dosificación normal puede suponer un incremento importante en el riesgo de toxicidad (Raisis y col, 1998; Brumbaugh, 2001). Por otro lado, el caballo es un animal de gran tamaño, que requiere cantidades elevadas de antibiótico, lo que unido con la duración media prolongada del tratamiento de las infecciones ortopédicas, representa una limitación económica en algunos casos (Schneider y col, 1992a).

Por estas razones, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas de administración local y regional de antibióticos que permiten alcanzar altos niveles de antibiótico en el lugar de la infección, mientras que se mantienen unos niveles sistémicos por debajo del umbral de toxicidad del fármaco y, además, permiten el empleo de fármacos cuya administración sistémica a los caballos resultaría económicamente prohibitiva.

4.6.2 Antibioterapia loco-regional

Durante años, la administración local de agentes antimicrobianos fue considerada tabú, porque las soluciones variaban el pH fisiológico, lo que se consideraba nocivo para los tejidos. Sin embargo, se ha comprobado que los efectos perjudiciales de la administración local de antibióticos fueron excesivamente exagerados, y uno de los avances más importantes en el manejo de las infecciones ortopédicas en los caballos ha sido la administración de antibioterapia de manera loco-regional. Las altas concentraciones tisulares de antibióticos causan una rápida eliminación de las infecciones de la articulación y hueso (Lloyd y col, 1990; Wininger y Fass, 1996).

La administración sistémica de antimicrobianos se mantiene como terapia complementaria importante, pero la administración loco-regional permite conseguir niveles muy superiores a la administración sistémica y ofrece las siguientes ventajas (Bertone y col, 1990):

1. Mayor seguridad de que los niveles de antibióticos alcanzados en los puntos de infección sean terapéuticos y por lo tanto, el proceso infeccioso se resuelva. Se contrarrestan los efectos de las alteraciones de la vascularización regional, de la acumulación de detritus celulares y de la disminución de la efectividad del antibiótico.
2. Disminución, si no eliminación, del riesgo de desarrollo de gran cantidad efectos adversos a nivel sistémico que presentan algunos antibióticos, como nefrotoxicidad, ototoxicidad o neurotoxicidad. Éste aspecto posee gran importancia en el caso de

pacientes altamente sensibles (potros septicémicos), o en aquéllos que ya posean patologías renales.

3. Al poseer mayor control sobre los niveles alcanzados, y siendo éstos muy superiores a la concentración mínima inhibitoria, se disminuye la posibilidad de aparición de resistencias emergentes.
4. Disminución del coste económico, de interés en el caso de fármacos de elevado precio, lo que posibilita su utilización en animales de gran tamaño como el caballo.

Se han desarrollado varios métodos para la administración local o regional de antibióticos como la administración intraarticular, la perfusión regional, los implantes de polimetilmetacrilato (PMMA) o de polímeros biodegradables impregnados de antibiótico, y las bombas de infusión. La perfusión regional se trata en un punto aparte (4.7) debido a su importancia en este trabajo.

4.6.2.1 Infiltración local directa. Administración intraarticular

La inyección de antibióticos cada 24 horas en el interior de la articulación infectada constituye hoy en día, la práctica más común en el tratamiento de las artritis infecciosas tempranas (Bertone, 2003). Se consiguen C_{max} muy elevadas, las concentraciones sinoviales se mantienen por encima de la CMI durante más de 24 horas para algunos antibióticos y la técnica ha mostrado una eficacia superior a la antibiterapia sistémica (Lloyd y col, 1988a y 1990). La mayoría de los antimicrobianos se consideran apropiados para su administración intraarticular; sin embargo, no se recomienda la administración intraarticular de fármacos irritantes o agresivos como las fluoroquinolonas por su condrotoxicidad (Beluche y col, 1999), o la vancomicina por su acidez y capacidad irritante (Orsini y col, 1992).

Recientemente se ha descrito la infusión intraarticular de antibióticos de forma continua durante varios días utilizando una bomba de infusión. Aunque los resultados mostraron gran variabilidad, la técnica permitió mantener concentraciones de gentamicina mayores a la CMI durante los 5 días que duró el estudio (Lescun y col, 2000 y 2002).

4.6.2.2 Implantes de liberación lenta no biodegradables.

Polimetilmetacrilato

El polimetilmetacrilato (PMMA) es un acrílico que se comercializa en forma de polvo liofilizado al que se le añade un polímero líquido para que adquiera consistencia sólida mediante una reacción exotérmica. En este proceso se alcanzan altas temperaturas, hecho importante ya que puede producir lesiones térmicas en los tejidos. El antibiótico elegido ha de ser termorresistente, además de poseer la propiedad de ser liberado desde el acrílico a los tejidos y fluidos de alrededor (Schneider, 1999).

La tasa de liberación de los antibióticos desde el PMMA varía con el tamaño y la forma del implante, la cantidad de agente antimicrobiano impregnado y el tipo y la forma del antibiótico (Baxter, 1996). Gentamicina, amikacina, cefazolina, tobramicina y enterofloxacina se han utilizado con éxito para el tratamiento de infecciones ortopédicas en caballos (Ostermann y col, 1995; Schneider y col, 1995; Swalec-Tobias y col, 1996; Butson y col, 1996; Holcombe y col, 1997; Booth y col, 2001; Farnsworth y col, 2001; Trostle y col, 2001; Richardson, 2003). Su utilización ha producido un incremento de la tasa de curación de osteomielitis en caballos (Holcombe, 1997).

Se suelen colocar en el foco de infección una vez que éste ha sido desbridado (Holcombe y col, 1997). La colocación intraarticular de implantes de PMMA con antibióticos origina una liberación de niveles de antibiótico menores pero más mantenidos en el tiempo, que la inyección intraarticular (Butson y col, 1996; Booth y col, 2001; Farnsworth y col, 2001). Cuando se trata de fracturas, es frecuente la colocación del acrílico con antibiótico entre la placa de osteosíntesis y la superficie ósea como medida profiláctica, a la vez que se aumenta la rigidez del implante (luting) al incrementar la fricción entre la placa y el hueso. También se pueden colocar en el interior de la herida (Swalec-Tobias, 1996; Holcombe y col, 1997).

Existen estudios sobre las características de liberación de la vancomicina a partir de PMMA (Greene y col, 1998; Bertazzoni y col, 2002), y se han utilizado con éxito en personas (Chan y col, 1998; Roeder y col, 2000) y en un caballo con osteomielitis secundaria a la reparación de una fractura de Monteggia (Trostle y col, 2001). No se han colocado a nivel intraarticular, quizás debido a su capacidad irritante.

Aunque el PMMA es un material relativamente inerte y bien aceptado por los tejidos, no es biodegradable. En casos en que los implantes se localizan suficientemente separados de las superficies articulares y no interfieren con ninguna estructura, pueden quedar *in situ* de forma permanente (Holcombe y col, 1997). En las situaciones contrarias o cuando se produce una reacción inflamatoria frente a ellos, se recomienda su retirada. La retirada de los implantes puede resultar difícil cuando son englobados por la membrana sinovial en un receso (Bertone, 2003). Tras su colocación intraarticular, se han observado episodios intermitentes de cojera puntual que se han relacionado con el movimiento libre de los implantes en el interior de la cavidad articular (Farnsworth y col, 2001).

4.6.2.3 Implantes de liberación lenta biodegradables

Aunque el PMMA ofrece ventajas para la liberación local de antibióticos, su persistencia no es ideal, sobre todo para ciertos tipos de tejidos. Por ello, y para evitar el procedimiento de extracción posterior, se han realizado estudios sobre la administración local de antibióticos mediante su adición a otros polímeros bioabsorbibles como colágeno, glicólidos, polianhidridos, ácido poliláctico, ácido sebácico, fosfato tricálcico y cemento óseo de

carbonato de calcio (Mehta y col, 1996; Benoit y col, 1997; Nie y col, 1998; Cook y col, 1999; Liu y col, 2002), que han mostrado una liberación local adecuada de antibióticos. A causa de la degradación progresiva del implante, se consigue una liberación del fármaco más prolongada y en cantidades mayores.

Pruebas experimentales *in vitro* (Cook y col, 1999) y aplicaciones clínicas en caballos y conejos (Laurencin y col, 1993; Cook y col, 1997) han mostrado efectividad para la eliminación de infecciones sinoviales y óseas.

4.6.2.4 Bombas de infusión mantenida

Se trata de pequeños dispositivos que se suelen colocar en localización subcutánea o sobre la piel, que poseen un catéter que se prolonga hasta el interior del foco séptico o la articulación infectada, a través del cuál se libera el antibiótico (Baxter, 1996; Lescun y col, 2000 y 2002).

4.7 Perfusión regional con antibióticos

La perfusión regional (PR) es una técnica que consiste en la infusión de una sustancia en una porción del organismo aislada vascularmente de la circulación sistémica.

4.7.1 Historia de la perfusión regional

En 1908, Bier y col realizaron las primeras perfusiones en personas para conseguir anestésicos regionales. Desde los años 50 y 60, esta técnica se utilizó para la administración de otras sustancias, como por ejemplo fármacos citostáticos en oncología (Grosshandler y col, 1965; Fischer, 1985), y antibióticos en procesos sépticos (Hurley y col, 1966; Finsterbush y col, 1972; Jones y col, 1973). Las primeras aplicaciones clínicas de la perfusión regional en animales datan de la década de los años 60, inicialmente con el objetivo de conseguir anestésicos regionales de las áreas distales de las extremidades (Antalovsky, 1965; Avemann, 1974; Prentice y col, 1974) y, posteriormente, para el tratamiento de infecciones localizadas (Finsterbush y col, 1970; Fessl y Awad-Masalmeh, 1975; Hauck-Bauer, 1977). La administración conjunta de un anestésico local y un antibiótico en una misma perfusión regional permite, a la vez que una administración de antibióticos para el tratamiento de la infección, la realización de un desbridamiento quirúrgico de los tejidos afectados sin anestesia general (Hauck-Bauer, 1977; Stanek y col, 1984).

Las primeras aplicaciones de antibióticos por perfusión regional en animales se documentaron en conejos en el año 1970 (Finsterbusch y col, 1970). A partir de 1975 aparecen estudios en la especie bovina (Fessl y Awad-Masalmeh, 1975; Dietz y col, 1980;

Stanek y col, 1984). En 1990 Dietz y Kehnscherper describieron por primera vez en los equinos la técnica de perfusión regional con antibióticos. En base a estas experiencias desarrolladas mayoritariamente en Alemania, y debido al creciente interés por desarrollar nuevas formas de vehiculización local o regional de antibióticos que permitieran mejorar la efectividad del tratamiento de las infecciones ortopédicas en los caballos, numerosos investigadores a nivel mundial han desarrollado trabajos fruto de los cuales, actualmente, la PR se considera una técnica efectiva para el tratamiento de procesos infecciosos de las extremidades de los animales (Whitehair y col, 1992a; Santschi y col, 1998; Cruz A, 1999; Murphey y col, 1999).

4.7.2 Características de la perfusión regional

Esta técnica ofrece todas las ventajas descritas para los sistemas de administración regional de antibióticos y, por tanto, cumple con el objetivo de alcanzar altas concentraciones de antibiótico en el foco de infección.

Con la PR el antibiótico alcanza los tejidos mediante difusión a partir del compartimento o lecho vascular próximo. Las altas concentraciones de antibiótico en el sistema vascular y la presurización del mismo generan un gradiente de concentración muy elevado entre el espacio intravascular y los tejidos, lo que maximiza el proceso de difusión a todos éstos (líquido sinovial, tejidos blandos y hueso), incluidos los poco vascularizados donde las bacterias se encuentran protegidas (Finsterbush y col, 1972). Durante la PR se produce una dilatación de los capilares venosos, las vénulas post-capilares y los vasos linfáticos, lo que origina una relajación de los contactos entre las células endoteliales y entre los pericitos, con la consiguiente aparición de pequeños espacios o defectos en la pared vascular que permiten una mayor difusión, sin producirse daños celulares. Las arteriolas, por su parte, no contribuyen en el proceso de la difusión (Langer y col, 1996).

El aislamiento circulatorio de una porción de una extremidad se consigue mediante la aplicación de torniquetes. Se puede aplicar un único torniquete proximal a la infección, o bien dos torniquetes, uno proximal y otro distal al foco infeccioso.

4.7.3 Torniquetes. Tipos y características

Los torniquetes han sido utilizados tradicionalmente en cirugías de la porción distal de las extremidades de los caballos, para evitar la pérdida de sangre y disponer de una visibilidad mejor. De forma general y en base a la experiencia clínica, en los caballos la aplicación de un torniquete durante 2 horas se considera segura (Adams, 1998). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la aplicación de un torniquete no está exenta de efectos adversos locales y sistémicos, aunque la incidencia en los caballos es baja (véase apartado 4.7.7 Complicaciones de la perfusión regional). La mayoría de los estudios experimentales

realizados en caballos han mantenido el torniquete durante 30 min (Whitehair y col, 1992b; Baxter, 1996, Whitehair, 1995; Palmer y Hogan, 1999; Richardson, 2003), aunque en casos clínicos se han aplicado por períodos de hasta 1 hora, sin observar efectos secundarios (Kettner y col, 2003).

Como torniquetes para la perfusión regional en animales se han empleado vendas de goma elástica, como la venda de Esmarch, y torniquetes neumáticos. El torniquete neumático permite un mejor control de la técnica y la presión ejercida, ésta es aplicada de forma más uniforme y la probabilidad de producir daños tisulares es menor (Grice y col, 1986); sin embargo, supone un coste económico alto. Por su parte, la venda de Esmarch o una venda de goma elástica similar, han mostrado ser efectivas para restringir el retorno venoso de la extremidad del caballo cuando se aplican a nivel de metacarpiano proximal, y su coste es significativamente inferior (Dietz y Kehnscherper, 1990; Palmer y Hogan, 1999; Murphey y col 1999).

La eficiencia del torniquete para evitar las pérdidas de la solución administrada hacia la circulación sistémica depende de la anchura y la presión del torniquete, de las características individuales del paciente, de la velocidad y el punto desde el que se realiza la infusión y de la realización o no de exanguinación previa. Los torniquetes anchos, una tasa de inyección lenta y la realización de una exanguinación previa, reducen la probabilidad de que se produzcan pérdidas (Grice y col, 1986). No obstante, se han utilizado torniquetes de una anchura menor, con resultados satisfactorios (Navarre y col, 1999; Butt y col, 2001), aunque los torniquetes estrechos poseen una eficiencia menor (El-Hassan y col, 1984) y son más traumáticos para los tejidos (Adams, 1998)

4.7.4 Técnicas de realización

La administración del antibiótico se puede realizar por vía intravenosa (PRIV), a través de una vena superficial, o bien intraósea (PRIO) al interior de la cavidad medular del hueso. También se puede utilizar la vía intraarterial (Worster y col, 2000), aunque los efectos tóxicos de los fármacos y sus consecuencias adversas son más frecuentes y severas sobre el endotelio vascular de una arteria que sobre el endotelio venoso, ya que la dilución del fármaco en sangre ocurre más lentamente en la luz arterial (Gottlob, 1972).

En cualquier caso se puede realizar la exanguinación previa de la zona a perfundir mediante la aplicación de una venda de Esmarch en sentido proximal desde el torniquete distal, en el caso de la utilización de dos torniquetes, o, desde el extremo distal de la extremidad, en el caso de la aplicación de un único torniquete. En este caso, el torniquete ha de ser colocado en posición proximal a la zona a perfundir para conseguir la oclusión de los sistemas arterial y

venoso, y así evitar el relleno sanguíneo del árbol vascular y la fuga de la solución perfundida. Se recomienda cateterizar la vena superficial de forma previa a la exanguinación, ya que posteriormente la vena queda colapsada y resulta más difícil. Se pueden utilizar agujas de mariposa o catéteres intravenosos, normalmente de 18G-20G para caballos adultos, y 22G para potros. La utilización de calibres inferiores (26G) produce un daño menor al vaso sanguíneo, lo que es conveniente si se van a realizar perfusiones repetidas (Richardson, 2003).

Los primeros autores que aplicaron la técnica en animales en estación no utilizaron la venda de Esmarch, pero realizaban una exanguinación pasiva una vez que la vena había sido cateterizada (Dietz y col, 1980; Steiner y col, 1990). La perfusión regional sin exanguinación previa también es eficaz (Navarre y col, 1999; Mattson y col, 2002b; Harriss y col, 2002), aunque en este caso el árbol vascular contiene un volumen de sangre alto, situación que se debería tener en cuenta para la determinación del volumen total a perfundir ya que es más probable que el torniquete no sea efectivo (Grice y col, 1986).

La inserción del sistema de infusión intraóseo se puede realizar antes o después de la exanguinación. Las agujas intramedulares de medicina humana son fáciles de aplicar en huesos de pequeños animales y potros neonatos (Golenz y col, 1993; Hughes y Keat, 2000); sin embargo, los huesos de las extremidades de los caballos adultos precisan de una perforación previa que permita la inserción de la aguja (Whitehair y col, 1992b). También se puede insertar el extremo distal de un sistema de administración de fluidos directamente en el orificio perforado en el hueso (Butt y col, 2001). Durante la perfusión intraósea se alcanzan altas presiones intramedulares, lo que causa problemas de reflujo a nivel de la inserción de la cánula o sistema (Butt y col, 2001). Este inconveniente se reduce en gran medida con la aplicación de cianocrilato (Whitehair y col, 1992b), o con la utilización de tornillos canulados (Schuech y col, 2002; Kettner y col, 2003).

El antibiótico a perfundir, que ha de ser hidrosoluble, se disuelve en una solución poliiónica balanceada como solución fisiológica de NaCl al 0,9% o Ringer Lactato. El volumen óptimo de perfusión no está determinado científicamente pero, para la perfusión regional de la porción distal de la extremidad se suelen administrar 60 ml en caballos adultos (Whitehair y col, 1992bc; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002) y 10-12 ml en los potros (Santschi y col, 1998). Otros autores han utilizado volúmenes menores (Palmer y Hogan, 1999; Richardson, 2003).

En un estudio reciente, la administración de un volumen de perfusión mayor produjo niveles sinoviales de antibiótico superiores que un volumen menor (Scheuch y col, 2002). Una menor presurización del árbol vascular producida por el volumen menor podría haber sido la causa de un menor grado de difusión; sin embargo, el punto de infusión fue diferente para cada

volumen (Scheuch y col, 2002). Las características anatómicas de la red capilar de cada punto de infusión y las distancias entre éstos y el foco de infección eran diferentes (Scheuch y col, 2002).

En ambas técnicas de perfusión, intravenosa e intraósea, la infusión se administra bajo presión. Sin embargo, mientras que en la PRIV la presión máxima suele ser inferior a 15 psi, en la PRIO se alcanzan valores máximos de 450 psi (Whitehair y col, 1992b). Estos valores de presión intramedular causan dolor al animal (Welch y col, 1992; Whitehair y col, 1995). No obstante, tras la recuperación anestésica, los caballos no suelen mostrar cojera evidente, lo que se ha indicado podría ser debido a que el orificio que queda abierto en el hueso permite el equilibrio de la presión intramedular (Whitehair y col, 1992b). La infusión de la solución se puede realizar en forma de bolo durante un tiempo variable de 2-10 minutos (Butt y col, 2001), o bien a una velocidad uniforme y controlada durante un tiempo más prolongado, normalmente 2 ml/min (Whitehair y col, 1992ab; Scheuch y col, 2002). La tasa de infusión IV puede ser controlada con una bomba de infusión convencional para la infusión de fluidos por vía intravenosa; la IO precisa de bombas de alta presión como los inyectores angiográficos empleados en medicina humana (Whitehair y col, 1992b). Estas altas presiones ofrecen una resistencia elevada a la infusión por vía intramedular, por lo que cuando se realiza la PRIO de forma manual, se recomienda el empleo de jeringas pequeñas que generan mayores presiones (Whitehair, 1995; Kettner y col, 2003).

Los primeros autores recomendaban realizar la perfusión regional desde un punto distal al foco de infección ortopédica (Finsterbush y col, 1972) y, en base a estas recomendaciones, así lo realizaron los siguientes autores (Whitehair y col, 1992ac; Whitehair, 1995). Para las infecciones distales a nivel del casco se debe cateterizar una vena superficial más proximal y se recomienda dirigir el catéter en sentido distal (Whitehair, 1995). Sin embargo, como han demostrado los estudios con contraste radiológico, la perfusión de la vascularización digital distal al punto de infusión se produce de manera completa y prácticamente instantánea (Palmer y Hogan, 1999). Las concentraciones de antibiótico alcanzadas en estructuras distales al punto de infusión son satisfactorias (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001; Harriss y col, 2002; Scheuch y col, 2002). Además, en un estudio reciente, las diferencias entre las concentraciones de las articulaciones metacarpofalángica e interfalángica distal no fueron significativas (Butt y col, 2001), aunque se debe tener en cuenta la alta variabilidad de los resultados obtenidos. El tratamiento de un caso de osteomielitis mediante perfusión sobre la cavidad medular del mismo hueso, ha producido resultados satisfactorios (Whitehair y col, 1992a).

Las perfusiones regionales se pueden realizar con el animal bajo anestesia general o con el caballo en la estación. La primera resulta más cómoda para el cirujano pero es económicamente más costosa. Sin embargo, representa un complemento ideal y práctico cuando se aplica sobre un caballo que está siendo sometido a procedimientos quirúrgicos de desbridamiento y lavado, ya que se pueden realizar de forma simultánea. La PR también se puede realizar en caballos en estación con la ayuda de sedación general y/o la realización de bloqueos anestésicos perineurales proximales al torniquete (Palmer y Hogan, 1999; Mattson y col, 2002ab).

La técnica de la PR mantiene concentraciones de antibióticos adecuadas por períodos de tiempo limitados, aproximadamente 24 horas en algunos casos (Whitehair y col, 1992b), lo que puede requerir la realización de perfusiones diarias. La punción diaria de una vena no supone un trauma importante si se utilizan catéteres de calibre pequeño y se varía el punto de cateterización o la vena que se cateteriza (Finsterbush y col, 1972). En el caso de la PRIO, se puede reutilizar el orificio de la cortical del hueso realizado para la primera perfusión (Kettner y col, 2003). Estudios experimentales en cerdos y cabras han mostrado que catéteres intraóseos implantados de forma permanente, mantienen su viabilidad y funcionalidad para la realización de PRIO por un tiempo de hasta 6 meses, sin aparición de efectos adversos (Welch y col, 1992; Chastagner y col, 2001).

4.7.5 Distribución de la solución infundida

Estudios con contraste radiológico y tinta de la India han descrito que la solución administrada por PR se distribuye a través del sistema venoso tanto en la técnica IV como la IO (Whitehair y col, 1992b; Palmer y Hogan, 1999; Scheuch y col, 2002). En la PR de la porción distal de la extremidad del caballo, el contraste radiológico se distribuye por la totalidad del árbol vascular digital en unos segundos (Palmer y Hogan, 1999). En los casos de PRIO en los que el torniquete se aplica en la diáfisis del hueso, la solución perfundida puede abandonar la región por el sistema venoso diafisario proximal y epifisario (Whitehair y col, 1992b).

Scheuch y col (2002) señalaron que la densidad de contraste en el sistema venoso del tarso tras la perfusión intravenosa del éste era mayor que con la técnica intraósea. Sin embargo, la perfusión de la porción distal de la extremidad equina con un compuesto radioactivo muestra una actividad similar en toda la zona sometida a perfusión con ambas técnicas, IV e IO (Mattson y col, 2002a).

4.7.6 Dosificación

No se conoce la dosis óptima de fármaco a administrar mediante la perfusión regional. Dosis únicas tan pequeñas como 125 mg de amikacina, alcanzan concentraciones muy altas en líquido sinovial (Murphey y col, 1999). Sin embargo, la mayoría de los autores utilizan

cantidades mayores. Las cantidades de gentamicina o amikacina administradas varían desde 100-300 mg (Santschi y col, 1998; Murphey y col, 1999), 500 mg (Santschi y col, 1998; Butt y col 2001), hasta 1 gramo (Palmer y Hogan, 1999; Whitehair y col, 1992bc; Scheuch y col, 2002). Otros antibióticos como la penicilina potásica o sódica se ha mostrado efectiva a dosis de 10 millones de UI (Dietz y Kehnscherper, 1990; Palmer y Hogan, 1999; Whitehair y col, 1992a), 1 g en el caso de la timentina (Palmer y col, 1999) ó 9 g para la ampicilina sódica (Whitehair y col, 1992a). Para los potros jóvenes se indican cantidades menores, como 50 mg de amikacina (Santschi y col, 1998). Algunos autores indican como recomendación general la realización de la PR con la tercera parte de una dosis sistémica (Richardson, 2003).

Estos antibióticos a las dosis señaladas no han producido efectos adversos; no obstante, de forma ocasional se han descrito celulitis y necrosis de tejidos blandos en extremidades profundidas con dosis de antibiótico superiores a 1 g (Santshi y col, 1998). No se recomienda la administración de enrofloxacin por PR ya que induce una vasculitis severa cuando se administra por perfusión (Richardson, 2003). Tras la perfusión regional con antibióticos con capacidad de toxicidad sistémica importante como los aminoglucósidos, se deben monitorizar los niveles plasmáticos de antibiótico antes de su administración sistémica para evitar efectos adversos como la nefrotoxicidad (Whitehair y col, 1992c).

En ocasiones se han administrado 2 antibióticos durante la misma perfusión (Palmer y Hogan, 1999; Kettner y col, 2003). Algunos antibióticos muestran efectos sinérgicos cuando se administran conjuntamente (Hershberger y col, 1999); en cambio, la combinación de otros puede tener efectos de antagonismo. Éste es el caso de los aminoglucósidos que son inactivados por algunos β -lactámicos en condiciones *in vitro* (Wallace y Chan, 1985). Su administración conjunta mediante PR produjo resultados satisfactorios en un caso clínico (Kettner y col, 2003), sin embargo, otros autores recomiendan la administración de un solo antibiótico en cada perfusión (Santschi y col, 1998).

4.7.7 Complicaciones de la perfusión regional

La aplicación de un torniquete es causa de alteraciones tisulares regionales como hipotermia, hipoxia, acidemia, daño muscular, descenso de la velocidad de conducción nerviosa, neuropatías, edema de la extremidad, incremento de la creatin-fosfoquinasa y del ácido láctico y mayor tendencia al sangrado (Blass y Moore, 1984; Hurst y col, 1981). Sin embargo, estos cambios no se presentaron o lo hicieron en grado muy leve tras la aplicación de un torniquete a caballos durante 120 min (Scott y col, 1979). Sí se ha descrito el desarrollo de hipertensión sistémica por parte del caballo, situación que requiere la liberación del torniquete (Abrahamsen y col, 1989; Copland y col, 1989).

En personas se recomienda la antibioterapia sistémica previa a la perfusión regional en aquellos pacientes que muestren fiebre y otros signos clínicos consistentes con septicemia (Finsterbusch y col, 1972). En potros, la perfusión regional con antibióticos para el tratamiento de artritis u osteomielitis sépticas se ha asociado con la aparición de focos sépticos secundarios (Santschi y col, 1998) y con el desarrollo de osteonecrosis severa atribuida al torniquete (Bertone, 2003). Debido a ello algunos autores no recomiendan la aplicación de la PR de forma rutinaria en los neonatos, sino en aquellos casos en los que los procesos sépticos no respondan a la terapia convencional (Santschi y col, 1998). En caballos adultos estos signos no se han descrito.

El mantenimiento de la integridad de la capa de células endoteliales del árbol vascular es importante ya que la pérdida del estrato interno del vaso sanguíneo, originaría la coagulación de la sangre, la migración extravascular de leucocitos y la proliferación incontrolada de células de músculo liso, por lo que se reduciría la perfusión de la extremidad (Vorbach y col, 1999). Durante la PR existe un período de hipoxia tisular seguido de una reperfusión, situación en la que se suelen producir radicales libres de oxígeno que pueden causar daños en las células endoteliales (Halliwell y Gutteridge, 1984). Sin embargo, en condiciones *in vitro*, altas concentraciones de antibióticos se han mostrado compatibles con la preservación de la función celular del endotelio venoso, incluso en la presencia de radicales libres aumentados (Vorbach y col, 1999). Aunque este estudio no incluyó la vancomicina y el período de tiempo fue de 20 minutos, Robibaro y col (1998) observaron que la vancomicina en una concentración ≤ 5 mg/ml es biocompatible con células endoteliales provenientes de la vena umbilical humana.

Tras la PRIO se ha documentado el desarrollo de una inflamación leve, transitoria y no dolorosa a la palpación, localizada en los tejidos blandos del área donde se realiza la infusión intraósea, que se resolvió sin la administración de antiinflamatorios ni antibióticos adicionales (Scheuch y col, 2002).

La frecuencia y severidad de las complicaciones derivadas de la aplicación del torniquete pueden ser disminuidas o eliminadas con una duración de torniquete corta, con la aplicación del torniquete en una región musculada, donde los nervios y los vasos sanguíneos están protegidos, con la utilización de torniquetes neumáticos, y mediante la aplicación de la menor presión posible (Blass y Moore, 1984).

4.7.8 Eficacia de la perfusión regional

El hecho de encontrar antibiótico en el líquido sinovial de una articulación tras su administración por PR, significa que el antibiótico ha difundido desde los capilares sinoviales, a través de la membrana sinovial, al interior de la articulación. Esto significa que la membrana

sinovial, lugar donde se localizan y multiplican los microorganismos, ha sido perfundida con antibiótico (Whitehair y col, 1992b). Las concentraciones de antibiótico no son tan altas como aquéllas alcanzadas con la inyección intraarticular directa del antibiótico (Lloyd y col, 1990), pero alcanzan valores hasta 100 veces mayores que los que se consiguen tras la administración intravenosa sistémica, muy superiores a las indicadas para el tratamiento de procesos infecciosos y que se mantienen por encima de la CMI durante períodos próximos a las 24 h (Whitehair y col, 1992b; Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001; Harriss y col, 2002; Scheuch y col, 2002). Se han descrito niveles sinoviales de antibióticos mayores tras su administración sistémica en articulaciones con inflamación aguda (Nelson, 1971; Lloyd y col, 1988a); sin embargo, Whitehair y col (1992c) observaron niveles sinoviales menores y con una variabilidad menor que los niveles en el líquido sinovial de las articulaciones normales (Whitehair y col, 1992c).

La PR ha sido más eficaz que la administración sistémica para el tratamiento de infecciones articulares experimentales (Whitehair y col, 1992c), y ha conseguido la eliminación de la infección en casos clínicos de artritis infecciosa y osteomielitis (Whitehair y col, 1992a; Kettner y col, 2003). Permite la eliminación de infecciones resistentes a la terapia convencional y su aplicación, en combinación con antibioterapia sistémica incrementa las tasas de supervivencia hasta valores > 70% (Finsterbush y col, 1970; Santschi y col, 1998; Palmer y Hogan, 1999). Otras patologías equinas que han sido tratadas con resultados satisfactorios son la laminitis séptica, la osteítis séptica de la tercera falange y de los huesos sesamoideos proximales, la artritis séptica de las articulaciones del dedo, la tenosinovitis séptica, la sepsis de la bursa del navicular, la fisitis séptica y heridas en el casco (Santschi y col, 1998). Los huesos de la porción aislada por el torniquete, también son perfundidos y en ellos, las concentraciones de antibiótico también son elevadas, lo que es cuestionable tras la administración intraarticular de antibióticos (Bertone, 2003). En un estudio reciente, tanto la administración intraarticular como la PR ofrecieron concentraciones de gentamicina que no resultaron diferentes significativamente, sin embargo, esto podría ser debido a la baja tasa de difusión tisular que presentan los aminoglucósidos (Werner y col, 2003).

La eficacia de la perfusión regional probablemente depende de varios factores como el número de perfusiones, las características de la infección que se está tratando, la realización de desbridamiento del tejido infectado, la sensibilidad del organismo, la dosis y la concentración del antibiótico, su mecanismo de acción y, posiblemente, la técnica de perfusión utilizada (Kettner y col, 2003).

No se conoce el número ni la frecuencia de perfusiones regionales que se deben realizar para conseguir la curación de infecciones ortopédicas. Para el tratamiento de infecciones

ortopédicas clínicas en caballos se han realizado perfusiones únicas (Whitehair y col 1992a; Palmer y Hogan, 1999), dobles (Dietz y Kehnscherper, 1990; Whitehair y col, 1992a), triples (Kettner y col, 2003), y hasta cuatro veces (Palmer y Hogan, 1999). Sin embargo, las características patológicas de cada caso son diferentes, y la combinación de tratamientos aplicada también, por lo que resulta muy complicado sacar conclusiones generales. Tras 4-6 sesiones de PR, las muestras tomadas de heridas crónicamente infectadas produjeron cultivos estériles en personas (Finsterbush y Weinberg, 1972), una o dos PRIV han sido eficaces para curar artritis y tenosinovitis en vacas (Fessl y Awad-Masalmeh, 1975), y una única PR con antibiótico, produjo cultivos negativos en 2 de 3 caballos (Whitehair y col, 1992c).

Tampoco se han realizado estudios comparativos que permitan determinar la duración óptima de la PR, que podría ser dependiente de factores como las características fisicoquímicas, farmacocinéticas y farmacodinámicas del antibiótico, factores microbiológicos, factores individuales del paciente y factores particulares del caso clínico. Tiempos de mantenimiento del torniquete de 30 min a 1 hora han mostrado resultados satisfactorios (Whitehair y col, 1992a; Murphey y col, 1999; Harriss y col, 2002; Kettner y col, 2003).

Por otro lado, la administración de antibióticos por PR como medida profiláctica de forma previa a la realización de procedimientos quirúrgicos de larga duración como la implantación de prótesis de rodilla en personas se ha mostrado una alternativa muy interesante y efectiva (de Lalla y col, 1993 y 2000). En los caballos, quizás se podría considerar para casos de resolución de fracturas complejas o de realización de artrodesis, cuya larga realización está asociada a un mayor riesgo de desarrollo de infecciones (MacDonald y col, 1994). La creciente incidencia de aislamiento de estafilococos meticilina-resistentes como agentes etiológicos de las infecciones post-quirúrgicas en este tipo de cirugías, fue la razón para que de Lalla y col (1993 y 2000)s realizaran perfusiones regionales profilácticas con teicoplanina en personas. La teicoplanina posee un espectro de acción similar a la vancomicina, aunque sus consecuencias tóxicas son muy inferiores.

Por tanto, la PR con antibióticos representa un arma muy conveniente para combatir las infecciones ortopédicas. Sin embargo, el tratamiento adecuado debe incluir otros aspectos como la terapia sistémica y el desbridamiento y el lavado quirúrgicos.

5 Vancomicina

5.1 Características fisico-químicas

La vancomicina es un antibiótico perteneciente al grupo de los glucopéptidos producido por *Nocardia orientalis*, un actinomiceto del grupo *Streptomyces* aislado de muestras de suelo de Indonesia y la India. Posee una estructura tricíclica compleja y una masa molecular de aproximadamente 1500 daltons. Es soluble en agua, inodoro y posee un sabor ligeramente amargo. Su fórmula estructural fue determinada por RX (Sheldrick y col, 1978).

La vancomicina se descubrió en la década de los años 50. En los años 60 y 70, se utilizó escasamente ya que los microorganismos sensibles (principalmente G+) eran sensibles a las penicilinas y a las cefalosporinas y, además, presentaba importantes efectos adversos. Sin embargo, en los últimos 15-20 años, el desarrollo de resistencias en enterococos, estafilococos y neumococos a los antibióticos tradicionales, hizo necesaria la utilización de vancomicina en medicina humana.

Otros agentes pertenecientes al mismo grupo y estructuralmente relacionados, que presentan afinidad en el espectro de acción son teicoplanina, daptomicina y LY333328.

5.2 Actividad antibacteriana

Es altamente efectivo frente a bacterias cocoides G+ (especialmente *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp.), enterococos (*Enterococcus faecium* y *E. faecalis*) y *Nisseria* spp. También presenta actividad frente a bacterias anaerobias G+, pero no frente a anaerobias G-. En personas se ha administrado para el tratamiento de la diarrea por *Clostridium* spp (Chambers, 2001b).

Las cepas se consideran sensibles cuando la CMI es ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$. *S. aureus* y *S.epidermidis*, incluyendo cepas resistentes a la meticilina, normalmente son inhibidas con concentraciones de 1,0 a 4,0 $\mu\text{g/ml}$ (Chambers, 2001b). Se han aislado cepas de *S. aureus* y estafilococos C- con un grado de sensibilidad reducido o "intermedio" a la vancomicina, con valores de CMI=8 $\mu\text{g/ml}$ (Smith y col, 1999; Garret y col, 1999). Las infecciones causadas por estas cepas que no han respondido a la administración de vancomicina (Climo y col, 1999), representan importantes agentes nosocomiales en hospitales (Murray, 2000). Estas cepas muestran resistencia a múltiples antibióticos, como estreptomina, gentamicina, y ampicilina. Fundamentalmente todas las especies de bacilos Gram-negativos y micobacterias son resistentes a la vancomicina (Cunha y Ristuccia, 1983).

En comparación con otros antibióticos, la vancomicina posee una actividad bactericida más lenta que cualquiera de los agentes β -lactámicos antiestafilocócicos (ej. nafcilina, cefazolina)

y por tanto, puede ser menos eficaz clínicamente (Levine y col, 1991; Small y Chambers, 1990).

5.3 Mecanismo de acción. Resistencias

La vancomicina ejerce su actividad bactericida mediante la inhibición de la síntesis del peptidoglicano lineal en la pared bacteriana durante su replicación, lo que origina muerte bacteriana de forma rápida. La vancomicina posee una gran afinidad por el terminal D-alanil-D-alanina de las unidades precursoras de la pared celular, al que se une para ejercer su acción.

La resistencia de los enterococos a la vancomicina es el resultado de la alteración del objetivo D-alanil-D-alanina a D-alanil-D-lactato o D-alanil-D-serina, por el que la vancomicina posee muy poca afinidad (Walsh, 1993; Arias y col, 2000). Se han descrito las características de 5 fenotipos de resistencia (A, B, C, D y E). El determinante de la resistencia a la vancomicina en *Enterococcus faecium* y *E. faecalis* se localiza en un transposón que forma parte de un plásmido conjugativo, lo que lo hace fácilmente transferible entre los enterococos (Walsh, 1993) y a otras bacterias G⁺, como es el caso de *S. aureus* (González-Zorn y Courvalin, 2003).

En el caso de *Staphylococcus* spp., no se conocen completamente las bases genéticas y bioquímicas de la sensibilidad reducida a la vancomicina mostrada por muchas cepas. Se han aislado dos tipos de gérmenes estafilocócicos que muestran resistencia o sensibilidad reducida a la vancomicina (Lowy, 2003). Los que fueron aislados en primer lugar son *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia (microorganismos VISA). Éstos gérmenes muestran un grado de resistencia intermedio frente a la vancomicina, con valores de CMI de 8-16 µg/ml (Sieradzki y col 1999; Lowy, 2003). Recientemente, se han aislado cepas de *S. aureus* altamente resistentes a la vancomicina (cepas VRSA), con valores de CMI \geq 128 µg/ml. En estos casos, los microorganismos adquieren la resistencia a través de la transferencia del operón *vanA*, un plásmido conjugativo de *Enterococcus faecalis* (Showsh y col, 2001; González-Zorn y Courvalin, 2003).

5.4 Actividad bactericida en aerobiosis y anaerobiosis

La vancomicina, como otro inhibidor de la síntesis de peptidoglicano, produce efectos bactericidas sólo en células en crecimiento (Suller y Lloyd, 2002). La tasa de crecimiento de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas varía en función de la presencia de oxígeno en el ambiente, siendo menor en situaciones de anaerobiosis (Suller y Lloyd, 2002). En el caso de *S. aureus*, la actividad bactericida de la vancomicina se reduce hasta 10 veces cuando las concentraciones de oxígeno son bajas (Tack y Sabath, 1985).

Muchas localizaciones de la infección *in vivo* pueden ser bastante anaerobias, como la cavidad de un absceso o el tejido óseo necrótico infectado, por lo que los niveles de vancomicina necesarios para erradicar la infección pueden ser superiores (Tack y Sabath, 1985). Por su parte, los neutrófilos, células fundamentales en lucha contra la infección, presentan una disminución del metabolismo oxidativo con concentraciones bajas de oxígeno, lo que reduce su capacidad para eliminar *S. aureus* ya que no pueden formar oxidantes reactivos (Edwards y Pancorbo, 1987).

5.5 Farmacocinética

El hidrocloreto de vancomicina se comercializa para su uso intravenoso en forma liofilizada, y no se debe administrar por vía intramuscular ya que es altamente irritante y doloroso. También existe hidrocloreto de vancomicina comercializado en cápsulas para su administración oral que se utiliza en pacientes con colitis pseudomembranosa, ya que la absorción intestinal es muy baja y se excreta en grandes cantidades con las heces (Chambers, 2001b).

En personas, la vida media es de $5,6 \pm 1,8$ horas (Chambers, 2001a); en cambio en el perro y el caballo, la vida media es menor, $2,03 \pm 0,38$ h y $3,9 \pm 0,86$ h, respectivamente (Zaghlol y Brown, 1988; Orsini y col, 1992). El grado de unión a las proteínas plasmáticas es 30 ± 11 % (Chambers, 2001b).

La vancomicina aparece en varios líquidos orgánicos como líquido biliar, pleural, sinovial, pericárdico y en líquido cefalorraquídeo cuando las meninges están inflamadas (Levine, 1987; Chambers, 2001b). Se elimina en un 80% por filtración glomerular, por tanto, en casos en que la función renal está comprometida, se deben realizar ajustes en la dosificación para impedir su acumulación (Moellering y col, 1981). Otro factor que influye significativamente en el aclaramiento de la vancomicina es la edad; los neonatos y los ancianos presentan un aclaramiento menor (Cutler y col, 1984). Existe una buena correlación ($r=0,88$) entre el aclaramiento de la vancomicina y el aclaramiento de la creatinina, lo que permite realizar ajustes de dosificación en estos casos (Edwards y Pancorbo, 1987).

5.6 Toxicología. Efectos adversos

La vancomicina ha sido tradicionalmente asociada con gran cantidad de efectos adversos. Tal es así que inicialmente fue denominada “barro del Mississippi” (“Mississippi mud”), se etiquetó como sustancia tóxica y no se consideraba como antibiótico de primera línea (Wallace y col, 1991). El perfeccionamiento de las técnicas de purificación ha permitido el desarrollo de una nueva preparación que se tolera mucho mejor (Wenman y col, 1991). Los principales efectos adversos que la han caracterizado son: nefrotoxicidad, ototoxicidad, reacciones de

hipersensibilidad, producción de tromboflebitis y, con menor frecuencia, neurotoxicidad (Sorrel y Collignon, 1985).

El daño renal es sin duda el efecto adverso más frecuente. Es por ello que en pacientes con compromiso de la función renal, se deben monitorizar las concentraciones plasmáticas de vancomicina y realizar ajustes individualizados de dosificación. Se debe tener especial cuidado cuando se combina con otras drogas nefrotóxicas, como los aminoglucósidos, la anfotericina B, el cisplatino y la ciclosporina, ya que su administración simultánea puede potenciar la nefrotoxicidad (Klatersky y col, 1975; Wade y col, 1978; Farber y Moellering, 1983). La incidencia de nefrotoxicidad se ha descrito desde tasas $\leq 15\%$ tras la administración de vancomicina sola, hasta alcanzar valores de 35% cuando se asocia con aminoglucósidos. Se ha relacionado con C_{max} séricas de más de 30mg/l, y con concentraciones mínimas por encima de 10 mg/l (Farber y Moellering, 1983). Los estudios de toxicidad realizados en animales han mostrado que la dosis letal 50 para el perro es 292 mg/kg (Wold y Turnipseed, 1981). Estos perros murieron varios días después de la administración y mostraron valores de nitrógeno ureico plasmático entre 250 y 300 mg/dl, lo que indica que la causa más probable de muerte haya sido debida a un fallo renal nefrotóxico agudo.

El deterioro auditivo causado por la vancomicina suele ser, aunque no siempre, permanente. En personas, se ha asociado con concentraciones plasmáticas de vancomicina de 60 a 100 $\mu\text{g/ml}$, aunque también se ha documentado con C_{max} de 25 a 50 mg/L (Mellor y col, 1984).

Las reacciones de hipersensibilidad tras la administración de vancomicina se deben a la liberación de histamina y han alcanzado tasas del 90% en personas sanas y del 50% en pacientes con infecciones (Wallace y col, 1991). Estas reacciones no están relacionadas con las concentraciones séricas, sino más bien, con una administración intravenosa rápida. En segundos tras la inyección IV, el paciente experimenta una sensación de quemazón y picor, más marcado en la palma de la mano, cara, cuero cabelludo, y orejas, que va seguido de forma rápida por una sensación de calor intenso. La piel enrojece, y el color rápidamente se extiende por el tronco, por lo que se le conozca como el “síndrome del cuello rojo” o “del hombre rojo” (SHR) (Davis y col, 1986). La presión sanguínea disminuye, la frecuencia cardíaca aumenta y el paciente normalmente se queja de dolor de cabeza. Tras unos minutos, la presión sanguínea se recupera, y aparece urticaria en la piel. Otros signos frecuentes son tromboflebitis y dolor en el punto de infusión, dolor cólico, náuseas, hipersecreción de ácido y un moderado broncoespasmo.

El mecanismo de producción de este síndrome es similar al de otros muchos agentes terapéuticos, drogas y venenos que estimulan la liberación de histamina a partir de los mastocitos o células cebadas de forma directa y sin sensibilización previa, al originar un aumento de Ca^{++} intracelular (Levy y col, 1987). Estas respuestas son más frecuentes

después de inyecciones IV de sustancias que son bases orgánicas: amidas, amidinas, compuestos de amonio cuaternario, piperidinas, alcaloides y bases antibióticas. Tubocuranina, succinilcolina, morfina, medios de contraste radiológico y ciertos expansores del plasma carbohidratados también pueden desencadenar esta respuesta. El efecto se hace menos intenso con inyecciones sucesivas ya que las reservas de histamina de los mastocitos disminuyen y, la administración de antihistamínicos de forma previa previene el desarrollo del SHR en personas (Sahai y col, 1989) y animales (Wold y Turnipseed, 1981). Por ello, en aquellos pacientes que hayan mostrado reacción tras la administración de la primera dosis, se recomienda la administración de un bloqueante-H1 dos horas antes de la segunda dosis de vancomicina (Wallace y col, 1991).

Aunque las formulaciones más recientes son más seguras, la liberación de histamina todavía es posible tras la administración intravenosa, por lo que la administración de vancomicina debe ser realizada mediante infusión continua durante un mínimo de 30 min y a una tasa de infusión inferior a 15 mg/min, idealmente a 10 mg/min (DiPiro y col, 1996). La alta incidencia de tromboflebitis por la administración intravenosa de vancomicina, ha condicionado su administración, de forma que se suelen emplear catéteres o vías centrales (Pham Dang y col, 2001).

En el estudio experimental realizado por Orsini y col (1992) en el que administraron vancomicina a caballos sanos, ninguno de los animales mostró signos de toxicidad renal, ni reacciones de hipersensibilidad, ni desarrollaron tromboflebitis en las venas en las que se realizaron las administraciones de vancomicina. Sin embargo, los autores no realizaron la administración de vancomicina de forma continuada, lo que normalmente es necesario para el correcto tratamiento de los procesos infecciosos a nivel ortopédico en los caballos.

5.7 Aplicación clínica. Normas de utilización

En personas se recomienda mantener las concentraciones séricas de vancomicina entre 20 y 30 mg/l como C_{max}, y entre 5 y 10 mg/l para los niveles mínimos. Estas concentraciones no aseguran la ausencia de efectos adversos, sin embargo, son seguras en la mayor parte de los pacientes y ofrecen valores adecuados de los PE para la mayor parte de los cocos G⁺ (DiPiro y col, 1996). La dosis total diaria de 30 mg/kg/día para los adultos se suele dividir en 2 a 4 administraciones, y no suele ser necesaria la monitorización de las C_{max} en plasma, ya que la fase de distribución del fármaco es larga. Las dosis pediátricas son menores (Schaad y col, 1980). Sí se deben monitorizar los niveles plasmáticos en neonatos y pacientes con fallo renal, para realizar los ajustes necesarios.

La administración se realiza mediante infusión lenta durante 30-60 min, o a una tasa aproximada de 10 mg/min. La dosis total a administrar puede ser diluida en solución de NaCl

al 0.9% o de dextrosa al 5%, pero no en soluciones alcalinas (Ringer-Lactato), ya que se produce precipitación.

En caso de infección enterocócica se recomienda la combinación de vancomicina con un aminoglucósido, ya que en estos casos la vancomicina por sí misma no es bactericida para los enterococos por las CMI tan altas que poseen, aunque en estos casos, la incidencia de aparición de los efectos nefrotóxicos aumenta (Rybak y col, 1990; Farber y Moellering, 1983). Asimismo, la vancomicina muestra sinergismo frente a SARM cuando se administra en combinación con aminoglucósidos o con rifampicina (Watanakunakorn y Tisone, 1982; Palmer y Rybak, 1996; Houlihan y col, 1997; Hershberger y col, 1999). En algunos casos de infecciones del sistema nervioso central por microorganismos sensibles que no respondían a la terapia intravenosa, se ha realizado la administración intraventricular de vancomicina con resultados favorables (Visconti y Peter, 1979; Sutherland y col, 1981; Pfausler y col, 2003).

El uso clínico de la vancomicina en veterinaria está limitado y la mayoría de las recomendaciones clínicas se basan en extrapolaciones de las recomendaciones de concentraciones sanguíneas efectivas para personas y en algunos estudios farmacocinéticos desarrollados en perros. En el perro se recomienda una dosis de 15 mg/kg cada 6h por vía IV para mantener la concentración plasmática en la ventana terapéutica sugerida de 10-30 µg/ml (Zaghol y Brown, 1988). Esta dosis realmente produce concentraciones máxima y mínima aproximadas de 40 y 5 µg/ml, respectivamente. Se recomienda una infusión lenta para minimizar la liberación de histamina y para evitar altas concentraciones plasmáticas que puedan originar otras reacciones tóxicas. En animales con enfermedad renal, hembras gestantes y neonatos, la disposición de la droga puede cambiar y las concentraciones máximas y mínimas deberían ser monitorizadas para ajustar la dosis apropiadamente. Siguiendo estas recomendaciones, los efectos adversos son raros (Papich y Riviere, 2001).

El único estudio farmacocinético de la administración de vancomicina en caballos, indica un protocolo de administración de una dosis de 4,3-7,5 mg/kg cada 8h mediante infusión lenta durante una hora (Orsini y col, 1992). La C_{max} plasmática fue de 38-24 mg/l y ninguno de los 5 caballos mostró signos de las manifestaciones tóxicas típicas asociadas a la administración de vancomicina. No obstante, como se ha señalado anteriormente, no realizaron administraciones repetidas durante un tiempo prolongado. Las C_{max} de vancomicina en líquido sinovial oscilaron de 7,1 a 9,0 µg/ml y las concentraciones mínimas fueron 2 mg/l; este valor fue la concentración mínima efectiva que fijaron como objetivo en base a los resultados de sensibilidad de *S. aureus* aislado de pacientes equinos de ese hospital universitario (CMI = 1µg/ml).

Debido a su alta toxicidad, algunos autores no recomiendan la administración de vancomicina mediante inyección intraarticular ni por perfusión regional (Orsini y col, 1992; de Lalla y col,

1993 y 2000), sin embargo, la administración por PR de teicoplanina, fármaco muy relacionado estructuralmente con la vancomicina, es una técnica viable que ofrece numerosas ventajas (de Lalla y col, 1993 y 2000). Además, las consecuencias tóxicas de las nuevas preparaciones de vancomicina son menores (Wenman y col, 1991).

La vancomicina es un antibiótico de uso hospitalario. Debería ser empleada únicamente para tratar infecciones serias, fundamentalmente infecciones debidas a estafilocos meticilina-resistentes y en casos de infecciones estafilocócicas severas en pacientes alérgicos a penicilinas y cefalosporinas (Chambers, 1002b).

En Veterinaria su utilización es controvertida. No se debe realizar la administración de glucopéptidos a animales de abasto por el riesgo de la transmisión de resistencias a los glucopéptidos a los humanos a partir de los animales tratados (Bates y col, 1994). En otros tipos de animales, su empleo debe ser extremadamente cuidadoso. Sin embargo, existen casos clínicos en los que ya se ha aplicado (Trostle y col, 2001), y parece que su administración va a incrementarse en los próximos años, por lo que será recomendable que se realicen estudios experimentales previos que ofrezcan unas recomendaciones de administración que aseguren una máxima eficacia y disminuyan el empleo incorrecto de la vancomicina, que incrementaría el grado de resistencia por parte de los microorganismos.

5.8 Parámetros de eficacia de la actividad bactericida

T>CMI es el PE más importante para la eficacia de esta droga (Löwdin y col, 1998). Por ello, el objetivo de todos los regímenes de dosificación ha de ser el mantenimiento de la concentración plasmática de vancomicina por encima de la CMI durante la mayor parte del intervalo (Löwdin y col, 1998). La vancomicina ejerce su actividad bactericida mientras su concentración se mantenga a bajos múltiplos de la CMI (Craig, 1998), y se han obtenido resultados clínicos favorables con valores de T>CMI del 84% (Cohen y col, 2002).

La Cmax parece no tener relación con una actividad bactericida más rápida o una respuesta microbiológica aumentada (Ackerman y col, 1992). Sin embargo, Greenberg y Benes (1990) observaron una tasa de eliminación bacteriana significativamente superior cuando la concentración de vancomicina aumentaba de 20 a 80 mg/l. En infecciones por microorganismos cocoides G+, valores del índice Cmax:CMI ≥ 8 se han asociado con una respuesta favorable al tratamiento (Schaad y col, 1980), y el parámetro AUC₂₄/CMI ha mostrado una buena correlación con su eficacia terapéutica (Knudsen y col, 2000; Zhanel 2001). Además, Greenberg y Benes (1990) demostraron una actividad bactericida concentración-dependiente para concentraciones por debajo de CMI, no así para concentraciones más altas.

En conclusión, aunque la vancomicina posee una actividad bactericida tiempo-dependiente y a pesar de sus casi 50 años de administración, todavía no se conoce el perfil óptimo de concentración plasmática frente al tiempo que ofrece la máxima eficacia terapéutica (Löwdin y col, 1998). Este desconocimiento ha motivado la realización de estudios de eficacia terapéutica comparando las administraciones tradicionales de 4 veces al día (cada 6h), 2 veces al día (cada 12h) e infusión continua, con la administración única diaria, que es la que normalmente se utiliza con antibióticos cuya actividad bactericida es concentración-dependiente, como los aminoglucósidos (Houlihan y col, 1997; Nagl y col, 1999; Cohen y col, 2002). Estos autores observaron una eficacia bactericida idéntica con las 4 dosificaciones, además de que en todos los casos, la seguridad toxicológica fue similar. Por tanto, los objetivos terapéuticos actualmente establecidos son alcanzar picos de 10 a 20 veces la CMI y mantener la concentración > CMI durante todo el intervalo. En casos de infecciones con organismos tolerantes, sobretodo enterococos, se deben considerar niveles mayores (Edwards y Pancorbo, 1987).

5.9 Efectos persistentes

Los efectos persistentes de la vancomicina son variables. Los valores de los EPAs *in vitro* son relativamente cortos (Löwdin y col, 1998), sin embargo, los efectos *in vivo* son más prolongados (Vogelman y col, 1988; Craig y Gudmundsson, 1996; Zahnel, 2001). Para los cocos G+ se han descrito valores entre 1 y 3 horas, aunque para algunas cepas de *S. epidermidis* han alcanzado valores de 6 horas (McDonald y col, 1977; Hanberger y col, 1991; DiPiro y col, 1996; Löwdin y col, 1998). En el caso de *Enterococcus faecalis*, el EPA de la vancomicina es menor (0,5-1h) (Hanberger y col, 1991). La duración del EPA va a variar en función de factores como el pH, la temperatura y la presencia de cationes (Suller y Lloyd, 2002).

Los valores de EPA-SCMI descritos para la vancomicina frente a los estafilococos y estreptococos son muy elevados, encontrándose en el rango de 4 h a > 16 h (Löwdin y col, 1998). La magnitud de EPA-SCMI depende de la relación entre la concentración que existe y la CMI del microorganismo que se está tratando (Löwdin y col, 1998). Cuanto más se aproxima la concentración de vancomicina a la CMI, más largo es el EPA-SCMI (Löwdin y col 1998). Peetermans y col (1990) observaron una actividad bactericida inicial cuando *S. aureus* era expuesto a concentraciones de vancomicina justo por debajo de la CMI, lo que podría ser explicado por los EPA-SCMI prolongados observados en ese rango de concentraciones (Löwdin y col 1998).

Justificación y objetivos

• **Justificación**

En base a la revisión bibliográfica realizada, se puede concluir, que al igual que ocurre en medicina humana, las infecciones ortopédicas de origen iatrogénico en los caballos, están causadas mayoritariamente por microorganismos cocoides gram-positivos, siendo *Staphylococcus aureus* el agente más frecuente. Aunque gérmenes son componentes de la flora habitual de la piel y las mucosas de las personas y los animales, el origen de las bacterias aisladas a partir de animales infectados no ha podido ser determinado. Por ello, no se conoce si esos microorganismos provienen de personas, o de la flora propia de los animales.

Históricamente, el grado de resistencia creciente de estos microorganismos a los quimioterápicos tradicionalmente utilizados hizo necesaria la utilización de nuevos grupos de antibióticos en medicina humana, situación que actualmente se repite en veterinaria. Tal es el caso de los glucopéptidos, cuya administración a especies domésticas es controvertida, no debiendo ser administrados a las especies de abasto por el riesgo de transmisión de bacterias resistentes a los glucopéptidos a la especie humana (Bates y col, 1994). La administración de vancomicina, integrante del grupo de los glucopéptidos, ha sido documentada en la especie equina, y todo parece indicar que su administración se incrementará en los próximos años. A pesar de que la importancia de los equinos como especie de abasto no es significativo en la mayor parte de los países, su empleo debe ser extremadamente cauteloso por la posibilidad de su entrada en la cadena alimenticia. Debido a estas razones, consideramos necesaria la realización de estudios experimentales previos que ofrezcan pautas terapéuticas encaminadas a asegurar una máxima eficacia y disminuir un empleo inadecuado, que pudiese incrementar el grado de resistencia por parte de los microorganismos.

Por ello, creemos queda justificada la realización del presente trabajo, que consideramos servirá de base para el establecimiento de esas recomendaciones de administración que ofrezcan seguridad clínica y farmacológica, y para posteriores estudios. Este estudio incluye aspectos farmacológicos y microbiológicos destinados a conseguir la eliminación de la infección bacteriana preservando la seguridad toxicológica de la vancomicina, que posee un amplio historial como agente responsable de efectos nocivos tales como tromboflebitis, nefrotoxicidad, ototoxicidad y, con menor frecuencia, neurotoxicidad.

• **Objetivos**

1. Descripción de la administración de vancomicina por perfusión regional, intravenosa e intraósea, en la porción distal de la extremidad anterior del caballo.
2. Descripción y evaluación del riesgo de desarrollo de efectos adversos derivados de la administración de vancomicina, a los niveles local, regional y sistémico.
3. Descripción de la cinética de acumulación-eliminación de vancomicina en la articulación metacarpofalángica durante 24 h. Comparación de las dos vías de administración, intravenosa e intraósea.
4. Descripción de la cinética de acumulación-eliminación de vancomicina en la articulación interfalángica distal y en la médula ósea de primera falange, durante 90 minutos. Comparación de las dos vías de administración, intravenosa e intraósea.
5. Valoración de la seguridad clínica de la perfusión regional con vancomicina.
6. Valoración de la aplicabilidad de la técnica de perfusión regional con vancomicina como posible herramienta clínica, en el caso de procesos infecciosos localizados en la porción distal de la extremidad de los equinos.

Materiales y métodos

El trabajo experimental fue realizado en las instalaciones del Área de Grandes Animales del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid. El diseño experimental propuesto fue examinado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid (julio 2003).

Este estudio fue financiado en parte por un Proyecto de Investigación Complutense concedido durante el curso académico 2001-2002 (Investigador principal: FJ López San Román; Ref. UCM PR78/02-11003), y en parte por la Unidad de Cirugía y Reproducción del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado en el Departamento de Apoyo a la investigación de los Servicios Informáticos de la Universidad Complutense de Madrid.

• ***Animales***

Se utilizaron 12 caballos sanos de razas diferentes, con una edad media de $10,83 \pm 5,67$ años [rango: (3-20)], divididos en 2 grupos de 6 animales para cada una de las fases o estudios experimentales: estudio experimental intravenoso y estudio experimental intraóseo. Los valores medios de edad en cada estudio fueron $10,5 \pm 5,61$ años [rango: (3-18)], y $11,1 \pm 6,24$ años [rango: (4-20)], para los estudios intravenoso e intraóseo respectivamente. El peso medio de los 12 animales fue de $419,17 \pm 43,04$ Kg [rango: (345-484)]; $405,83 \pm 45,97$ Kg en la fase intravenosa [rango: (345-453)], y $432,5 \pm 39,19$ Kg en la fase intraósea [rango: (380-484)].

• **Materiales**

La siguiente lista enumera por orden alfabético los materiales utilizados durante el ensayo:

- Agujas de diferentes calibres (18G, 20G, 23G). (Sterican®). B/Braun. Barcelona, España.
- Bomba de infusión controlada (Perfusor® fm B/BRAUN), con jeringas de infusión de 50 ml (Fig. 5). Lab. Braun, Barcelona España.
- Catéter de teflón intravenoso 14G × 133mm. Becton Dickinson. Infusión Therapy Systems Inc. Sandy, Utah. EEUU.
- Catéter de teflón intravenoso 20G x 32 mm. Nipro Safelet Cath. Osaka, Japón.
- Catéter para perfusión intravenosa: catéter de teflón intravenoso 22G × 25 mm, Nipro Safelet Cath. Osaka, Japón (Fig. 3).
- Centrífuga Kubota 2010. Modelo 2010. Kubota Corporation. Tokio, Japón.
- Clorhidrato de detomidina (Domosedan®). Lab. Pfizer. Alcobendas, Madrid.
- Clorhidrato de mepivacaína (Scandinivsa® 2%). Lab. Inibsa. Barcelona, España.
- Clorhidrato de dobutamina (Dobutrex®). Laboratorios Lilly S.A. Alcobendas, España.
- Clorhidrato de vancomicina (Vancomicina Chiesi® 500mg E.F.G.). Lab. Chiesi España S.A. Barcelona, España (Fig.2).
- Fenilbutazona (Butasyl®), Fort Dodge, Iowa, EEUU.
- Hidrocloruro de ketamina (Ketamine 10%). Alfasan, Woerden-Holland. Holanda.
- Isoflorano (Isoflorano DCI: Inibsa). Rhodia Organique Fine Ltd. Avonmmouth, Bristol, Reino Unido.
- Jeringas desechables de 2 ml, 5 ml y 10 ml. (Injekt Luer Solo®). B/Braun. Barcelona, España.
- Kit de determinación de niveles de vancomicina: AxSYM® Vancomicina II. Sistema de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA). Abbot Científica, S.A. Madrid. España.
- Lactato de Ringer BRAUN® según Hartmann (B. Braun Medical S.A., Carretera de Terrassa 121, 08191 Rubí, Barcelona).
- Línea de extensión (Prolonsend®). Sedal, Cáceres. España.
- Llave de 3 vías (Discloset L-3®). Intraven S.A. Ajalvir, Madrid, España.

- Material anestésico:
 - o Ventilador: Anesthesia Ventilator. Mallard Medical, Inc. Irvine, CA, EEUU. Modelo 2800.
 - o Monitor cardiovascular Propaq-encore®, Modelo 204EL. Protocol Systems Inc. Beaverton, Oregon, EEUU.
 - o Vaporizador Ohmeda®. Isotec 3. West Yorkshire BD200, Gran Bretaña.
 - o Máquina anestésica con ventilador volumétrico de grandes animales Matrix® Medical Inc. VML Anesthesia Medicine. Orchard Park, Nueva Cork. EEUU.
- Material de osteosíntesis: pistola neumática, brocas de diámetros 3,2 mm y 2 mm, labrador de rosca de 4,5 mm de diámetro, tenazas,...
- Material de vendaje:
 - o Venda almohadilla de algodón (Vendor®). Lab. Indas SA.
 - o Venda flexible cohesiva (Co-Flex®). Andover.
 - o Varios: gasas, esparadrapo, ...
- Material radiográfico:
 - o Aparato de rayos portátil: Medison Acoma Co., Ltd. Tokio, Japan (Fig.1).
 - Diagnostic X-Ray Equipment. Medison Acoma Co., Ltd. Modelo VR-1020. Voltaje: AL230V. Freq. 50/60 Hz. Current 16A. Clase/Tipo I/B
 - X-Ray Tube Assembly. Modelo: 311-0036-200
 - X-Ray Tube: Toshiba. Modelo: D-124K. No. Serie: 2830.
 - o Cassettes Kodak X-Omatic (Kodak Lanex®) Regular Screens. Rochester, New York 14650. USA.
 - o Películas Kodak. MxG Film. 100 NIF / 24x30 cm. Francia.
 - o Reveladora Curix 60. AGFA.
- Sistema de infusión de suero (Intraset 10 Luer Lock). Intraven S.L. España.
- Solución salina fisiológica de 100 cc (Lab. Braun).
- Sutura de Nylon No. 0 (Nylon Unifilar). Lab. Argó S.A. Barcelona, España.
- Tornillos para la infusión intraósea: tornillos de cortical de 4,5 mm de diámetro y 20 mm de longitud (estudio intraóseo). Estos tornillos fueron canulados a lo largo de su eje longitudinal con un torno de 1,5 mm de diámetro, y se les aplicó un adaptador Luer metálico mediante soldadura.
- Tubos de recogida de sangre con heparina de litio de 1 y 2 ml (Tapval®).
- Tubos endotraqueales de silicona de 26 y 30 mm I.D. COOK® Veterinary Products, Queensland 4113, Australia.
- Vendas de Esmarch de anchuras de 7 cm y 11 cm.
- Xilazina (Xilagesic® 20% solución). Lab. Calier S.A., Barcelona. España.

Materiales



Fig. 1. Aparato de rayos portátil.



Fig. 2. Clorhidrato de vancomicina.



Fig. 3. Catéter de teflón 22G x 25 mm. Estudio IV.



Fig. 4. Tornillo de cortical canulado. Estudio IO.



Fig. 5. Bomba de infusión. Estudio IV.



Fig. 6. Sistema de infusión manual. Estudio IO.

• ***Métodos***

1. Método experimental

El trabajo se dividió en 2 estudios experimentales independientes separados en el tiempo. El primer estudio o fase intravenosa, consistió en la perfusión regional (PR) con vancomicina por vía intravenosa (IV); el segundo estudio o fase intraósea, realizado de forma posterior en el tiempo, consistió en la PR de vancomicina por vía intraósea (IO). La metodología para ambas fases se explica de forma conjunta, señalando las diferencias que existieron entre ambas.

Para cada una de las fases experimentales, IV e IO, se utilizaron 6 caballos con un total de 12 caballos. Todos los caballos fueron sometidos a exámenes clínico y radiológico previos para rechazar los caballos con patologías que se consideraron pudieran afectar a los resultados de la investigación. El examen clínico consistió en una exploración física general del animal y un examen de cojera completo de rutina. El estudio radiológico comprendió la toma de radiografías de la región distal de ambas extremidades anteriores, zona que incluyó desde el casco hasta el carpo. Se realizaron las radiografías incluidas en el examen radiológico estándar de estas regiones, con las proyecciones dorsopalmar (DP), laterolateral (LL), dorsolateral-palmaromedial y dorsomedial-palmarolateral oblicuas (DLPMO y DMPLO respectivamente). Sólo se incluyeron animales sanos sin claudicación relacionada con las extremidades anteriores.

Las razones para la exclusión de los animales fueron la observación de signos indicadores de enfermedad sistémica (fiebre, diarrea, problemas respiratorios, mal estado corporal, pérdida de peso crónico), y/o signos clínicos o radiológicos evidentes de alteración del sistema musculoesquelético de las extremidades anteriores (cojera, malformaciones físicas, zonas inflamadas, heridas, zonas dolorosas, laminitis, signos de infección ósea, articular o de tejidos blandos, o signos de enfermedad articular degenerativa).

El estudio experimental fue realizado bajo anestesia general y únicamente en las extremidades anteriores. En cada una de éstas, se realizó una única perfusión, correspondiente al grupo control (CTL) o al grupo vancomicina (VCM), siendo realizada cada una en un procedimiento anestésico diferente. Cada caballo fue por tanto, sometido a anestesia general en 2 ocasiones, con un intervalo de 2 semanas. La selección de la

extremidad y del grupo se realizó de forma aleatoria mediante lanzamiento de moneda al aire.

Se realizaron pruebas clínicas piloto previas en caballos destinados a sacrificio, a los que se les administraron soluciones de 60 ml de NaCl al 0,9%, con 200 mg y 300 mg de vancomicina, mediante perfusión regional intravenosa con los animales en la estación. Estos caballos fueron sometidos a sedación general con detomidina (10 µg/kg) y se realizó un bloqueo perineural de los nervios mediano y cubital con mepivacaína al 2%. Posteriormente, se realizó una exanguinación de la porción distal de la extremidad anterior mediante la aplicación de una venda de Esmarch desde el casco en sentido proximal hasta el tercio proximal del metacarpo, donde se fijó un torniquete de goma. Se procedió a la perfusión regional intravenosa en la estación, tras la cateterización de la vena digital palmar lateral a nivel del hueso sesamoideo proximal. Se administró la solución de 60 ml de suero salino fisiológico (NaCl 0,9%) con hidrocloreuro de vancomicina, y se evaluó el desarrollo de efectos adversos regionales y/o sistémicos. Ninguno de los 3 caballos a los que se les realizaron las perfusiones desarrolló signos de toxicidad regional ni sistémica. En base a estos resultados observados y junto con las recomendaciones de administración, se determinaron las características de la solución a profundir en este trabajo. Estas características fueron las siguientes.

El grupo control (CTL) consistió en la perfusión regional con 60 ml de solución de NaCl al 0,9%. En el grupo vancomicina (VCM), se administró una solución de 60 ml de NaCl al 0,9% que contenía 300mg de hidrocloreuro de vancomicina en disolución; la concentración final de vancomicina de la solución en este grupo fue 5 mg/ml. El volumen total de 60 ml fue infundido a una velocidad de 2 ml/min, lo que equivale a un tiempo de perfusión total de 30 min.

A los caballos se les administró fenilbutazona el día de la perfusión a una dosis de 4,4 mg/kg cada 12 h, y durante los 3 días posteriores a una dosis de 2,2 mg/kg cada 12 h. La primera dosis de fenilbutazona se administró de forma previa a la premedicación anestésica.

Antes de cada estudio, los caballos fueron sometidos a un ayuno de dieta sólida de 12 horas, con acceso a agua *ad libitum*. A todos los animales se les colocó un catéter intravenoso en la vena yugular con el fin de tener una vía venosa permeable para la medicación, premedicación y administración de fluidos (10 mL/kg/hora). Como premedicación anestésica se administró xilacina intravenosa, a dosis de 1 mg/kg, en forma de bolo durante 1 min. Una vez que el animal presentaba una relajación muscular adecuada se procedió a la inducción mediante administración de ketamina intravenosa en forma de bolo a una dosis de 2 mg/kg. Seguidamente se procedió a la intubación con un tubo

endotraqueal de 26-30 mm de diámetro y al sellado del mismo. El mantenimiento de la anestesia general se llevó a cabo mediante la administración de isoflurano al 2% vaporizado en oxígeno al 100%, a un flujo de 10 ml/kg/min, mediante un sistema semicerrado circular. Los caballos fueron sometidos a ventilación mecánica durante todo el período anestésico, ajustándose el volumen corriente al peso de cada animal a 10-15 ml/kg, de tal manera que la presión en la vía aérea nunca superó los 30 mmHg, y a una frecuencia respiratoria de 5-8 ventilaciones/min. La relación entre tiempo inspiratorio y el tiempo espiratorio se ajustó a 1:2. Durante todo el periodo intraoperatorio se monitorizaron los parámetros de presión arterial sistólica, diastólica y media, así como la frecuencia cardíaca, de forma invasiva, mediante la cateterización de la arteria facial transversa con un catéter de teflón de 20G. La presión arterial media se mantuvo por encima de 60 mmHg, para lo cuál, a aquellos caballos que mostraron valores de presión inferiores a 60 mmHg, se les administró dobutamina a una dosis de 0,5-1 µg/Kg/min a efecto. También fueron monitorizadas continuamente y mediante métodos convencionales, el porcentaje de saturación de oxígeno de la hemoglobina, la frecuencia respiratoria, los volúmenes corriente y minuto, el CO₂ final teleespiratorio (EtCO₂) y las concentraciones inspirado y espirado de agente anestésico.

El caballo fue posicionado en decúbito lateral con la extremidad a perfundir en posición superior. La porción de la extremidad desde el casco hasta el tercio distal del antebrazo fue rasurada y sobre esta zona, se realizó una limpieza aséptica con solución yodada y alcohol. Se colocaron los paños de campo que limitaban un área aséptica desde el rodete coronario hasta la articulación del carpo. A continuación, se procedió a la colocación de la vía de infusión, punto de la metodología que fue diferente según la técnica de perfusión del estudio experimental correspondiente, intravenosa o intraósea.

Fase experimental intravenosa:

Se cateterizó la vena digital palmar lateral a nivel del hueso sesamoideo proximal, con un catéter intravenoso de 22G × 25mm. Para facilitar la cateterización, se procedió a la ingurgitación de dicha vena mediante la aplicación de compresión suave a nivel del tercio medio del metacarpiano III (Fig. 7).

Fase experimental intraósea:

Se realizó una incisión de 2 cm a nivel de la unión de los tercios medio y distal del hueso metacarpiano III en su cara lateral. Se incidió el periostio y se levantó del hueso. Con ayuda de una guía, se realizó un orificio con una broca de 3,2 mm de diámetro en sentido perpendicular al eje longitudinal del hueso hasta llegar a cavidad medular, que indicaba la perforación completa de la cortical del hueso. A continuación, se procedió al labrado de la

rosca con un macho de 4,5 mm de diámetro (Fig. 13) y se insertó un tornillo cortical de 4,5 mm de diámetro y 2 cm de longitud (Fig. 14), que previamente había sido canulado y al que se le había acoplado mediante soldadura un adaptador Luer universal.

Seguidamente, y en **ambas fases experimentales**, se realizó el abordaje a la cavidad medular de la primera falange. Una incisión longitudinal de 2 cm fue realizada sobre el aspecto lateral de la primera falange en posición proximal a la eminencia distal. Con una broca de 2 mm de diámetro se perforó la cortical de dicha falange en un punto situado 3 cm proximal al punto más prominente o abaxial de la eminencia distal lateral hasta entrar en cavidad medular (Fig. 8 y 15).

A continuación, se realizó la exanguinación de la zona a perfundir mediante la aplicación de una venda de Esmarch de 7 cm de anchura desde el casco en sentido proximal, hasta el tercio proximal del metacarpo (Fig. 9 y 16), donde se aplicó un torniquete de goma utilizando una venda de Esmarch de 11 cm de anchura (Fig. 10 y 17). Estos procedimientos fueron realizados por la misma persona en todos los animales incluidos en el estudio.

Una vez colocado el torniquete, se realizó la artrocentesis de la articulación metacarpofalángica a través del ligamento sesamoideo colateral lateral con la articulación en semiflexión, con una aguja de 23 G × 25 mm a la que se le acopló una jeringa de 5 ml que permaneció *in situ* hasta el momento de la toma de muestras. La artrocentesis de la articulación interfalángica distal se realizó mediante abordaje dorsomedial o dorsolateral (a un lado u otro del tendón extensor común), con una aguja de 20G × 40 mm, a la que se acopló una jeringa de 5 ml que permaneció *in situ* hasta el momento de la toma de muestra. Las jeringas se mantuvieron acopladas a las agujas para impedir la entrada o aspiración de aire al interior de la articulación. A través del orificio perforado en la primera falange, se introdujo una aguja de 18G × 40 mm acoplada a una jeringa de 10 ml que también permaneció *in situ* hasta el momento de muestreo (Fig. 12 y 18).

Seguidamente, se procedió a la realización de la infusión de los 60 ml de solución.

En la **fase experimental intravenosa**, el catéter localizado en la vena digital palmar fue conectado a una bomba de infusión intravenosa, utilizada de forma rutinaria en personas y animales (Fig. 5). La solución de 60 ml fue infundida a una velocidad de 2 ml/min, durante un tiempo total de 30 min (Fig. 11).

La **perfusión intraósea** fue realizada de forma manual. Para ello se utilizaron jeringas de 10 ml acopladas a una llave de tres vías conectada a un prolongador de vía conectado, a su vez, al cabezal Luer del tornillo insertado en el hueso metacarpiano III (Fig. 6). La infusión de la solución de 60 ml fue realizada manualmente a una velocidad de 1 ml cada 30

segundos durante 30 min totales, manteniendo la misma velocidad de infusión determinada para la vía intravenosa, 2 ml/min. Una vez finalizada la inyección de los 60 ml, el tornillo permaneció con el prolongador de vía y la llave de tres vías cerrada *in situ* hasta la finalización del experimento (tiempo = 90 min), para evitar posible reflujo desde la cavidad medular de MTCIII. En todas las experiencias, la infusión fue realizada por la misma persona.

En **ambas fases experimentales**, intravenosa e intraósea, el torniquete se mantuvo *in situ* hasta el minuto 45, cuando fue liberado.

Se tomaron muestras de sangre sistémica -SS- (4ml), líquido sinovial (0,3 ml) de las articulaciones metacarpofalángica (MTCF) e interfalángica distal (IFD), y de médula ósea (0,5-1ml) de la primera falange (MO), a los tiempos 00 (previo al inicio de la perfusión) y 15, 30, 45, 65 y 90 min tras el inicio de la perfusión. Después de la recogida de muestras a los 90 min, se suturó la incisión de piel a nivel de primera falange en ambas técnicas y la incisión en piel a nivel de metacarpiano III en la técnica intraósea con sutura de Nylon No. 0. Se realizó un vendaje de la porción distal de extremidad sobre la que se realizó la perfusión y los caballos fueron recuperados de la anestesia. Posteriormente se continuaron tomando muestras de sangre sistémica y de líquido sinovial de la articulación MTCF a los tiempos 4, 8 12 y 24 horas, tomando como tiempo 0 el inicio de la perfusión. Para facilitar la recogida de las muestras a los tiempos 4, 8, 12 y 24 horas, se administró a todos los caballos detomidina a una dosis de 10 µg/kg por vía intravenosa sistémica.

La siguiente tabla muestra el protocolo de recogida de muestras seguido en el presente estudio

Tiempo	Muestra			
0 min (inicio PR)	MTCF	IFD	MO	SS
15 min	MTCF	IFD	MO	SS
30 min (fin PR)	MTCF	IFD	MO	SS
45 min	MTCF	IFD	MO	SS
45 min: liberación torniquete				
65 min	MTCF	IFD	MO	SS
90 min	MTCF	IFD	MO	SS
90 min: recuperación anestésica				
4 h	MTCF			SS
8 h	MTCF			SS
12 h	MTCF			SS
24 h	MTCF			SS

Tabla 4. Protocolo de recogida de muestras para medición de niveles de vancomicina.

Estudio intravenoso



Fig. 7. Cateterización vena digital palmar. Estudio IV.



Fig. 8. Abordaje cavidad medular primera falange. Estudio IV.



Fig. 9. Aplicación de venda de Esmarch. Estudio IV.



Fig. 10. Aplicación de torniquete. Estudio IV.



Fig. 11. Sistema de perfusión regional intravenoso.



Fig. 12. Recogida de muestras sinoviales y medular. Estudio IV.

Estudio intraóseo



Fig. 13. Labrado de rosca en MTCIII. Estudio IO.



Fig. 14. Inserción de tornillo canulado en MTCIII. Estudio IO.



Fig. 15. Abordaje cavidad medular primera falange. Estudio IO.



Fig. 16. Aplicación de venda de Esmarch. Estudio IO.



Fig. 17. Retirada de venda de Esmarch. Estudio IO.



Fig. 18. Toma de muestras sinoviales y medular. Estudio IO.

2. Método de seguimiento clínico y radiológico

2.1 Seguimiento clínico

Todos los caballos fueron sometidos a un examen clínico diario y a la determinación de niveles plasmáticos de parámetros renales, que fueron realizados de forma previa y durante los 7 días posteriores a la perfusión.

El examen clínico se centró en la observación y gradación de parámetros clínicos previamente establecidos y relacionados con el sistema musculoesquelético, y la realización de un examen neurológico, además de una evaluación del estado general del animal.

2.1.1 A nivel loco-regional

Los **parámetros clínicos** observados y las escalas de graduación fueron los siguientes:

- **Cojera clínica**

Grado 0: no observada a paso ni a trote.

Grado 0,5: no se observa cojera a paso ni a trote en línea recta; sí al trote en círculos pequeños.

Grado 1: no se observa cojera al paso; sí al trote en círculos y en línea recta, con movimientos de la cabeza.

Grado 1,5: existe una alteración de la marcha al paso pero no se observan movimientos de cabeza al paso. Sí al trote.

Grado 2: existe una alteración de la marcha al paso y se observan movimientos de la cabeza al paso en círculo.

Grado 2,5: existe una alteración de la marcha con movimientos de la cabeza evidentes al paso.

Grado 3: cojera obvia al paso y al trote con movimientos de cabeza claros al paso y al trote.

Grado 3,5: cojera obvia, el caballo únicamente apoya la pinza del casco al caminar.

Grado 4: cojera sin apoyo. Rehúsa a caminar.

- **Articulación del menudillo**

- a. Efusión sinovial:**

- Grado nulo (0): no se aprecia distensión articular.

- Grado leve (0,5-1): distensión palpable en el receso lateral.

- Grado 0,5: distensión ligeramente palpable

- Grado 1: distensión claramente palpable

- Grado moderado (1,5-2): distensión visible del receso lateral

- Grado 1,5: distensión ligeramente visible en el receso lateral

Grado 2: distensión claramente visible en el receso lateral

Grado severo (2,5-3): distensión prominente en recesos lateral y visible en receso dorsal.

Grado 2,5: distensión ligera en receso dorsal

Grado 3: distensión prominente en receso dorsal

b. Calor a la palpación (0: nula; 0,5-1: leve; 1,5-2: moderada; 2,5-3: severa).

c. Sensibilidad a la palpación

Grado nulo (0): no mueve la extremidad ni al tacto ni a la presión.

Grado leve (0,5-1): mueve la extremidad en respuesta a presión firme, pero no al tacto suave.

Grado moderado (1,5-2): mueve la extremidad de forma lenta en respuesta al tacto suave.

Grado severo (2,5-3): levanta la extremidad de forma súbita al tocar suavemente la articulación.

• **Punto de infusión**

a. **3.1 Inflamación** (0: nula; 0,5-1: leve; 1,5-2: moderada; 2,5-3: severa).

b. **3.2 Descarga** (0: nula; 1: leve; 2: moderada; 3: severa).

c. **3.3 Sensibilidad a la palpación** (igual que en punto 2.3).

2.1.2 A nivel sistémico

Se realizaron mediciones de los niveles plasmáticos de **urea** y de **creatinina** el día previo a la perfusión y durante los 7 días siguientes a la misma.

2.2 Seguimiento radiológico

A todos los caballos se les realizaron **exámenes radiográficos** (proyecciones DP, LL, DLPMO y DMPLO) del hueso metacarpiano III en los días 1, 7 y 30, tomando como “día 0” el día de la realización de la perfusión regional. Se evaluaron cambios en el patrón trabecular del hueso y cambios en la zona de inserción del tornillo canulado, así como signos de irregularidad ósea, de formación de nuevo hueso, alteración de la densidad ósea y aparición de zonas de lisis ósea.

2.3 Agrupación de los resultados clínicos

Los resultados clínicos se agruparon según la vía de administración intravenosa (IV) o intraósea (IO), según el grupo vancomicina (VCM) o grupo control (CTL). De forma que los **4 grupos** fueron los siguientes:

- **IV-VCM:** caballos a los que se les realizó perfusión regional por vía intravenosa con solución que contenía vancomicina.
- **IV-CTL:** caballos a los que se les realizó perfusión regional por vía intravenosa con solución sin vancomicina.
- **IO-VCM:** caballos a los que se les realizó perfusión regional por vía intraósea con solución que contenía vancomicina.
- **IO-CTL:** caballos a los que se les realizó perfusión regional por vía intraósea con solución sin vancomicina.

Dentro de estos grupos, las observaciones clínicas se agruparon en función del parámetro clínico observado, en los **subgrupos** siguientes:

1. Grado de cojera (**COJERA**).
2. Grado de efusión sinovial de la articulación metacarpofalángica (**MENEF**).
3. Grado de calor de la articulación metacarpofalángica (**MENCA**).
4. Grado de sensibilidad a la palpación de la articulación metacarpofalángica (**MENSE**).
5. Grado de inflamación en el punto de infusión (**PIF**).
6. Grado de descarga en el punto de infusión (**PIDE**).
7. Grado de sensibilidad a la palpación en el punto de infusión (**PISE**).

Cada uno de estos subgrupos se compone de **9 observaciones** correspondientes a diferentes momentos de observación. Por ejemplo, en el caso del parámetro COJERA, las observaciones son:

- **COJERA_0:** grado de cojera observada de forma previa a la realización del procedimiento experimental de perfusión regional.
- **COJERA_0-post:** grado de cojera observada el mismo día de la perfusión regional, una vez realizado este procedimiento y recuperado el animal de la anestesia general.
- **COJERA_1:** grado de cojera observada en el día siguiente a la realización de la perfusión regional.
- **COJERA_2:** grado de cojera observada 2 días después de la realización de la perfusión regional.
- **COJERA_3:** grado de cojera observada 3 días después de la realización de la perfusión regional.
- **COJERA_4:** grado de cojera observada 4 días después de la realización de la perfusión regional.
- **COJERA_5:** grado de cojera observada a los 5 días después de a la realización de la perfusión regional.

- **COJERA_6**: grado de cojera observada 6 días después de la realización de la perfusión regional.
- **COJERA_7**: grado de cojera observada 7 días después de la realización de la perfusión regional.

Para el resto de subgrupos, las observaciones clínicas se denominan con el acrónimo correspondiente al parámetro clínico de que se trata, seguida del número indicativo del momento de observación de forma equivalente a la manera señalada para COJERA. De tal manera, que por ejemplo, MENE_6, indica el grado de efusión sinovial observado 6 días después de la realización de la perfusión regional; PIF_0-post, se corresponde con el grado de inflamación observado en el punto de infusión el mismo día de la realización de la perfusión regional, pero una vez recuperado el caballo de la anestesia general.

3. Método de determinación de los niveles de vancomicina

3.1 Procesamiento y análisis de las muestras

Todas las muestras, tanto las de líquido sinovial, como las de sangre sistémica y de médula ósea, fueron introducidas en tubos con heparina de litio. Las muestras de sangre sistémica y médula ósea, así como las muestras de líquido sinovial hemorrágicas fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se recuperó y se almacenó junto con todas las muestras de líquido sinovial no centrifugadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la determinación de los niveles de vancomicina, que fue llevada a cabo entre los 5 y 7 días siguientes a su recolección.

La determinación se realizó mediante una técnica de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA) utilizando los kits de determinación comercializados por el laboratorio Abbot para medicina humana, en un laboratorio de referencia (Labipath, S.A., Madrid). El rango de sensibilidad de la técnica descrito por el fabricante es desde 2 a 100 $\mu\text{g/ml}$; las muestras con concentraciones superiores deben ser diluidas a concentraciones menores incluidas en ese rango para que puedan ser procesadas.

De forma previa al desarrollo experimental, se realizó una validación de la técnica de determinación de niveles de vancomicina para su empleo con muestras de plasma y líquido sinovial de caballos. Para ello se realizaron diluciones conocidas de hidrocloreuro de vancomicina en muestras de plasma y líquido sinovial tomadas de caballos sanos, que no estaban recibiendo ninguna medicación. Para el caso de plasma sanguíneo, se realizaron diluciones de 1, 2, 5, 10, 25, 50, 75 y 100 $\mu\text{g/ml}$. Para cada una de estas concentraciones se realizaron 3 diluciones. En el caso de 5, 25 y 75, se realizaron 6 muestras, repartidas en 3 días (2 cada día), para evaluar la variabilidad inter-día de la técnica. Todas estas muestras

fueron procesadas y se obtuvieron los valores medios determinados para cada concentración con la desviación estándar. Con estos resultados se describió la recta de regresión que presentó las siguientes características:

$$Y = 1,17 X + 0,26$$

donde, Y = concentración de vancomicina determinada por la técnica

X = concentración de vancomicina real

0,26 = punto de corte de la recta en el eje de las Y cuando X = 0

1,17 = pendiente de la recta

El factor de regresión de la recta resultó: $r^2 = 0,991047$

En el caso del líquido sinovial, se realizó la misma técnica y las características de la recta de regresión fueron las siguientes:

$$Y = 1,235 X - 0,796$$

donde, Y = concentración de vancomicina determinada por la técnica

X = concentración de vancomicina real

0,796 = punto de corte de la recta en el eje de las Y cuando X = 0

1,235 = pendiente de la recta

El factor de regresión de la recta resultó: $r^2 = 0,994415$

3.2 Agrupación de los resultados farmacológicos

Los datos referentes a los niveles de vancomicina en los diferentes tejidos muestreados se agruparon según la vía de administración (estudio IV o estudio IO) y localización (MTCF, IFD, MO, SS):

- **Grupo IV-MTCF:** niveles de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intravenosa.
- **Grupo IV-IFD:** niveles de vancomicina en líquido sinovial de la articulación interfalángica distal, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intravenosa.
- **Grupo IV-MO:** niveles de vancomicina en médula ósea de primera falange, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intravenosa.
- **Grupo IV-SS:** niveles de vancomicina en plasma sistémico, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intravenosa.

- **Grupo IO-MTCF:** niveles de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intraósea.
- **Grupo IO-IFD:** niveles de vancomicina en líquido sinovial de la articulación interfalángica distal, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intraósea.
- **Grupo IO-MO:** niveles de vancomicina en médula ósea de primera falange, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intraósea.
- **Grupo IO-SS:** niveles de vancomicina en plasma sistémico, en los caballos sometidos a la perfusión regional por vía intraósea.

Dentro de cada estudio o fase experimental (IV o IO), los datos se denominan de acuerdo al punto de donde se recoge la muestra (MTCF, IFD, MO o SS) y el tiempo de muestreo (00, 15, 30, 45, 65 y 90 min, y 4, 8, 12 y 24 horas, después del inicio de la perfusión regional). El tiempo 0 min se corresponde con el inicio de la infusión de la solución de 60 ml. De esta forma, en el caso de la articulación metacarpofalángica, los datos aparecen de la siguiente manera:

- **MTCF-00:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el momento previo al inicio de la perfusión.
- **MTCF-15:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 15 min, que se corresponde al momento en el que se ha administrado la mitad (30 ml) del total de la solución que se va a infundir (60 ml).
- **MTCF-30:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 30 min, que se corresponde al momento de finalización de la infusión de los 60 ml que componen la solución de perfusión.
- **MTCF-45:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 45 min, que se corresponde con 15 min después de la finalización de la infusión y justo antes de la liberación del torniquete.
- **MTCF-65:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 65 min, que se corresponde con 35 min después de la finalización de la infusión y 20 min después de la liberación del torniquete.
- **MTCF-90:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 90 min, que se corresponde con una

hora después de la finalización de la infusión y 45 min después de la liberación del torniquete.

- **MTCF-4h:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 4h, que se corresponde con 4 horas después del inicio de la perfusión (tiempo 0 min).
- **MTCF-8h:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 8h, que se corresponde con 8 horas después del inicio de la perfusión.
- **MTCF-12h:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 12h, que se corresponde con 12 horas después del inicio de la perfusión.
- **MTCF-24h:** indica la concentración de vancomicina en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica en el tiempo 24h, que se corresponde con 24 horas después del inicio de la perfusión.

En el resto de puntos de muestreo, la denominación es similar: se indica primero la localización o tipo de muestra (IDF, MO, SS) seguido del indicativo del momento de muestreo (00, 15, 30, etc). De esta forma, por ejemplo, "MO-65" indica la concentración de vancomicina en médula ósea de primera falange en el minuto 65, es decir, 65 minutos después del inicio de la perfusión regional, o 35 minutos después de la finalización de la infusión.

4. Estudio estadístico de los resultados

El análisis estadístico de los datos clínicos se realizó en el Departamento de Apoyo a la Investigación de los Servicios Informáticos de la Universidad Complutense de Madrid, utilizando el programa SPSS 11.5 para Windows (SPSS, 2002).

4.1 Resultados clínicos

Una vez agrupados los datos de los parámetros clínicos se evaluó la normalidad de la distribución de los datos de cada subgrupo y se aplicaron los siguientes análisis estadísticos:

- Procedimiento DESCRIPTIVE (Ferrán, 1996): estadística descriptiva de las variables continuas (parámetros clínicos) para la descripción de las muestras. Se calcularon valores medios, desviación típica, valores máximo y mínimo, y valores del intervalo de confianza al 95%.
- Test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov (procedimiento NPAR TESTS; Ferrán, 1996): para la comparación de las variables continuas (parámetros clínicos) entre las categorías de vía de administración (IV, IO) y grupo (VCM, CTL).

La significatividad de los resultados se fijó para valores $p < 0,05\%$.

4.2 Resultados farmacológicos

Una vez agrupados los datos de los niveles de vancomicina se evaluó la normalidad de la distribución de los datos de cada subgrupo y se aplicaron los siguientes análisis estadísticos:

- Procedimiento DESCRIPTIVE (Ferrán, 1996): estadística descriptiva de las variables continuas (parámetros clínicos), para la descripción de las muestras. Se calcularon valores medios, desviación típica, valores máximo y mínimo, y valores del intervalo de confianza al 95%.
- Análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas (procedimiento GLM) para el análisis del comportamiento de grupos de un factor inter-sujeto (vía de administración: IV o IO) en un factor intra-sujeto (tiempo) (Ferrán, 1996).
- Test de la t de Student (procedimiento T-TEST) para la comparación de muestras independientes comparando las concentraciones medias de 2 vías de administración (IV e IO) para cada uno de los tiempos de muestreo, y comparando las concentraciones medias de las dos articulaciones (MTCF e IFD) incluidas en el mismo procedimiento de perfusión (Ferrán, 1996).

La significatividad de los resultados se fijó para valores $p < 0,05\%$.

Para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos dentro de cada grupo se utilizó el programa informático para tratamiento farmacocinética Pcnonlin® V 4.0 (Statistical Consultants Inc., Lexington, KY. Estados Unidos). Se evaluó la normalidad de los datos y se analizaron mediante la siguiente prueba estadística:

- Test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov (procedimiento NPAR TESTS; Ferrán, 1996): para la comparación de las variables continuas (parámetros clínicos) entre las categorías de vía de administración (IV, IO) y grupo (VCM, CTL).

Resultados

Los resultados del presente trabajo y su estudio estadístico se muestran en dos apartados. Primero, bajo el nombre de Resultados clínicos y radiológicos (Apartado 1), aparecen agrupadas las observaciones correspondientes a los parámetros clínicos evaluados, las observaciones correspondientes al desarrollo de efectos a nivel sistémico, y las observaciones de los exámenes radiológicos. En segundo lugar, en el apartado de Resultados farmacológicos (Apartado 2), se muestran las concentraciones de vancomicina determinadas en las diferentes localizaciones a lo largo del estudio.

1. Resultados clínicos y radiológicos

1.1 Resultados clínicos regionales

Inicialmente se muestran los grados de los diferentes parámetros clínicos observados para cada uno de los caballos, durante los 7 días de estudio (Apartado 1.1.1). Seguidamente, aparecen los resultados de la estadística descriptiva con los valores medios, valores de desviación típica y los intervalos de confianza para cada localización y tiempo de muestreo (Apartado 1.1.2). En tercer lugar, se desarrolla el estudio estadístico de los datos mediante análisis no paramétricos de Kolmogorov-Smirnov (Apartado 1.1.3). Se utilizó este estudio estadístico debido a que los datos no presentaban una distribución normal. Finalmente, se muestran las representaciones gráficas de los grados de las observaciones de los parámetros clínicos frente al tiempo (Apartado 1.1.4).

La siguiente tabla (Tabla 5) muestra las correspondencias de los momentos de observación que se indican en las tablas posteriores.

Día indicado	Momento de observación
Día 0	Observación realizada de forma previa a la PR
Día 0-post	Observación realizada el mismo día de la PR, pero en un momento posterior a ella, es decir, después de que el caballo se ha recuperado de la anestesia
Día 1	Observación realizada 1 día después de la PR
Día 2	Observación realizada 2 días después de la PR
Día 3	Observación realizada 3 días después de la PR
Día 4	Observación realizada 4 días después de la PR
Día 5	Observación realizada 5 días después de la PR
Día 6	Observación realizada 6 días después de la PR
Día 7	Observación realizada 7 días después de la PR

Tabla 5. Momentos de las observaciones clínicas (PR: perfusión regional).

1.1.1 Observaciones clínicas individuales

En las tablas 6 a 33 se muestran los resultados de las observaciones para cada uno de los parámetros clínicos evaluados para cada caballo y tiempo de muestreo, distribuidos en los diferentes grupos de estudio.

ESTUDIO INTRAVENOSO

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0,5	0,5	0	0	1	0
1	0	0,5	0	0	1	0
2	0	0	0	0	1,5	0
3	0	0	0	0	1,5	0
4	0	0	0	0	1	0
5	0	0	0	0	2	0
6	0	0	0	0	1,5	0
7	0	0	0	0	1	0

Tabla 6. Cojera, grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0,5	0	0	0,5	0
1	0	1	0,5	0	1	0
2	0,5	1	0,5	0	1	0
3	0	0,5	0	0	0,5	0
4	0	0	0	0	1	0
5	0	0	0	0	1	0
6	0	0	0	0	1	0
7	0	0	0	0	0,5	0

Tabla 7. Cojera, grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0,5	0	0	0,5
1	1,5	2	1	1	3	1
2	1	1	1	1	2,5	0,5
3	1	0,5	1	1	2,5	0
4	0,5	0	0,5	1	2,5	0
5	0	0	0,5	1	2,5	0
6	0	0	0	0,5	2	0
7	0	0	0	0	2	0

Tabla 8. Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0,5	0	0,5	0
0-post	0	0	0,5	0	0,5	0
1	1	1	1,5	2,5	3	0
2	1	1,5	1	2,5	2	0
3	1	1	0,5	2	1	0
4	1	1	0,5	2	1	0
5	0,5	0,5	0	1,5	1,5	0
6	0,5	0,5	0	1	1,5	0
7	0,5	0,5	0	0,5	1	0

Tabla 9. Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0,5	0	0	0,5	0
1	1	1	1	1	2,5	0
2	1	1	0,5	0	3	0
3	0	1	0,5	0	3	0
4	0	0,5	0	0	2,5	0
5	0	0,5	0	0	2	0
6	0	0	0	0	1,5	0
7	0	0	0	0	1	0

Tabla 10. Calor en menudillo (MENCA), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0,5	0
1	0,5	0,5	1	2	3	0
2	0	0,5	1	2	3	0
3	0,5	0,5	0,5	1	2	0
4	0	0	0,5	1	1	0
5	0	0	0,5	0	1	0
6	0	0	0,5	0	1	0
7	0,5	0	0	0	1	0

Tabla 11. Calor en menudillo (MENCA), grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0,5	0	0	0	0,5	0
1	0,5	0	0	0	2	0
2	0	0	0	0	1,5	0
3	0	0	0	0	1,5	0
4	0	0	0	0	1,5	0
5	0	0	0	0	2	0
6	0	0	0	0	2	0
7	0	0	0	0	1,5	0

Tabla 12. Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0,5	0
1	0	0	0	0	3	0
2	0	0	0	0	2	0
3	0	0	0	0	2	0
4	0	0	0	0	1,5	0
5	0	0	0	0	1,5	0
6	0	0	0	0	1,5	0
7	0	0	0	0	1,5	0

Tabla 13. Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 14. Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 15. Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 16. Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 17. Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IV-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 18. Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IV-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 19. Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IV-CTL.

ESTUDIO INTRAÓSEO

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	1	0	0	0	0,5
1	0	0,5	0,5	0	0	0
2	0	0,5	0,5	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 20. Cojera grupo, IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	1	0,5	0	0	0	0
2	0	0,5	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 21. Cojera grupo, IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0,5	0
1	1	2	2	1,5	1	0
2	0	1,5	1	1	1	0
3	0	1,5	1	0,5	0,5	0
4	0	1	1	0	0	0
5	0	1	0,5	0	0	0
6	0	0,5	0,5	0	0	0
7	0	0,5	0,5	0	0	0

Tabla 22. Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	2	1,5	0	1,5	1
2	0	2	1	0	1	1
3	0	1	1	0	0	0,5
4	0	1	1	0	0	0
5	0	1	1	0	0	0
6	0	1	1	0	0	0
7	0	1	1	0	0	0

Tabla 23. Efusión sinovial del menudillo (MENEF), grupo IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	0	0	1
2	1	1	1	0	0	0
3	1	1	0	0	0	0
4	1	0,5	0	0	0	0
5	1	0,5	0,5	0	0	0
6	1	0,5	0,5	0	0	0
7	1	0,5	0	0	0	0

Tabla 24. Calor en menudillo (MENCA), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	1,5	2	1,5	0	0	1
2	1	2	0,5	0	0	1
3	0	1,5	0	0	0	0,5
4	0,5	1	0	0	0	0,5
5	0	1	0	0	0	0
6	0,5	0,5	0	0	0	0
7	0,5	0,5	0	0	0	0

Tabla 25. Calor en menudillo (MENCA), grupo IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	1	1	0	0,5	0	0
2	1	1	0	1	0	0
3	0	0	0	1	0	0
4	0	0	0	1	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 26. Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	1	1	1	0	0
2	0	1	1	0	0	0
3	0	1	1	0	0	0
4	0	1	0	0	1	0
5	0	1	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 27. Sensibilidad a la palpación en menudillo (MENSE), grupo IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	2	1,5	0	1	0	0,5
2	1	1	0	1	0	0
3	1	1	0	1	0	0
4	1	1,5	0	1	0	0
5	1	1	0	1	0	0
6	1	1	0	1	0	0
7	0,5	1	0	1	0	0

Tabla 28. Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	2	0	1	1,5	0	0,5
2	1	0	1	0,5	0	0,5
3	1	0	0	1	0	1
4	1	0	0	1	0	0,5
5	1	0	0	1	0	0
6	1	0	0	1	0	0
7	1	0	0	1	0	0

Tabla 29. Inflamación en el punto de infusión (PIF), grupo IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 30. Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 31. Descarga en punto de infusión (PIDE), grupo IO-CTL.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	1	0	0	1	0	0
1	1	0	0	1	0	0
2	1	0	1	0	0	0
3	0,5	0	0,5	0	0	0
4	0	0	0,5	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 32. Sensibilidad a la palpación en punto de infusión (PISE), grupo IO-VCM.

Día de muestreo	Caballo					
	1	2	3	4	5	6
0	0	0	0	0	0	0
0-post	0	1	0	0	0,5	0
1	1	1	0	0	1	0
2	0	1	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0

Tabla 33. Sensibilidad a la palpación en el punto de infusión (PISE), grupo IO-CTL.

1.1.2 Observaciones clínicas agrupadas. Estadística descriptiva

Dentro de cada estudio experimental (IV e IO), las observaciones clínicas de los 12 caballos fueron agrupadas según el parámetro clínico observado y el tiempo de observación. Las siguientes tablas (Tablas 34 y 35), muestran los resultados estadísticos descriptivos (media \pm desviación típica) de las diferentes observaciones clínicas para cada parámetro clínico y tiempo de observación en los 4 grupos de estudio (IV-VCM, IV-CTL, IO-VCM, IO-CTL). Las observaciones referentes al punto de infusión se muestran en una tabla diferente (Tabla 35).

Parámetro clínico	GRUPO			
	IV-VCM	IV-CTL	IO-VCM	IO-CTL
COJERA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
COJERA_0-post	0,333 ± 0,408	0,167 ± 0,258	0,25 ± 0,418	0,00 ± 0,000
COJERA_1	0,25 ± 0,418	0,42 ± 0,492	0,17 ± 0,258	0,25 ± 0,418
COJERA_2	0,25 ± 0,612	0,50 ± 0,447	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204
COJERA_3	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
COJERA_4	0,17 ± 0,408	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
COJERA_5	0,33 ± 0,816	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
COJERA_6	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
COJERA_7	0,17 ± 0,408	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENEF_0	0,00 ± 0,000	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENEF_0-post	0,17 ± 0,258	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000
MENEF_1	1,583 ± 0,801	1,50 ± 1,095	1,25 ± 0,758	1,0 ± 0,8367
MENEF_2	1,17 ± 0,683	1,33 ± 0,876	0,75 ± 0,612	0,83 ± 0,753
MENEF_3	1,00 ± 0,837	0,92 ± 0,665	0,58 ± 0,585	0,42 ± 0,492
MENEF_4	0,75 ± 0,935	0,917 ± 0,665	0,333 ± 0,516	0,333 ± 0,516
MENEF_5	0,67 ± 0,983	0,67 ± 0,683	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,516
MENEF_6	0,42 ± 0,801	0,58 ± 0,585	0,17 ± 0,258	0,33 ± 0,516
MENEF_7	0,33 ± 0,816	0,42 ± 0,376	0,17 ± 0,258	0,33 ± 0,516
MENCA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENCA_0-post	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENCA_1	1,08 ± 0,801	1,17 ± 1,125	0,67 ± 0,516	1,0 ± 0,837
MENCA_2	0,92 ± 1,114	1,08 ± 1,201	0,5 ± 0,548	0,75 ± 0,758
MENCA_3	0,75 ± 1,173	0,75 ± 0,689	0,33 ± 0,516	0,33 ± 0,606
MENCA_4	0,50 ± 1,000	0,42 ± 0,492	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,408
MENCA_5	0,42 ± 0,801	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,408	0,17 ± 0,408
MENCA_6	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,408	0,17 ± 0,258
MENCA_7	0,17 ± 0,408	0,25 ± 0,418	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,258
MENSE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENSE_0-post	0,167 ± 0,258	0,083 ± 0,204	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENSE_1	0,417 ± 0,801	0,500 ± 1,225	0,417 ± 0,492	0,5 ± 0,5477
MENSE_2	0,25 ± 0,612	0,33 ± 0,816	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516
MENSE_3	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	0,33 ± 0,516
MENSE_4	0,33 ± 0,816	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	0,33 ± 0,516
MENSE_5	0,33 ± 0,816	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	0,17 ± 0,408
MENSE_6	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
MENSE_7	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000

Tabla 34. Valores estadísticos descriptivos (media ± desviación típica) de los parámetros clínicos COJERA y los referentes al menudillo (MENEF: efusión sinovial en menudillo; MENCA: calor a la palpación en menudillo; MENSE: sensibilidad a la palpación en menudillo).

En la fase IO, las observaciones (valor medio ± desviación típica) referentes a los parámetros clínicos del punto de infusión (inflamación, descarga y sensibilidad a la palpación) fueron las siguientes:

Parámetro	Grupo IO-VCM	Grupo IO-CTL
PIF_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIF_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIF_1	0,83 ± 0,816	0,83 ± 0,816
PIF_2	0,50 ± 0,548	0,50 ± 0,447
PIF_3	0,50 ± 0,548	0,50 ± 0,548
PIF_4	0,58 ± 0,665	0,42 ± 0,492
PIF_5	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516
PIF_6	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516
PIF_7	0,417 ± 0,4916	0,333 ± 0,5164
PIDE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_1	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_2	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_3	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_4	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_5	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PIDE_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PISE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PISE_0-post	0,33 ± 0,516	0,25 ± 0,418
PISE_1	0,33 ± 0,516	0,50 ± 0,548
PISE_2	0,33 ± 0,516	0,17 ± 0,408
PISE_3	0,167 ± 0,2582	0,167 ± 0,4082
PISE_4	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000
PISE_5	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PISE_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000
PISE_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000

Tabla 35. Valores estadísticos descriptivos (media ± desviación típica) de los parámetros clínicos referentes al punto de infusión (PI) del estudio IO (PIF: grado de inflamación en PI; PIDE: grado de descarga en PI; PISE: grado de sensibilidad en PI).

Los datos correspondientes a las observaciones del punto de infusión en el estudio experimental IV (parámetros inflamación, descarga y sensibilidad), han sido omitidos en esta tabla, en las representaciones gráficas siguientes y en el análisis estadístico posterior ya que todos poseían un valor cero. Por lo tanto, los valores medios son 0 para todos y no existe desviación típica, ni, por tanto, diferencias estadísticas para ninguno de los parámetros.

1.1.3 Análisis estadístico de Kolmogorov-Smirnov

Se realizaron tests no paramétricos de Kolmogorov-Smirnov comparando los grupos 2 a 2. Las diferencias se consideraron significativas para valores de $p < 0,05$. Primero se tomó como factor la vía intravenosa (IV) y se compararon los grupos IV-VCM e IV-CTL, para determinar si existen diferencias significativas entre ambos. Seguidamente se fijó el factor vía intraósea (IO) y se compararon los grupos IO-VCM e IO-CTL. En tercer lugar, se compararon los grupos VCM-IV y VCM-IO tomando como factor la administración de vancomicina (VCM).

Finalmente, se tomó el factor grupo control (CTL), y se analizaron las diferencias entre los grupos control de ambas vías (CTL-IV y CTL-IO).

La siguiente tabla (Tabla 36) muestra los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov fijando el **factor vía de administración IV**, y comparando las observaciones clínicas de los diferentes parámetros entre los grupos IV-VCM e IV-CTL.

Parámetro clínico	IV-VCM	IV-CTL	Valor p
COJERA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_0-post	0,33 ± 0,408	0,17 ± 0,258	1,000
COJERA_1	0,25 ± 0,418	0,42 ± 0,492	1,000
COJERA_2	0,25 ± 0,612	0,50 ± 0,447	0,441
COJERA_3	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,258	1,000
COJERA_4	0,17 ± 0,408	0,17 ± 0,408	1,000
COJERA_5	0,33 ± 0,816	0,17 ± 0,408	1,000
COJERA_6	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	1,000
COJERA_7	0,17 ± 0,408	0,08 ± 0,204	1,000
MENEF_0	0,00 ± 0,000	0,17 ± 0,258	0,893
MENEF_0-post	0,17 ± 0,258	0,17 ± 0,258	1,000
MENEF_1	1,58 ± 0,801	1,50 ± 1,095	1,000
MENEF_2	1,17 ± 0,683	1,33 ± 0,876	0,893
MENEF_3	1,00 ± 0,837	0,92 ± 0,665	1,000
MENEF_4	0,75 ± 0,935	0,92 ± 0,665	0,893
MENEF_5	0,67 ± 0,983	0,67 ± 0,683	1,000
MENEF_6	0,42 ± 0,801	0,58 ± 0,585	0,893
MENEF_7	0,33 ± 0,816	0,42 ± 0,376	0,441
MENCA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_0-post	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204	1,000
MENCA_1	1,08 ± 0,801	1,17 ± 1,125	0,893
MENCA_2	0,92 ± 1,114	1,08 ± 1,201	1,000
MENCA_3	0,75 ± 1,173	0,75 ± 0,689	0,893
MENCA_4	0,50 ± 1,000	0,42 ± 0,492	1,000
MENCA_5	0,42 ± 0,801	0,25 ± 0,418	1,000
MENCA_6	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,418	1,000
MENCA_7	0,17 ± 0,408	0,25 ± 0,418	1,000
MENSE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_0-post	0,17 ± 0,258	0,083 ± 0,204	1,000
MENSE_1	0,42 ± 0,801	0,50 ± 1,225	1,000
MENSE_2	0,25 ± 0,612	0,33 ± 0,816	1,000
MENSE_3	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	1,000
MENSE_4	0,33 ± 0,816	0,25 ± 0,612	1,000
MENSE_5	0,33 ± 0,816	0,25 ± 0,612	1,000
MENSE_6	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	1,000
MENSE_7	0,25 ± 0,612	0,25 ± 0,612	1,000

Tabla 36. Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor vía de administración IV.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros clínicos observados entre los grupos VCM y CTL en el estudio intravenoso (valores de $p > 0,05$).

La siguiente tabla (Tabla 37) muestra los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov fijando el **factor vía de administración IO**, y comparando las observaciones clínicas de los diferentes parámetros entre los grupos IO-VCM e IO-CTL. En esta tabla se incluyen únicamente los parámetros clínicos cojera y los referentes a la articulación metacarpofalángica. Los parámetros de inflamación, descarga y sensibilidad a la palpación del punto de infusión se muestran más adelante (Tabla 40).

Parámetro clínico	IO-VCM	IO-CTL	Valor p
COJERA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_0-post	0,25 ± 0,418	0,00 ± 0,000	0,893
COJERA_1	0,17 ± 0,258	0,25 ± 0,418	1,000
COJERA_2	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204	1,000
COJERA_3	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_4	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_5	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_0-post	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_1	1,25 ± 0,758	1,00 ± 0,8367	1,000
MENEF_2	0,75 ± 0,612	0,83 ± 0,753	1,000
MENEF_3	0,58 ± 0,585	0,42 ± 0,492	1,000
MENEF_4	0,33 ± 0,516	0,33 ± 0,516	1,000
MENEF_5	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,516	1,000
MENEF_6	0,17 ± 0,258	0,33 ± 0,516	0,893
MENEF_7	0,17 ± 0,258	0,33 ± 0,516	0,893
MENCA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_1	0,67 ± 0,516	1,0 ± 0,837	0,441
MENCA_2	0,5 ± 0,548	0,75 ± 0,758	1,000
MENCA_3	0,33 ± 0,516	0,33 ± 0,606	1,000
MENCA_4	0,25 ± 0,418	0,33 ± 0,408	1,000
MENCA_5	0,33 ± 0,408	0,17 ± 0,408	0,893
MENCA_6	0,33 ± 0,408	0,17 ± 0,258	1,000
MENCA_7	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,258	1,000
MENSE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_1	0,42 ± 0,492	0,5 ± 0,5477	1,000
MENSE_2	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_3	0,17 ± 0,408	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_4	0,17 ± 0,408	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_5	0,00 ± 0,000	0,17 ± 0,408	1,000
MENSE_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000

Tabla 37. Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor vía de administración IO.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros clínicos cojera y de la articulación del menudillo observados entre los grupos VCM y CTL en el estudio intraóseo (valores de $p > 0,05$).

La siguiente tabla (Tabla 38) muestra los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov fijando el **factor administración de vancomicina**, y comparando, por tanto, las observaciones clínicas de los diferentes parámetros entre los grupos IV-VCM e IO-VCM.

Parámetro clínico	IV-VCM	IO-VCM	Valor p
COJERA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_0-post	0,33 ± 0,408	0,25 ± 0,418	1,000
COJERA_1	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,258	1,000
COJERA_2	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,258	1,000
COJERA_3	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_4	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_5	0,33 ± 0,816	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_6	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_7	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_0-post	0,17 ± 0,258	0,08 ± 0,204	1,000
MENEF_1	1,58 ± 0,801	1,25 ± 0,758	1,000
MENEF_2	1,17 ± 0,683	0,75 ± 0,612	0,893
MENEF_3	1,00 ± 0,837	0,58 ± 0,585	0,893
MENEF_4	0,75 ± 0,935	0,33 ± 0,516	0,893
MENEF_5	0,67 ± 0,983	0,25 ± 0,418	1,000
MENEF_6	0,42 ± 0,801	0,17 ± 0,258	1,000
MENEF_7	0,33 ± 0,816	0,17 ± 0,258	1,000
MENCA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_0-post	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
MENCA_1	1,08 ± 0,801	0,67 ± 0,516	1,000
MENCA_2	0,92 ± 1,114	0,50 ± 0,548	1,000
MENCA_3	0,75 ± 1,173	0,33 ± 0,516	1,000
MENCA_4	0,50 ± 1,000	0,25 ± 0,418	1,000
MENCA_5	0,42 ± 0,801	0,33 ± 0,408	1,000
MENCA_6	0,25 ± 0,612	0,33 ± 0,408	0,893
MENCA_7	0,17 ± 0,408	0,25 ± 0,418	1,000
MENSE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_0-post	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
MENSE_1	0,42 ± 0,801	0,42 ± 0,492	1,000
MENSE_2	0,25 ± 0,612	0,50 ± 0,548	0,893
MENSE_3	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	1,000
MENSE_4	0,33 ± 0,816	0,17 ± 0,408	1,000
MENSE_5	0,33 ± 0,816	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_6	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_7	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000

Tabla 38. Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor grupo VCM.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros clínicos observados entre los grupos a los que se les administró vancomicina en ambos estudios experimentales IV e IO (valores de $p > 0,05$).

La siguiente tabla (Tabla 39) muestra los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov fijando el factor administración de solución control sin vancomicina, y comparando, por tanto, las observaciones clínicas de los diferentes parámetros entre los grupos IV-CTL e IO-CTL.

Parámetro clínico	IV-CTL	IO-CTL	Valor p
COJERA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_0-post	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
COJERA_1	0,42 ± 0,492	0,25 ± 0,418	1,000
COJERA_2	0,50 ± 0,447	0,08 ± 0,204	0,441
COJERA_3	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
COJERA_4	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_5	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_6	0,17 ± 0,408	0,00 ± 0,000	1,000
COJERA_7	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	1,000
MENEF_0	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
MENEF_0-post	0,17 ± 0,258	0,00 ± 0,000	0,893
MENEF_1	1,50 ± 1,095	1,00 ± 0,837	0,893
MENEF_2	1,33 ± 0,876	0,83 ± 0,753	0,893
MENEF_3	0,92 ± 0,665	0,42 ± 0,492	0,893
MENEF_4	0,92 ± 0,665	0,33 ± 0,516	0,441
MENEF_5	0,67 ± 0,683	0,33 ± 0,516	0,893
MENEF_6	0,58 ± 0,585	0,33 ± 0,516	0,893
MENEF_7	0,42 ± 0,376	0,33 ± 0,516	0,893
MENCA_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_0-post	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	1,000
MENCA_1	1,17 ± 1,125	1,00 ± 0,837	1,000
MENCA_2	1,08 ± 1,201	0,75 ± 0,758	1,000
MENCA_3	0,75 ± 0,689	0,33 ± 0,606	0,441
MENCA_4	0,42 ± 0,492	0,33 ± 0,408	1,000
MENCA_5	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,408	1,000
MENCA_6	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,258	1,000
MENCA_7	0,25 ± 0,418	0,17 ± 0,258	1,000
MENSE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_0-post	0,083 ± 0,204	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_1	0,50 ± 1,225	0,50 ± 0,547	0,893
MENSE_2	0,33 ± 0,816	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_3	0,25 ± 0,612	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_4	0,25 ± 0,612	0,33 ± 0,516	1,000
MENSE_5	0,25 ± 0,612	0,17 ± 0,408	1,000
MENSE_6	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000
MENSE_7	0,25 ± 0,612	0,00 ± 0,000	1,000

Tabla 39. Test Kolmogorov-Smirnov fijando el factor grupo CTL.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros clínicos observados entre los grupos a los que se les administró la solución control sin vancomicina en ambos estudios experimentales IV e IO (valores de $p > 0,05$).

Los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov para los parámetros de inflamación, descarga y sensibilidad a la palpación del punto de infusión en el estudio experimental IO se muestran en la siguiente tabla (Tabla 40). Se compararon los grupos IO-VCM e IO-CTL.

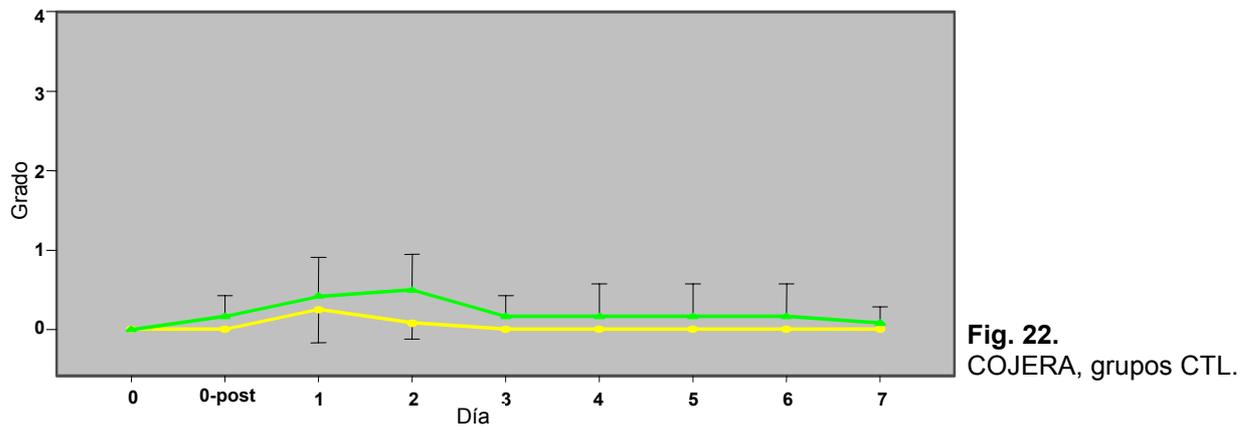
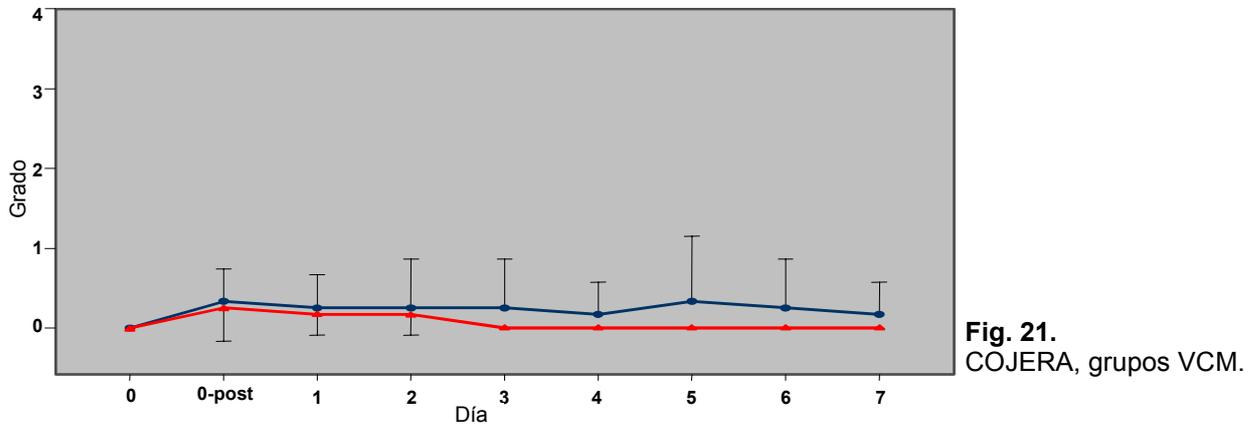
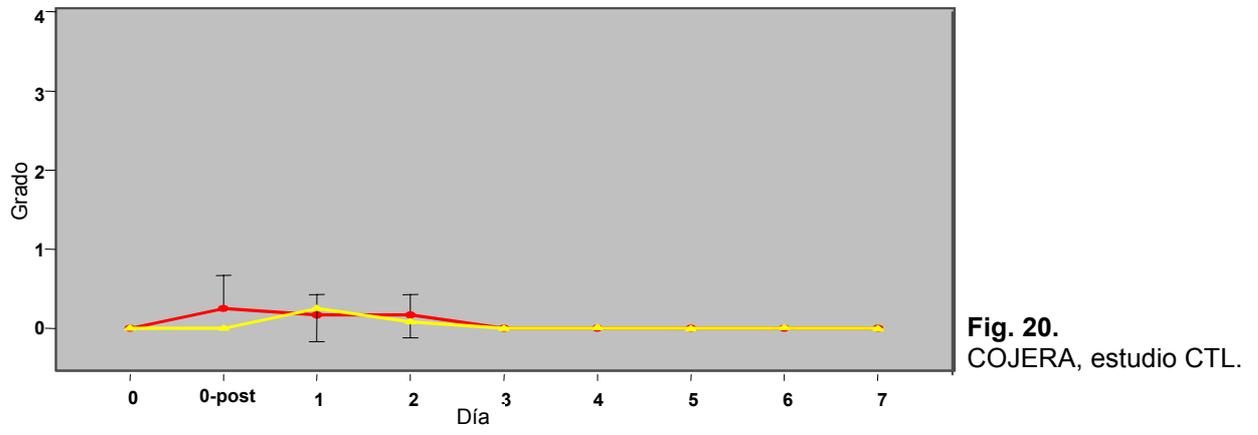
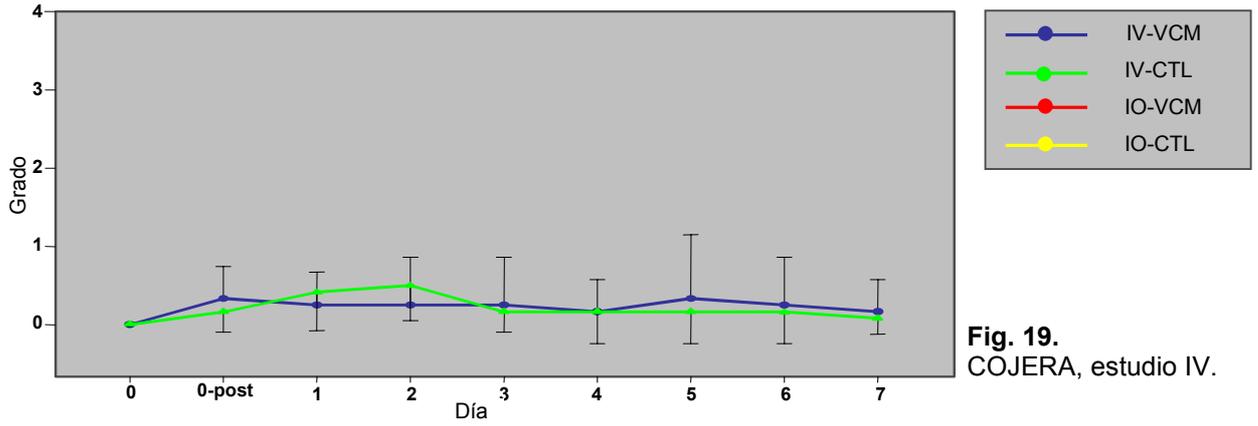
Parámetro clínico	IO-VCM	IO-CTL	Valor p
PIF_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIF_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIF_1	0,83 ± 0,816	0,83 ± 0,816	1,000
PIF_2	0,50 ± 0,548	0,50 ± 0,447	1,000
PIF_3	0,50 ± 0,548	0,50 ± 0,548	1,000
PIF_4	0,58 ± 0,665	0,42 ± 0,492	1,000
PIF_5	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516	1,000
PIF_6	0,50 ± 0,548	0,33 ± 0,516	1,000
PIF_7	0,42 ± 0,492	0,33 ± 0,516	1,000
PIDE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_0-post	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_1	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_2	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_3	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_4	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_5	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PIDE_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PISE_0	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PISE_0-post	0,33 ± 0,516	0,25 ± 0,418	1,000
PISE_1	0,33 ± 0,516	0,50 ± 0,548	1,000
PISE_2	0,33 ± 0,516	0,17 ± 0,408	1,000
PISE_3	0,17 ± 0,258	0,17 ± 0,408	1,000
PISE_4	0,08 ± 0,204	0,00 ± 0,000	1,000
PISE_5	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PISE_6	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000
PISE_7	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	1,000

Tabla 40. Test Kolmogorov-Smirnov para los parámetros del punto de infusión. Estudio IO.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros clínicos observados en el punto de infusión en la fase IO, tomando como factor la administración o no de vancomicina (valores $p > 0,05$).

1.1.4 Representaciones gráficas de los parámetros clínicos

Las figuras 19 a 37 muestran la representación gráfica de la evolución en el tiempo de los valores medios de cada uno de los parámetros clínicos observados en ambas fases experimentales, agrupados 2 a 2. Las barras verticales indican la amplitud de la desviación típica para cada parámetro en cada tiempo de observación.



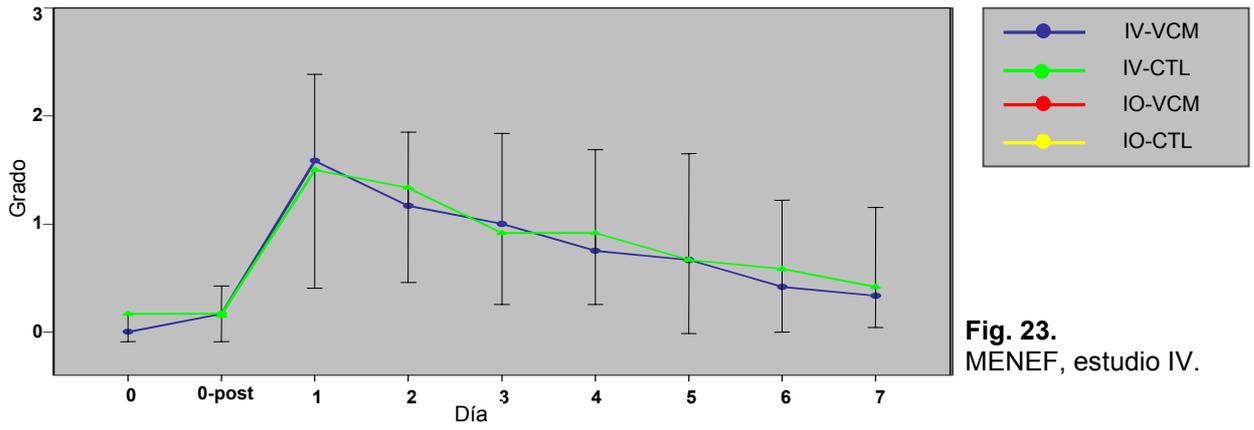


Fig. 23.
MENEf, estudio IV.

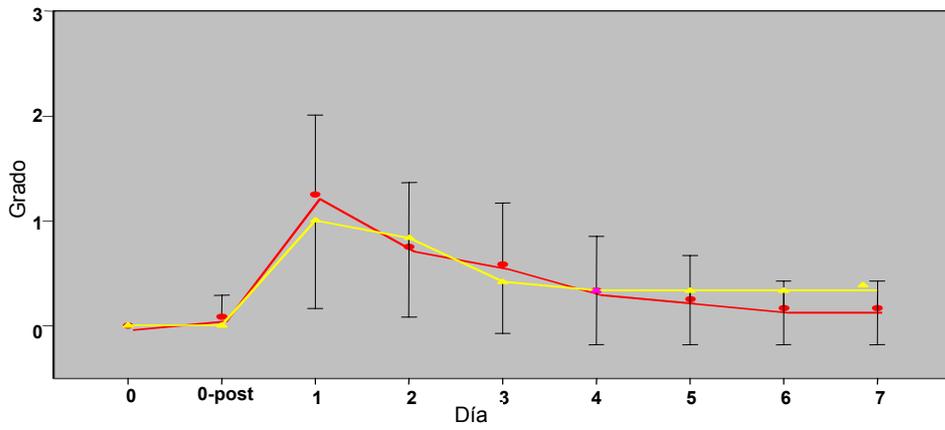


Fig. 24.
MENEf, estudio IO.

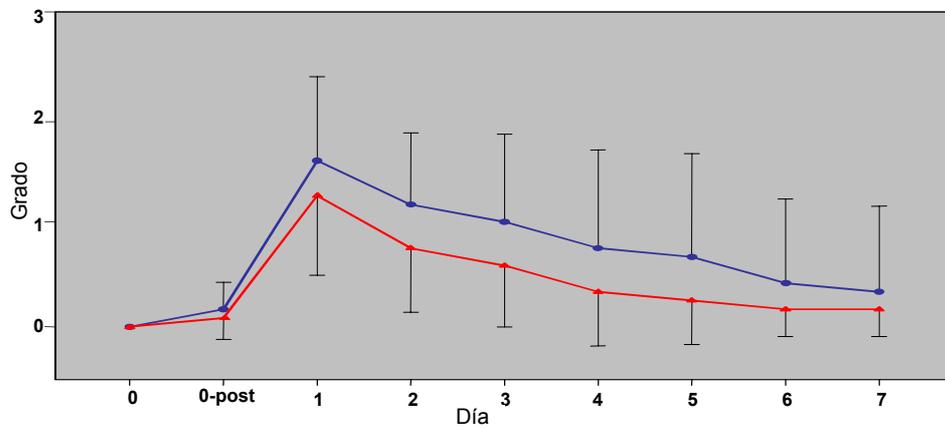


Fig. 25.
MENEf, grupos VCM.

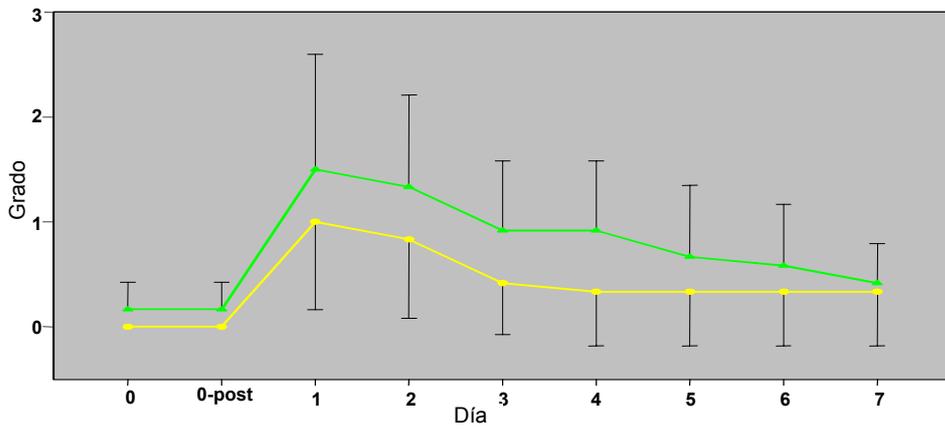


Fig. 26.
MENEf, grupos CTL.

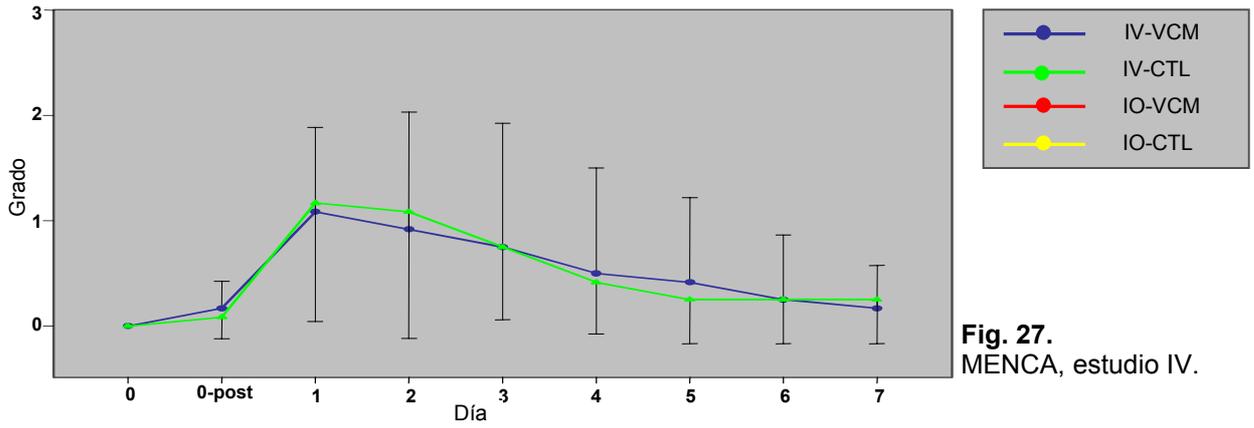


Fig. 27.
MENCA, estudio IV.

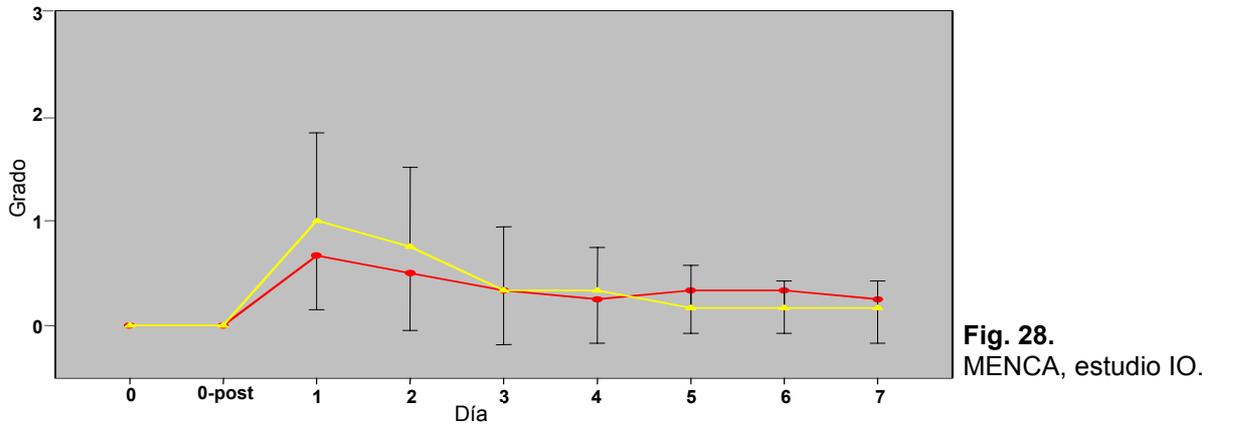


Fig. 28.
MENCA, estudio IO.

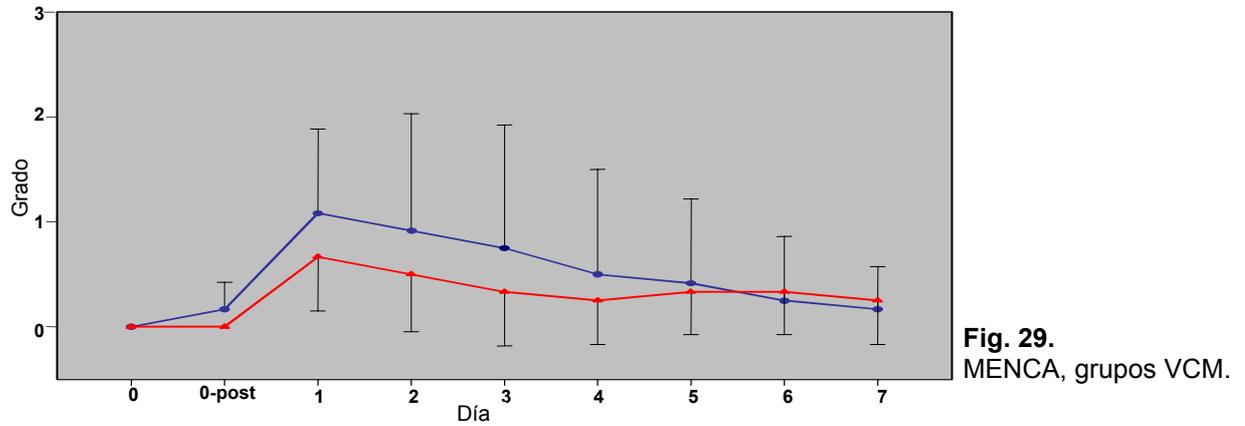


Fig. 29.
MENCA, grupos VCM.

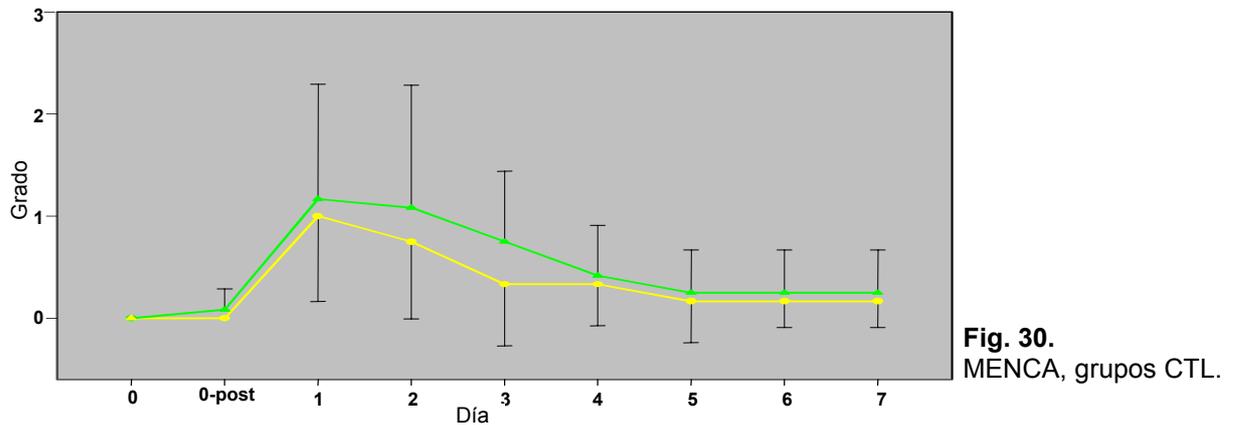


Fig. 30.
MENCA, grupos CTL.

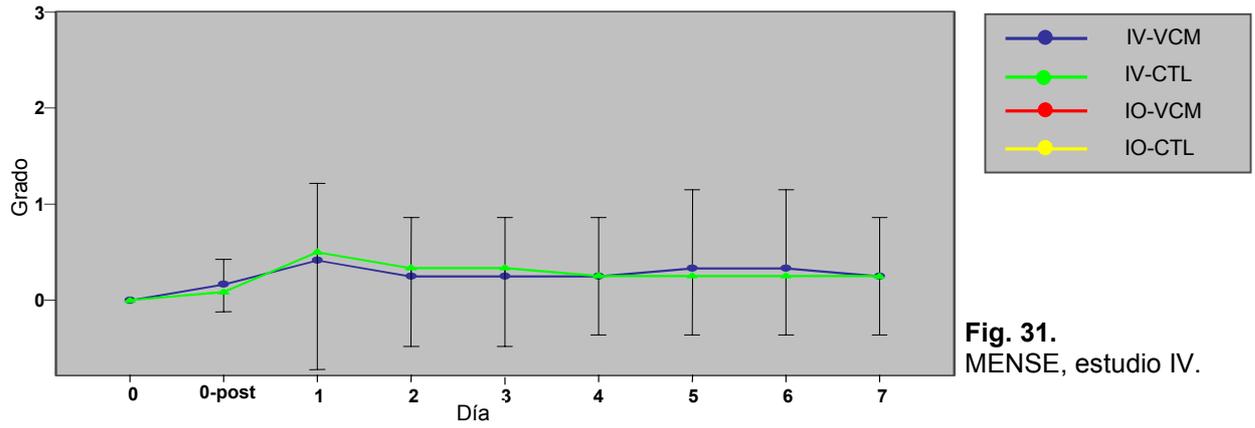


Fig. 31.
MENSE, estudio IV.

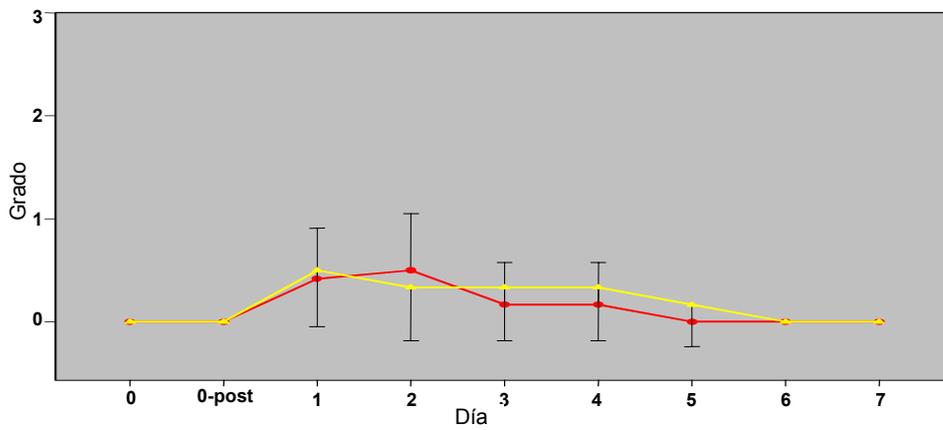


Fig. 32.
MENSE, estudio IO.

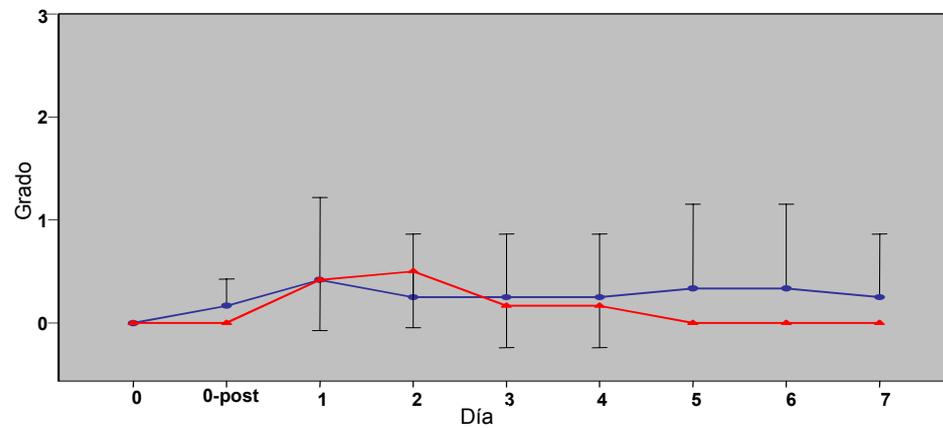


Fig. 33.
MENSE, grupos VCM.

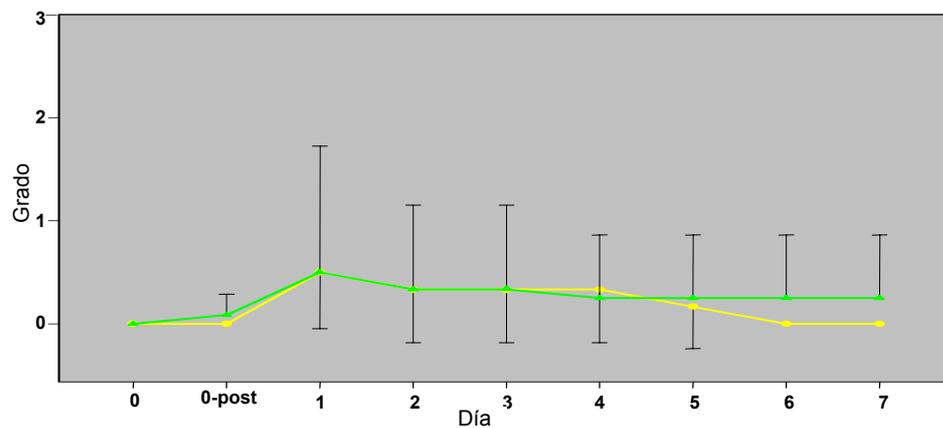


Fig. 34.
MENSE, grupos CTL.

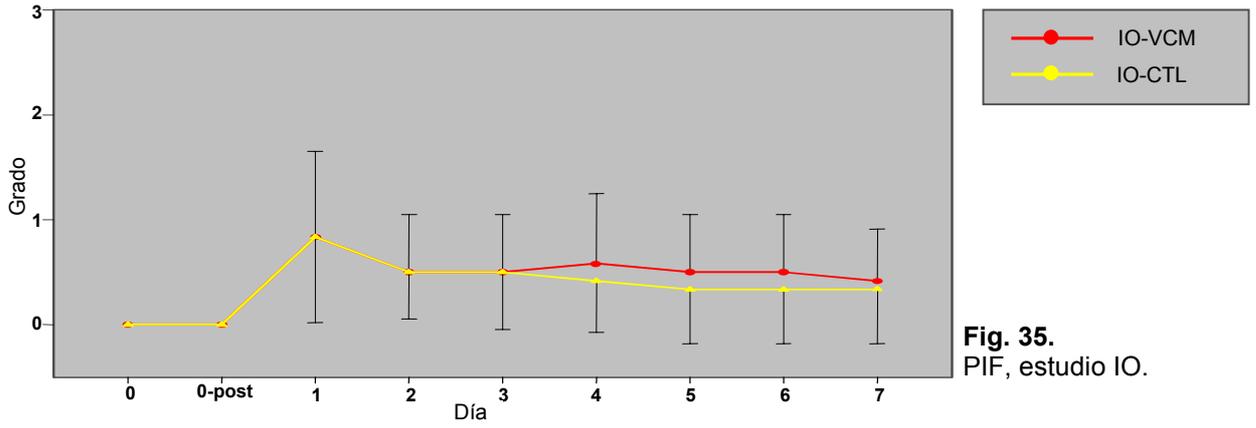


Fig. 35.
PIF, estudio IO.

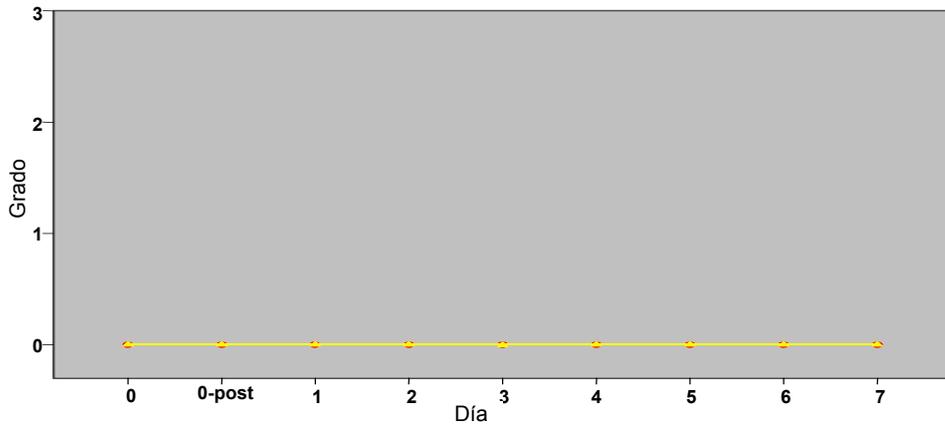


Fig. 36.
PIDE, estudio IO.

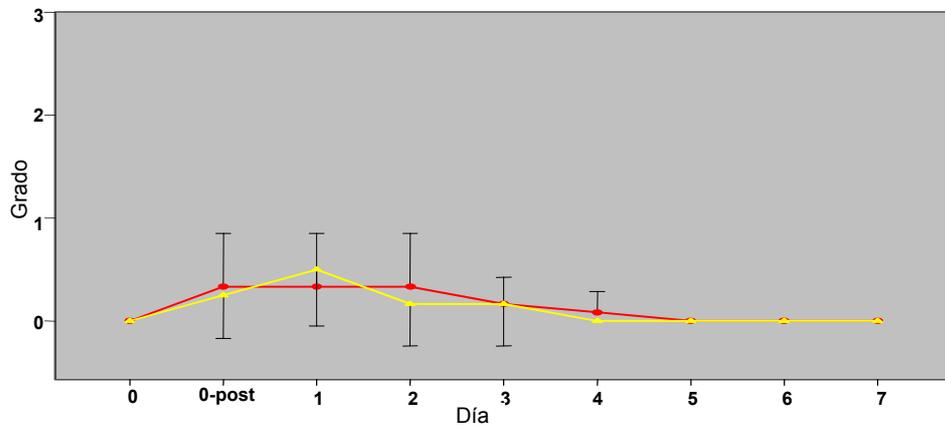


Fig. 37.
PISE, estudio IO.

1.2 Resultados clínicos a nivel sistémico

1.2.1 Efectos adversos derivados del torniquete

Ninguno de los 12 caballos del estudio desarrolló hipertensión sistémica durante los 45 min de duración del período de aplicación del torniquete.

1.2.2 Efectos adversos derivados de la vancomicina

Los niveles plasmáticos de urea y de creatinina de los 6 caballos durante los 7 días siguientes se muestran en las tablas 18 a 21 (DT: Desviación típica).

ESTUDIO INTRAVENOSO

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	48	43	40	37	21	24	35,5 ± 10,75
1	47	45	37	38	23	20	35 ± 11,19
2	49	46	41	38	24	20	36,33 ± 11,81
3	51	46	42	38	27	21	37,5 ± 11,47
5	50	45	41	36	25	22	36,5 ± 11,11
7	51	44	40	37	26	20	36,33 ± 11,5

Tabla 41. Urea plasmática (mg/ml), grupo IV-VCM (patológico desde 59 mg/ml).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	46	42	40	36	23	20	34,5 ± 10,62
1	47	40	40	40	25	23	35,83 ± 9,58
2	46	40	39	40	25	22	35,33 ± 9,54
3	47	41	41	42	25	24	36,67 ± 9,69
5	47	40	39	39	24	23	35,33 ± 9,65
7	47	42	37	36	24	21	34,5 ± 10,13

Tabla 42. Urea plasmática (mg/ml), grupo IV-CTL (patológico desde 59 mg/ml).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	1,8	1,9	1,8	1,7	1,4	1,5	1,68 ± 0,19
1	2	2	1,9	1,7	1,3	1,5	1,73 ± 0,29
2	1,8	1,9	1,8	1,76	1,3	1,4	1,66 ± 0,25
3	1,7	1,9	1,9	1,77	1,5	1,4	1,69 ± 0,21
5	1,6	1,76	1,7	1,7	1,4	1,3	1,58 ± 0,18
7	1,6	1,8	1,4	1,68	1,4	1,4	1,55 ± 0,17

Tabla 43. Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IV-VCM (fisiológico hasta 2,0 mg/dl).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	1,7	1,9	1,6	1,7	1,5	1,3	1,62 ± 0,20
1	1,9	1,9	1,7	2	1,4	1,3	1,7 ± 0,29
2	1,9	1,9	1,8	1,8	1,6	1,3	1,72 ± 0,23
3	1,8	1,8	1,6	1,9	1,4	1,27	1,63 ± 0,25
5	1,79	1,9	1,6	1,8	1,5	1,31	1,65 ± 0,22
7	1,8	1,9	1,7	1,8	1,5	1,3	1,67 ± 0,22

Tabla 44. Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IV-CTL (fisiológico hasta 2,0 mg/dl).

ESTUDIO INTRAÓSEO

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	43	38	23	42	37	45	38 ± 7,95
1	44	38	22	41	39	46	38,33 ± 8,55
2	44	38	23	42	37	44	38 ± 7,92
3	43	38	25	44	37	45	38,67 ± 7,45
5	44	37	26	42	38	44	38,5 ± 6,80
7	41	39	24	40	36	45	37,5 ± 7,23

Tabla 45. Urea plasmática (mg/ml), grupo IO-VCM (patológico desde 59 mg/ml).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	42	38	26	43	38	44	38,5 ± 6,62
1	44	39	24	42	41	45	39,17 ± 7,73
2	44	40	23	42	41	45	39,17 ± 8,13
3	42	40	25	43	40	45	39,17 ± 7,19
5	43	42	27	43	38	44	39,5 ± 6,47
7	42	39	26	42	38	46	38,83 ± 6,88

Tabla 46. Urea plasmática (mg/ml), grupo IO-CTL (patológico desde 59 mg/ml).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	1,4	1,76	1,2	1,7	1,6	1,7	1,56 ± 0,22
1	1,6	1,68	1,2	1,7	1,76	1,7	1,61 ± 0,20
2	1,62	1,68	1,26	1,76	1,76	1,7	1,63 ± 0,19
3	1,6	1,72	1,3	1,7	1,67	1,7	1,61 ± 0,16
5	1,56	1,76	1,27	1,8	1,6	1,67	1,61 ± 0,19
7	1,5	1,7	1,32	1,7	1,62	1,7	1,59 ± 0,15

Tabla 47. Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IO-VCM (fisiológico hasta 2,0 mg/dl).

Día	Caballo						Media ± DT
	1	2	3	4	5	6	
0	1,5	1,72	1,3	1,7	1,7	1,7	1,60 ± 0,17
1	1,5	1,8	1,27	1,67	1,9	1,72	1,64 ± 0,23
2	1,6	1,77	1,29	1,71	1,9	1,67	1,66 ± 0,21
3	1,6	1,8	1,3	1,67	1,86	1,69	1,65 ± 0,20
5	1,6	1,81	1,29	1,7	1,76	1,67	1,64 ± 0,18
7	1,6	1,76	1,32	1,7	1,76	1,7	1,64 ± 0,17

Tabla 48. Creatinina plasmática (mg/dl), grupo IO-CTL (fisiológico hasta 2,0 mg/dl).

Todos los animales mostraron niveles de urea y creatinina en sangre sistémica fuera del rango patológico para la especie equina (urea > 59 mg/ml; creatinina > 2,0 mg/dl).

Los exámenes clínicos neurológicos realizados diariamente a los caballos, mostraron ausencia de signos clínicos evidentes de alteración neurológica durante los 7 días posteriores a la perfusión regional, en todos los caballos incluidos en ambas fases IV e IO de este trabajo.

1.3 Observaciones radiológicas

En los exámenes radiológicos realizados no se observaron signos indicativos de alteraciones en el patrón trabecular del hueso MTCIII, ni de otros cambios óseos en la zona de inserción del tornillo canulado en el mismo hueso. En ninguno de los caballos incluidos en el estudio se observaron signos de irregularidad de la superficie ósea a este nivel, ni formación de nuevo hueso, ni zonas de lisis ósea.

2. Resultados farmacológicos

En el primer apartado (2.1), se muestran las concentraciones de vancomicina determinadas en cada uno de los caballos para cada tipo de muestra (líquidos sinoviales de las articulaciones metacarpofalángica –MTCF- e interfalángica distal -IFD-, médula ósea -MO- y sangre sistémica -SS-) y para cada tiempo de muestro (00, 15, 30, 45, 65 y 90 min, 4, 8, 12 y 24h) (Tablas 49 y 50).

En segundo lugar (Apartado 2.2), aparecen los valores de la estadística descriptiva (valores medios de concentración de vancomicina \pm la desviación típica, los valores mínimos y máximos, y los valores del intervalo de confianza al 95%), para cada tipo de muestra y tiempo de muestreo (Tabla 51).

En los apartados 2.3 y 2.4 se muestran los análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas y los test de la *t* de Student realizados. En primer lugar (Apartado 2.3), se comparan los niveles alcanzados en cada localización y tipo de muestra (MTCF, IFD, MO y SS) entre los 2 estudios experimentales (perfusión regional IV frente a perfusión regional IO).

En el apartado 2.4, se realiza la comparación de los niveles de vancomicina alcanzados en el líquido sinovial de ambas articulaciones (MTCF e IFD) incluidas en la porción de la extremidad sometida a perfusión, para cada uno de los estudios experimentales (IV e IO).

Finalmente, en el apartado 2.5 se calculan los parámetros farmacocinéticos a partir de los niveles de vancomicina obtenidos en cada una de las localizaciones y se realiza una comparación de los mismos entre los estudios IV e IO, mediante análisis de Kolmogorov-Smirnov.

2.1 Niveles de vancomicina individuales

En las siguientes tablas 49 y 50 se muestran los niveles de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos para cada caballo en cada localización y en cada tiempo de muestreo.

ESTUDIO IV						
Muestra	Caballo 1	Caballo 2	Caballo 3	Caballo 4	Caballo 5	Caballo 6
MTCF-00	0	0	0	0	0	0
MTCF-15	3,59	4,95	27,64	3,57	3,90	1,62
MTCF-30	13,82	17,64	50,21	8,94	16,66	40,24
MTCF-45	53,57	145,24	102,19	56,99	77,15	45,935
MTCF-65	36,61	136,17	84,16	49,86	48,94	23,01
MTCF-90	32,59	107,96	62,54	41,48	28,59	15,84
MTCF-4h	13,17	28,66	16,58	25,76	9,72	8,74
MTCF-8h	8,49	15,20	9,73	16,34	4,61	4,22
MTCF-12h	2,95	9,59	5,87	10,48	3,82	3,90
MTCF-24h	1,62	0,65	2,01	5,77	2,68	2,44
MO-00	0	0	0	0	0	0
MO-15	1831,82	1370,71	2079	1819	329,69	734,82
MO-30	3216,017	2422,85	2024,13	1756	1324,56	1732,25
MO-45	1745,07	2071,57	977,55	1761,31	1009,17	1306,615
MO-65	190,37	156,18	245,076	662,17	104,90	356,18
MO-90	25,33	15,96	253,62	133,96	88,6	82,68
IFD-00	0	0	0	0	0	0
IFD-15	68,41	15,68	8,50	25,68	89,41	27,64
IFD-30	96,585	37,24	18,50	86,02	125,56	69,75
IFD-45	117,72	68,95	23,28	111,25	157,56	113,65
IFD-65	125,24	66,98	26,27	92,52	143,23	89,3
IFD-90	111,21	35,69	20,88	82,76	119,3	73,43
SS-00	0	0	0	0	0	0
SS-15	0	0	0	0	0	0
SS-30	0	0	0	0	0	0
SS-45	0	0	0	0	0	0
SS-65	1,61	1,53	1,47	0,37	3,74	2,74
SS-90	1,27	0,74	0,70	0,04	0,90	1,56
SS-4h	0,29	0	0,68	0	0,44	0,83
SS-8h	0,15	0	0	0	0,20	0,27
SS-12h	0	0	0	0	0,11	0
SS-24h	0	0	0	0	0	0

Tabla 49. Concentraciones de vancomicina individuales ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IV (MTCF: articulación metacarpofalángica; IFD: articulación interfalángica distal; MO: medula ósea de 1ª falange; SS: sangre sistémica; los números 00, 15, 30, 45, 65 y 90 indican los minutos a los que se realiza el muestreo correspondiendo el tiempo 0 min con el inicio de la infusión (00 indica la muestra tomada justo antes al inicio de la infusión); 4h, 8h, 12h y 24h corresponden a las horas (h) transcurridas desde el inicio de la infusión, a las que se recogen las correspondientes muestras).

ESTUDIO IO						
Muestra	Caballo 1	Caballo 2	Caballo 3	Caballo 4	Caballo 5	Caballo 6
MTCF-00	0	0	0	0	0	0
MTCF-15	9,42	4,94	19,34	36,35	16,72	17,63
MTCF-30	29,6	44,63	74,89	91,33	29,10	32,57
MTCF-45	44,14	105,52	143,96	111,58	39,32	82,23
MTCF-65	43,74	57,56	145,58	75,87	47,23	73,5
MTCF-90	28,05	32,35	82,42	78,46	36,91	69,13
MTCF-4h	12,19	9,67	37,97	51,72	17,48	32,9
MTCF-8h	8,78	8,13	21,21	40,88	9,98	20,3
MTCF-12h	7,86	7,40	14,65	14,25	6,42	8,9
MTCF-24h	4,85	3,41	6,07	6,15	3,90	4,31
MO-00	0	0	0	0	0	0
MO-15	762,17	1212,60	997,21	1810,89	1159,43	1632,26
MO-30	1816,87	1755,89	1676,70	1069,86	1646,79	2480,12
MO-45	1343,37	1394,65	1494,65	926,27	1658,75	1037,39
MO-65	117,73	238	223,71	106,61	508,34	280,98
MO-90	24,99	46,37	88,67	18,07	190,0	119,44
IFD-00	0	0	0	0	0	0
IFD-15	11,43	44,39	49,35	47,77	9,75	36,5
IFD-30	33,75	61,97	82,43	52,39	37,81	69,7
IFD-45	35,68	75,44	126,87	72,71	40,57	84,7
IFD-65	32,29	70,48	28,13	76,43	27,56	20,4
IFD-90	18,92	60,81	22,68	50,04	17,97	17,5
SS-00	0	0	0	0	0	0
SS-15	0	0	0	0	0	0
SS-30	0	0	0	0	0	0
SS-45	0	0	0	0	0	0
SS-65	2,70	1,64	2,15	2,32	1,15	0,97
SS-90	2,18	0,79	0,95	1,47	0,69	0,87
SS-4h	0,77	1,00	0	0,85	0	0,23
SS-8h	0,64	0,37	0	0	0	0
SS-12h	0	0	0	0	0	0
SS-24h	0	0	0	0	0	0

Tabla 50. Concentraciones de vancomicina individuales ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IO (MTCF: articulación metacarpofalángica; IFD: articulación interfalángica distal; MO: medula ósea de 1ª falange; SS: sangre sistémica; los números 00, 15, 30, 45, 65 y 90 indican los minutos a los que se realiza el muestreo correspondiendo el tiempo 0 min con el inicio de la infusión (00 indica la muestra tomada justo antes al inicio de la infusión); 4h, 8h, 12h y 24h corresponden a las horas (h) transcurridas desde el inicio de la infusión, a las que se recogen las correspondientes muestras).

2.2 Niveles de vancomicina agrupados. Estadística descriptiva

Dentro de cada estudio experimental (IV o IO), se calculó el valor medio de concentración de vancomicina, la desviación típica (DT), el intervalo de confianza al 95% y los valores máximo y mínimo para cada punto de muestreo (Tablas 51 y 52). La concentración de vancomicina se mide en $\mu\text{g/ml}$.

ESTUDIO IV					
Muestra	Media \pm DT	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior		
MTCF-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MTCF-15	7,545 \pm 9,903	-1,876	16,966	1,620	27,640
MTCF-30	24,585 \pm 16,574	4,478	44,692	8,940	50,210
MTCF-45	80,179 \pm 37,802	44,406	115,952	45,935	145,240
MTCF-65	63,125 \pm 41,152	27,316	98,934	23,010	136,170
MTCF-90	48,167 \pm 33,159	21,546	74,788	15,840	107,960
MTCF-4h	17,105 \pm 8,351	5,157	29,053	8,740	28,660
MTCF-8h	9,765 \pm 5,133	1,053	18,477	4,220	16,340
MTCF-12h	6,102 \pm 3,206	2,998	9,205	2,950	10,480
MTCF-24h	2,528 \pm 1,741	1,192	3,865	0,650	5,770
MO-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MO-15	1360,840 \pm 693,218	84,366	1873,314	329,690	2079,000
MO-30	2079,301 \pm 664,499	1562,848	2595,755	1324,560	3216,017
MO-45	1478,548 \pm 448,004	1139,521	1817,574	977,550	2071,570
MO-65	285,813 \pm 203,420	124,782	446,843	104,900	662,170
MO-90	100,025 \pm 86,972	29,839	170,211	15,960	253,620
IFD-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IFD-15	39,220 \pm 32,207	15,466	62,974	8,500	89,410
IFD-30	72,276 \pm 39,357	44,232	100,320	18,500	125,560
IFD-45	98,735 \pm 46,434	62,045	135,425	23,280	157,560
IFD-65	90,590 \pm 41,645	59,572	121,608	26,270	143,230
IFD-90	73,878 \pm 39,505	45,664	102,093	20,880	119,300
SS-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-15	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-30	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-45	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-65	1,910 \pm 1,169	1,039	2,781	0,370	3,740
SS-90	0,868 \pm 0,524	0,371	1,366	0,040	1,560
SS-4h	0,373 \pm 0,344	0,009	0,738	0,000	0,830
SS-8h	0,103 \pm 0,119	-0,089	0,296	0,000	0,270
SS-12h	0,018 \pm 0,045	-0,011	0,047	0,000	0,110
SS-24h	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 51. Estadística descriptiva de las concentraciones de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IV (DT: Desviación típica).

ESTUDIO IO					
Muestra	Media \pm DT	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior		
MTCF-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MTCF-15	17,400 \pm 10,792	7,979	26,821	4,940	36,350
MTCF-30	50,353 \pm 26,505	30,247	70,460	29,100	91,330
MTCF-45	87,792 \pm 40,795	52,019	123,565	39,320	143,960
MTCF-65	73,913 \pm 37,497	38,104	109,723	43,740	145,580
MTCF-90	54,553 \pm 24,768	27,932	81,174	28,050	82,420
MTCF-4h	26,988 \pm 16,592	15,041	38,936	9,670	51,720
MTCF-8h	18,213 \pm 12,534	9,501	26,925	8,130	40,880
MTCF-12h	9,913 \pm 3,606	6,810	13,017	6,420	14,650
MTCF-24h	4,782 \pm 1,133	3,445	6,118	3,410	6,150
MO-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MO-15	1262,427 \pm 392,753	749,952	1774,901	762,170	1810,890
MO-30	1741,038 \pm 450,714	1224,585	2257,492	1069,860	2480,120
MO-45	1309,180 \pm 277,691	970,154	1648,206	926,270	1658,750
MO-65	245,895 \pm 145,938	84,864	406,926	106,610	508,340
MO-90	81,257 \pm 65,899	11,071	151,443	18,070	190,000
IFD-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IFD-15	33,198 \pm 18,072	9,444	56,953	9,750	49,350
IFD-30	56,342 \pm 18,762	28,298	84,386	33,750	82,430
IFD-45	72,662 \pm 33,132	35,971	109,352	35,680	126,870
IFD-65	42,548 \pm 24,317	11,530	73,567	20,400	76,430
IFD-90	31,320 \pm 19,067	3,106	59,534	17,500	60,810
SS-00	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-15	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-30	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-45	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SS-65	1,822 \pm 0,684	0,950	2,693	0,970	2,700
SS-90	1,158 \pm 0,570	0,661	1,656	0,690	2,180
SS-4h	0,475 \pm 0,450	0,110	0,840	0,000	1,000
SS-8h	0,168 \pm 0,274	-0,024	0,361	0,000	0,640
SS-12h	0,000 \pm 0,000	-0,029	0,029	0,000	0,000
SS-24h	0,000 \pm 0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 52. Estadística descriptiva de las concentraciones de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IO (DT: Desviación típica).

2.3 Comparación de los estudios experimentales intravenoso e intraóseo

En todos los puntos de muestreo excepto en SS-12h, los datos de concentración de vancomicina siguieron una distribución normal cumpliendo, por lo tanto, los requisitos para la realización de análisis de varianza (ANOVA). El punto SS-12h no seguía una distribución normal ya que únicamente en 1 de los 12 caballos incluidos en el trabajo, se detectaron niveles de vancomicina en plasma sanguíneo a las 12 h (caballo nº 5 del estudio IV). Por

tanto, el punto de muestreo SS-12h fue excluido del análisis estadístico. Además, se trata de una concentración de vancomicina (0,11 µg/ml), que no es relevante desde el punto de vista clínico ni farmacológico.

Una vez agrupados los resultados según el tipo de muestra (MTCF, IFD, MO y SS) y tiempo de muestreo (15, 30, 45, 65 y 90 min, y 4, 8, 12 y 24 h), se realizaron 2 análisis estadísticos:

- En primer lugar se aplicó un análisis de varianza (ANOVA o Modelo Lineal General) de medidas repetidas con un factor intra-sujeto (tiempo), y con un factor inter-sujeto (vía de administración: IV o IO), para cada una de las localizaciones de las que se recogieron las muestras (MTCF, IFD, MO y SS). En este análisis se estudió si el tiempo, la vía de administración o su interacción ejercen un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina. En todos los casos se aplicó el factor de Greenhouse-Geisser para corregir los grados de libertad en las pruebas de significación promediadas.
- Seguidamente, para cada localización, se realizó un análisis de la *t* de Student con el factor vía de administración (IV o IO). Este análisis determinó si existen diferencias significativas entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas por perfusión intravenosa y las alcanzadas por la vía intraósea, para cada localización y en cada tiempo de muestreo.

En cada uno de los apartados siguientes se muestran los resultados de ambos análisis estadísticos para cada localización (Apartados 2.3.1; 2.3.2; 2.3.3; 2.3.4), que siguen el siguiente orden:

1. Evaluación de los efectos intra-sujetos, ejercidos por los siguientes factores:
 - 1.1 El factor tiempo (factor intra-sujeto).
 - 1.2 La interacción del factor tiempo con el factor vía de administración.

Evalúa la significatividad de los efectos ejercidos por estos 2 factores sobre la evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina de forma global, y sobre cada uno de los intervalos intermuestreo (parte del ANOVA de medidas repetidas).

Definimos “intervalo intermuestro” como el período transcurrido entre 2 recogidas de muestra consecutivas; es decir, entre MTCF00 y MTCF15, entre MTCF15 y MTCF30, entre IFD65 e IFD90, etc.

2. Evaluación de los efectos inter-sujetos: evalúa si la vía de administración (factor inter-sujeto) ejerce un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina. Esto se analiza de 2 formas:
 - 2.1 Forma global: evaluación del efecto sobre la concentración media de vancomicina en esa localización (parte del ANOVA de medidas repetidas).

2.2 Forma puntual: evaluación de la significatividad de las diferencias que existen entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en cada punto por cada vía de administración (test de la *t* de Student).

En todos los apartados, los valores *p* indicativos de significatividad al 95% ($p < 0,05$) se señalan en negrita.

2.3.1 Articulación metacarpofalángica

- Análisis de los efectos intra-sujetos (tiempo y la interacción tiempo con vía de administración)

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	31,796	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	0,465	0,607

Tabla 53. Efectos intra-sujetos globales en MTCF (F: valor F de Snedecor)

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	00 min – 15 min	17,403	0,002
	15 min – 30 min	28,102	0,000
	30 min – 45 min	23,018	0,001
	45 min – 65 min	9,955	0,010
	65 min – 90 min	10,949	0,008
	90 min – 4 h	24,374	0,001
	4 h – 8 h	34,256	0,000
	8 h – 12 h	8,346	0,016
	12 h – 24 h	28,698	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	00 min – 15 min	2,716	0,130
	15 min – 30 min	2,847	0,122
	30 min – 45 min	0,877	0,371
	45 min – 65 min	0,105	0,753
	65 min – 90 min	0,180	0,680
	90 min – 4 h	0,087	0,774
	4 h – 8 h	0,272	0,614
	8 h – 12 h	1,254	0,289
	12 h – 24 h	0,920	0,360

Tabla 54. Efectos intra-sujetos sobre los intervalos intermuestreo en MTCF.

El tiempo actúa como un factor significativo sobre la concentración de vancomicina en la articulación MTCF, independientemente de la vía de administración utilizada; es decir, la concentración de vancomicina en la articulación MTCF varía de forma significativa a lo largo del tiempo para las 2 vías de administración IV e IO. Este efecto es significativo tanto de

manera global ($p=0,000$; Tabla 53), como para cada uno de los intervalos intermuestreo, con independencia de la vía de administración IV o IO empleada, ya que para todos los tramos intermuestreo todos los valores p resultan $< 0,05$ (Tabla 54).

Sin embargo, esta evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo no es significativamente diferente de la vía IV a la IO; es decir, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo tras su administración IV no es significativamente diferente a la evolución tras la administración IO. Esto ocurre tanto de forma global ($p=0,607$; Tabla 53), como para cada uno de los intervalos intermuestreo (valores de $p \geq 0,05$; Tabla 54).

- Análisis de los efectos inter-sujetos (vía de administración)

Vía de administración	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
IV	25,910	5,705	13,198	38,622
IO	34,391	5,705	21,679	47,103

Tabla 55. Concentración media de vancomicina en MTCF; estudios IV e IO.

Factor	F	Valor p
Vía de administración	1,105	0,318

Tabla 56. Efecto inter-sujeto global, MTCF.

La concentración media de vancomicina alcanzada en MTCF tras la vía IV ($25,91 \pm 5,705$) fue menor que tras la vía IO ($34,391 \pm 5,705$); sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,318$; Tabla 58).

La siguiente figura (Fig. 38) muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica (MTCF), para ambas vías de administración.

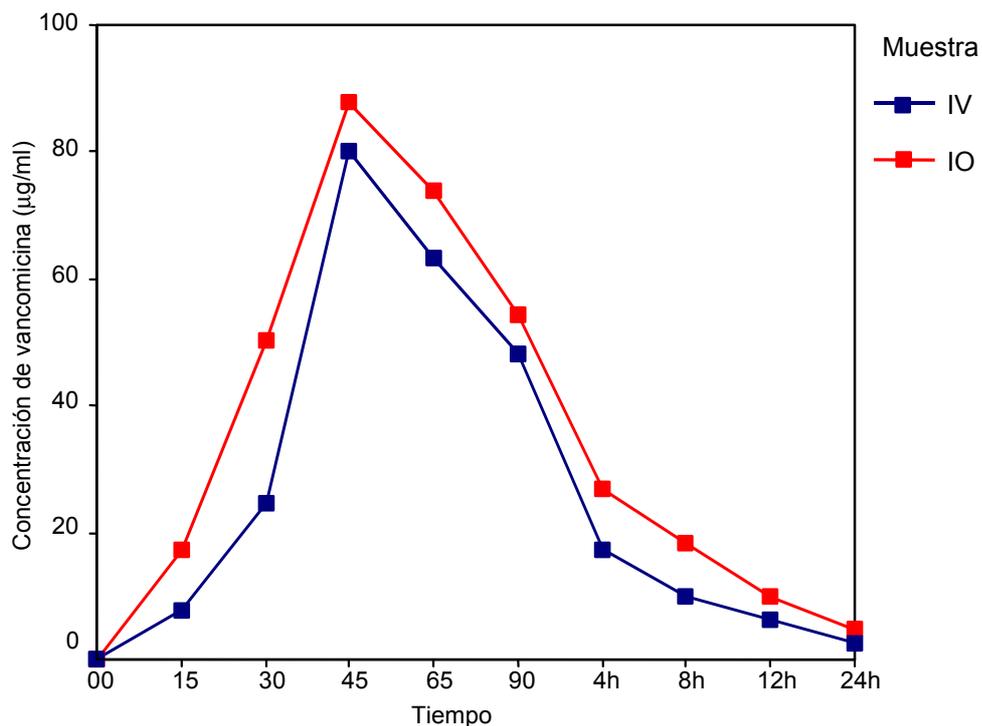


Fig. 38. Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en MTCF.

La siguiente tabla (Tabla 57) muestra el análisis estadístico realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en MTCF por cada vía de administración (IV e IO), para cada punto de muestreo.

Muestra	F	Valor p
MTCF-00	.	.
MTCF-15	2,716	0,130
MTCF-30	4,077	0,071
MTCF-45	0,112	0,744
MTCF-65	0,225	0,645
MTCF-90	0,143	0,713
MTCF-4h	1,699	0,222
MTCF-8h	2,334	0,158
MTCF-12h	3,745	0,082
MTCF-24h	7,059	0,024

Tabla 57. Test *t* de Student, MTCF.

En todos los tiempos de muestreo excepto MTCF-00, la concentración de vancomicina en MTCF por vía IO fue superior a la alcanzada por vía IV. Las concentraciones de vancomicina alcanzadas en la articulación MTCF resultaron significativamente diferentes únicamente en el tiempo de muestreo 24h ($p=0,024$; Tabla 57). En el resto de tiempos, las concentraciones no mostraron diferencias significativas al 95%. Las concentraciones de vancomicina para los tiempos 30 min y 12 h mostraron una diferencia significativa al 90% ($p=0,071$ y $p=0,082$, respectivamente; Tabla 57).

2.3.2 Articulación interfalángica distal

- Análisis de los efectos intra-sujetos (tiempo y la interacción tiempo con vía de administración)

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	32,751	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	3,474	0,041

Tabla 58. Efectos intra-sujetos globales en IFD (F:valor F de Snedecor).

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	00 min – 15 min	23,071	0,001
	15 min – 30 min	44,645	0,000
	30 min – 45 min	26,525	0,000
	45 min – 65 min	4,631	0,057
	65 min – 90 min	29,594	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	00 min – 15 min	0,160	0,698
	15 min – 30 min	1,389	0,266
	30 min – 45 min	1,490	0,250
	45 min – 65 min	1,527	0,245
	65 min – 90 min	1,140	0,311

Tabla 59. Efectos intra-sujetos sobre los intervalos intermuestreo en IFD.

El tiempo actúa como un factor significativo sobre la concentración de vancomicina en la articulación IFD, independientemente de la vía de administración utilizada; es decir, la concentración de vancomicina en la articulación IFD varía de forma significativa a lo largo del tiempo para las 2 vías de administración IV e IO. Este efecto es significativo tanto de manera global ($p=0,000$; Tabla 58), como para cada uno de los intervalos intermuestreo excepto para el tramo 45 min-65 min ($p=0,57$; tabla 59), con independencia de la vía de administración IV o

IO empleada, ya que para el resto de los tramos intermuestreo todos los p valores resultan $\leq 0,05$ (Tabla 59).

Además, esta evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo es significativamente diferente según la vía de administración IV o IO; es decir, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo tras su administración IV sí es significativamente diferente a la evolución tras la administración IO de forma global ($p=0,041$; Tabla 58), aunque no es diferente significativamente cuando se comparan los intervalos individualmente (valores de $p > 0,05$; Tabla 59).

- Análisis de los efectos inter-sujetos (vía de administración)

Vía de administración	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
IV	62,450	10,213	39,693	85,207
IO	39,345	10,213	16,588	62,102

Tabla 60. Concentración media de vancomicina en IFD; estudios IV e IO.

Factor	F	Valor p
Vía de administración	2,559	0,141

Tabla 61. Efecto inter-sujeto global, IFD.

La concentración media de vancomicina alcanzada en IFD tras la vía IV ($62,450 \pm 10,213$) fue mayor que tras la vía IO ($39,345 \pm 10,213$), sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,141$; Tabla 61).

La siguiente figura (Fig. 39) muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en líquido sinovial de la articulación interfalángica distal (IFD), para ambas vías de administración.

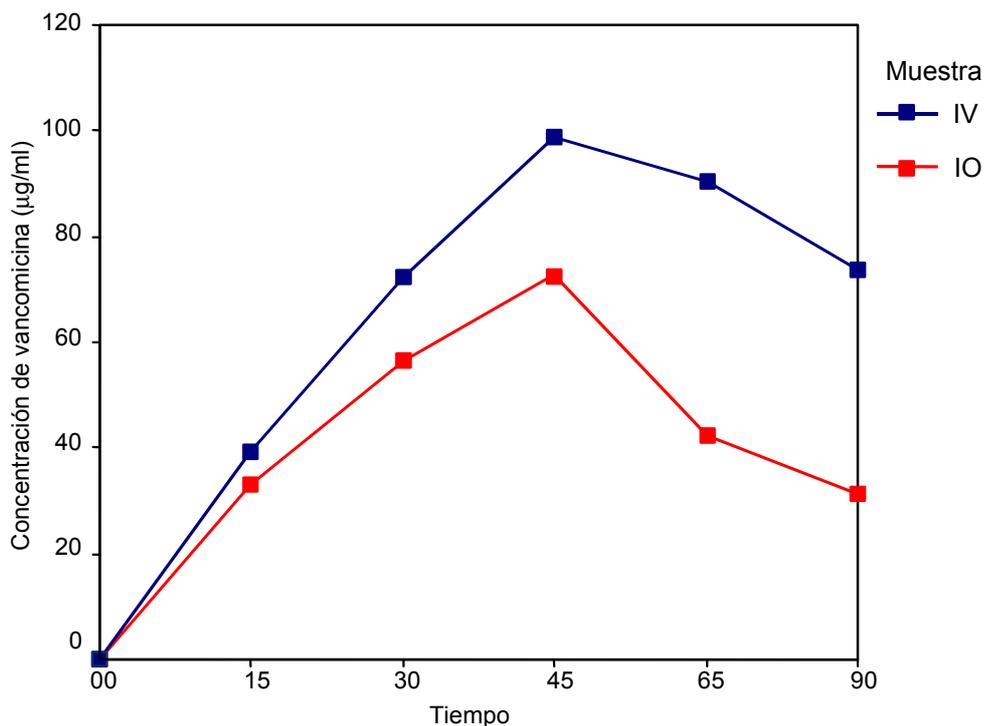


Fig. 39. Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en IFD.

La siguiente tabla (Tabla 62) muestra el análisis estadístico realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en IFD por cada vía de administración (IV e IO), para cada punto de muestreo.

Muestra	F	Valor p
IFD 00	.	.
IFD 15	0,160	0,698
IFD 30	0,801	0,392
IFD 45	1,254	0,289
IFD 65	5,955	0,035
IFD 90	5,648	0,039

Tabla 62. Test *t* de Student, IFD.

En todos los tiempos de muestreo excepto en 00, la concentración de vancomicina en IFD vía IV fue superior a la alcanzada por vía IO. Las diferencias fueron significativas únicamente en los tiempos 65 y 90 min ($p=0,035$ y $p=0,039$, respectivamente; Tabla 62). En el resto de tiempos, las concentraciones no mostraron diferencias significativas al 95%.

2.3.3 Médula ósea de primera falange

- Análisis de los efectos intra-sujetos (tiempo y la interacción tiempo con vía de administración)

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	66,121	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	0,410	0,723

Tabla 63. Efectos intra-sujetos globales en MO (F:valor F de Snedecor)

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	00 min – 15 min	65,042	0,000
	15 min – 30 min	10,973	0,008
	30 min – 45 min	11,151	0,007
	45 min – 65 min	121,656	0,000
	65 min – 90 min	16,007	0,003
Interacción Tiempo * Vía de administración	00 min – 15 min	0,092	0,768
	15 min – 30 min	0,441	0,522
	30 min – 45 min	0,298	0,597
	45 min – 65 min	0,401	0,541
	65 min – 90 min	0,058	0,814

Tabla 62. Efectos intra-sujetos sobre los intervalos intermuestreo en MO.

El tiempo actúa como un factor significativo sobre la concentración de vancomicina en MO, independientemente de la vía de administración utilizada; es decir, la concentración de vancomicina en MO varía de forma significativa a lo largo del tiempo, para las 2 vías de administración IV e IO. Este efecto es significativo tanto de manera global ($p=0,000$; Tabla 63), como para cada uno de los intervalos intermuestreo, con independencia de la vía de administración IV o IO empleada, ya que para todos los tramos intermuestreo todos los p valores resultan $\leq 0,05$ (Tabla 64).

Sin embargo, esta evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo no es significativamente diferente de la vía IV a la IO; es decir, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo tras su administración IV no es significativamente diferente a la evolución tras la administración IO. Esto ocurre tanto de forma global ($p = 0,723$; Tabla 63), como para cada uno de los intervalos inter-muestreo (valores de $p > 0,05$; Tabla 64).

- Análisis de los efectos inter-sujetos (vía de administración)

Vía de administración	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
IV	884,088	78,601	708,953	1059,222
IO	773,299	78,601	598,165	948,434

Tabla 65. Concentración media de vancomicina en MO; estudios IV e IO.

Factor	F	Valor p
Vía de administración	0,993	0,342

Tabla 66. Efecto inter-sujeto global, MO.

La concentración media de vancomicina alcanzada en MO tras la vía IV ($884,088 \pm 78,601$) fue mayor que tras la vía IO ($773,299 \pm 78,601$), sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,342$; Tabla 66).

La siguiente figura (Fig. 40) muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en líquido sinovial de la articulación metacarpofalángica (MO), para ambas vías de administración.

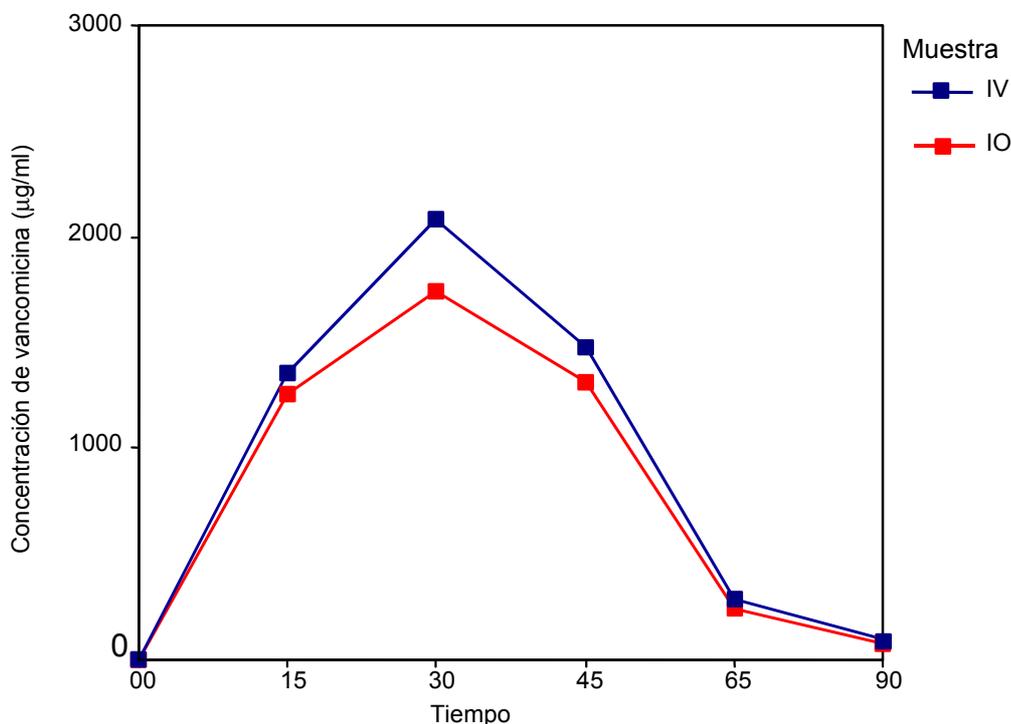


Fig. 40. Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en MO.

La siguiente tabla (Tabla 67) muestra el análisis estadístico realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en

MO por cada vía de administración (IV e IO), para cada punto de muestreo.

Muestra	F	Valor p
MO 00	.	.
MO 15	0,092	0,768
MO 30	1,065	0,326
MO 45	0,620	0,449
MO 65	0,153	0,704
MO 90	0,178	0,682

Tabla 67. Test *t* de Student, MO.

En todos los tiempos de muestreo excepto MO-00, la concentración de vancomicina en MO por vía IO fue superior a la alcanzada por vía IV. Sin embargo, las diferencias no significativamente diferentes en ninguno de los tiempos de muestreo ($p > 0,05$; Tabla 67).

2.3.4 Sangre sistémica

- Análisis de los efectos intra-sujetos (tiempo y la interacción tiempo con vía de administración)

Se han omitido los tiempos de muestreo 0 min, 15 min y 24 h, ya que las concentraciones poseían un valor igual a 0 o no detectadas. El punto SS 12h se ha suprimido del estudio ya que los datos no siguen una distribución normal. Por tanto, el estudio estadístico se limita a las muestras de sangre sistémica entre los tiempos de muestreo 30 min y 8 h, ambos inclusive.

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	37,597	0,000
Interacción Tiempo * Vía de administración	0,279	0,725

Tabla 68. Efectos intra-sujetos globales en SS (F: valor F de Snedecor).

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	30 min – 45 min	.	.
	45 min – 65 min	45,535	0,000
	65 min – 90 min	17,013	0,002
	90 min – 4 h	19,042	0,001
	4 h – 8 h	9,586	0,011
Interacción Tiempo * Vía de administración	30 min – 45 min	.	.
	45 min – 65 min	0,026	0,876
	65 min – 90 min	0,838	0,382
	90 min – 4 h	0,486	0,501
	4 h – 8 h	0,039	0,848

Tabla 69. Efectos intra-sujetos sobre los intervalos intermuestreo en SS.

El tiempo actúa como un factor significativo sobre la concentración de vancomicina en sangre sistémica, independientemente de la vía de administración utilizada; es decir, la concentración de vancomicina en sangre sistémica varía de forma significativa a lo largo del tiempo, para las 2 vías de administración IV e IO. Este efecto es significativo tanto de manera global ($p=0,000$; Tabla 68), como para cada uno de los intervalos intermuestreo comprendidos entre los tiempos de muestreo 30 min y 8 h, con independencia de la vía de administración IV o IO empleada, ya que para estos intervalos inter-muestreo todos los p valores resultan $< 0,05$ (Tabla 69).

Sin embargo, esta evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo no es significativamente diferente de la vía IV a la IO; es decir, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina en el tiempo tras su administración IV no es significativamente diferente a la evolución tras la administración IO. Esto ocurre tanto de forma global ($p=0,725$; Tabla 68), como para cada uno de los intervalos inter-muestreo (valores de $p > 0,05$; Tabla 69).

- Análisis de los efectos inter-sujetos

Vía de administración	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
IV	0,468	0,105	0,234	0,702
IO	0,518	0,105	0,284	0,752

Tabla 70. Concentración media de vancomicina en SS; estudios IV e IO.

Factor	F	Valor p
Vía de administración	0,113	0,743

Tabla 71. Efecto inter-sujeto global, SS.

La concentración media de vancomicina alcanzada en SS tras la vía IV ($0,468 \pm 0,105$), fue menor que tras la vía IO ($0,518 \pm 0,105$); sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,743$; tabla 71).

La siguiente figura (Fig. 41) muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en plasma sanguíneo (SS), para ambas vías de administración.

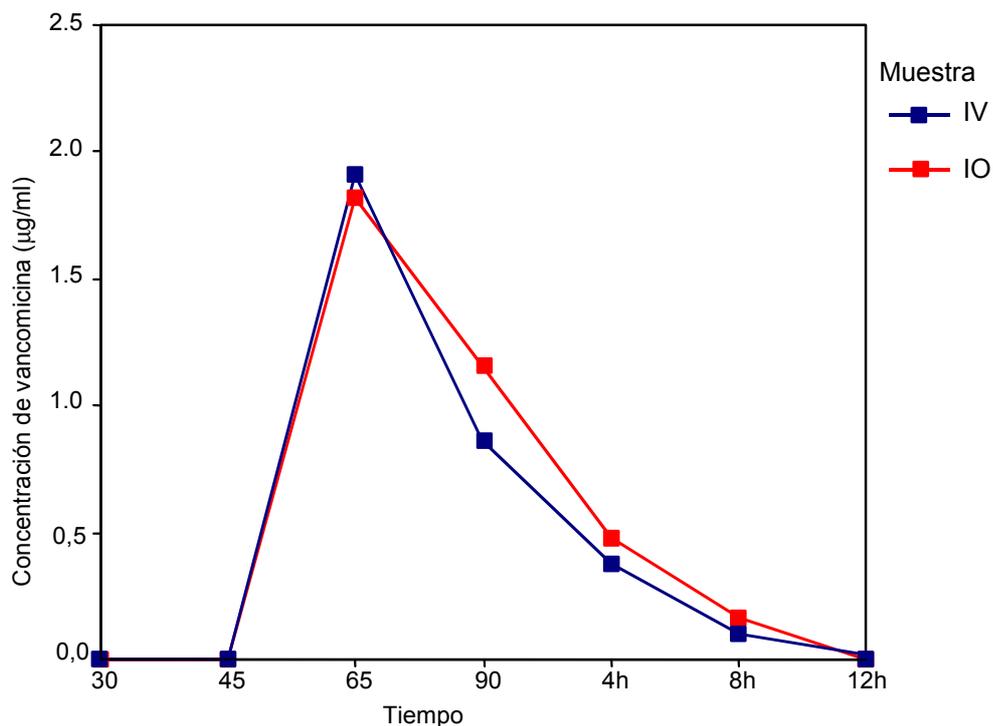


Fig. 41. Evolución en el tiempo de la concentración de vancomicina en SS.

La siguiente tabla (Tabla 72) muestra el análisis estadístico realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en SS por cada vía de administración (IV e IO), para cada punto de muestreo.

Muestra	F	Valor p
SS 30	.	.
SS 45	.	.
SS 65	0,026	0,876
SS 90	0,843	0,380
SS 4h	0,193	0,670
SS 8h	0,283	0,606

Tabla 72. Test *t* de Student, SS.

Las concentraciones de vancomicina alcanzadas en sangre sistémica tras la administración IV e IO no resultaron significativamente diferentes en ningún tiempo de muestreo (valores $p > 0,05$; Tabla 72).

2.4 Comparación de los niveles de vancomicina entre articulaciones

En este apartado se comparan estadísticamente las concentraciones de vancomicina alcanzadas en el líquido sinovial de las 2 articulaciones (MTCF e IFD), incluidas en la porción de la extremidad sometida a perfusión. Para ello, dentro de cada uno de los estudios experimentales (IV e IO), se realizó un ANOVA de medidas repetidas con 2 factores (tiempo y articulación -MTCF o IFD-), como variables independientes. En ambos casos se aplicó el factor de Greenhouse-Geisser para corregir los grados de libertad en las pruebas de significación promediadas. La significatividad de las diferencias observadas entre las concentraciones de vancomicina en ambas articulaciones para cada punto de muestreo, fue evaluada mediante la realización del análisis *t* de Student. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0,05$; situaciones que se muestran en negrita.

2.4.1 Estudio intravenoso

Las siguientes tablas muestran los resultados del ANOVA para la comparación estadística de los niveles alcanzados en las 2 articulaciones (MTCF y IFD), en la fase IV.

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	33,229	0,000
Interacción Tiempo * Articulación	1,825	0,191

Tabla 73. Efectos sobre la evolución global de la concentración sinovial de vancomicina. Estudio IV. (F: valor F de Snedecor)

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	00 min – 15 min	11,557	0,007
	15 min – 30 min	33,616	0,000
	30 min – 45 min	22,741	0,001
	45 min – 65 min	16,674	0,002
	65 min – 90 min	32,647	0,000
Interacción Tiempo * Articulación	00 min – 15 min	5,302	0,044
	15 min – 30 min	3,436	0,093
	30 min – 45 min	2,867	0,121
	45 min – 65 min	2,084	0,179
	65 min – 90 min	0,100	0,758

Tabla 74. Efectos sobre los intervalos intermuestreo. Estudio IV.

El tiempo actúa como un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina alcanzada en ambas articulaciones MTCF y IFD; es decir, la concentración de vancomicina en ambas articulaciones MTCF y IFD, varía significativamente a lo largo del tiempo. Esto ocurre teniendo en cuenta la concentración de VCM alcanzada en las articulaciones tanto de

forma general ($p=0,000$; tabla 73), como para cada uno de los intervalos intermuestreo ($p<0,05$; tabla 74).

En cambio, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina a lo largo del tiempo en cada articulación no es significativamente diferente de una articulación a otra de forma global ($p=0,191$; tabla 73), aunque la diferencia sí es significativa en el primer tramo inter-muestreo (entre tiempo 0 y tiempo 15 min), con $p = 0,044$ (tabla 74). La variación en el tramo 15 min - 30 min es significativamente diferente al 90% ($p=0,093$; tabla 74). En el resto de intervalos, las diferencias no fueron significativamente diferentes.

Se calcularon los valores medios de la concentración de vancomicina en líquido sinovial de cada una de las 2 articulaciones y se analizó la significatividad de la diferencia:

Articulación	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
MTCF	37,267	10,916	12,944	61,590
IFD	62,450	10,916	38,127	86,773

Tabla 75. Concentración media de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IV.

Factor	F	Valor p
Articulación	2,661	0,134

Tabla 76. Efecto del factor articulación sobre la concentración global de vancomicina. Estudio IV.

La concentración media de vancomicina alcanzada en la articulación MTCF tras la vía IV ($37,267 \pm 10,916$) fue menor que tras la vía IO ($62,450 \pm 10,916$); sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,134$; tabla 76).

La figura 25 muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en líquido sinovial de ambas articulaciones metacarpofalángica (MTCF) e interfalángica distal (IFD), en el estudio IV, señalados en la tabla 77.

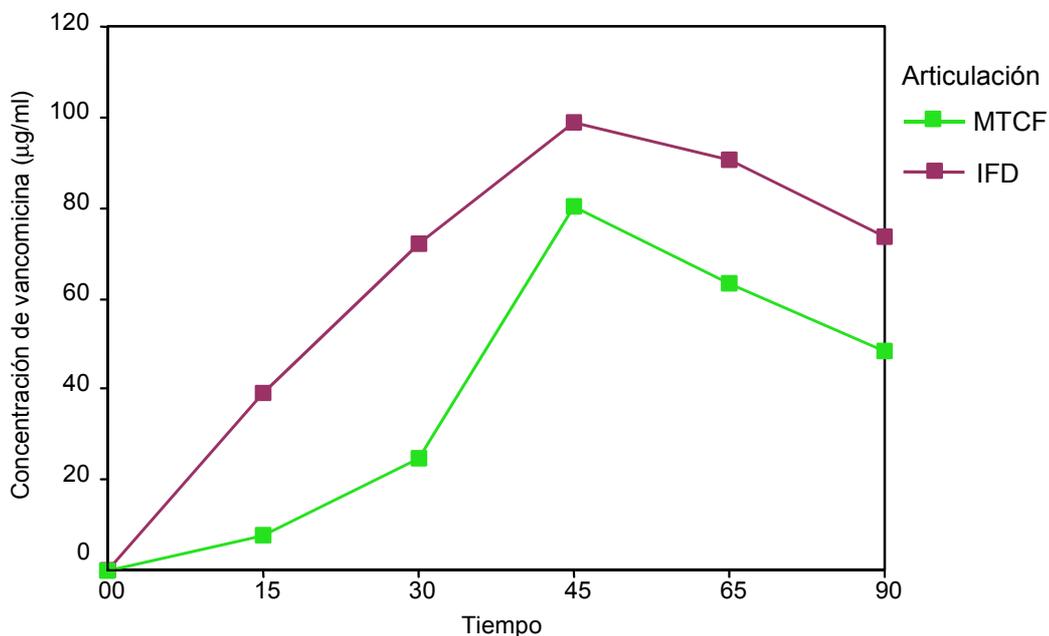


Fig. 42. Evolución en el tiempo de las concentraciones sinoviales de vancomicina. Estudio IV.

Tiempo	Articulación	Media ± Desviación típica	Mínimo	Máximo
T15	MTCF	7,545 ± 9,903	1,62	27,64
	IFD	39,220 ± 32,207	8,50	89,41
T30	MTCF	24,585 ± 16,573	8,94	50,21
	IFD	72,276 ± 39,357	18,50	125,56
T45	MTCF	80,1800 ± 37,801	45,94	145,24
	IFD	98,7350 ± 46,434	23,28	157,56
T65	MTCF	63,1250 ± 41,152	23,01	136,17
	IFD	90,590 ± 41,645	26,27	143,23
T90	MTCF	48,167 ± 33,158	15,84	107,96
	IFD	73,878 ± 39,504	20,88	119,30

Tabla 77. Estadística descriptiva (µg/ml). Estudio IV.

La siguiente tabla (Tabla 78) muestra los resultados del análisis *t* de Student realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas por vía IV, entre ambas articulaciones MTCF e IFD.

Muestra	F	Valor p
15 min	5,302	0,044
30 min	7,483	0,021
45 min	0,576	0,465
65 min	1,320	0,277
90 min	1,491	0,250

Tabla 78. Test *t* de Student, estudio IV.

Los niveles de vancomicina en la articulación IFD se mantuvieron por encima de los alcanzados en MTCF durante los 90 min de estudio. Las diferencias fueron estadísticamente significativas únicamente en los tiempos 15 min ($7,54 \pm 9,90$ en MTCF, $39,22 \pm 32,20$ en IFD), y 30 min ($24,58 \pm 72,27$ en MTCF; $72,275 \pm 39,356$ en IFD), con valores de p de 0,044 y 0,021, respectivamente (Tabla 78).

2.4.2 Estudio intraóseo

Las siguientes tablas muestran los resultados del ANOVA para la comparación estadística de los niveles alcanzados en las 2 articulaciones (MTCF y IFD), en la fase IO.

Factor estudiado	F	Valor p
Tiempo	26,980	0,000
Interacción Tiempo * Articulación	2,872	0,062

Tabla 79. Efectos sobre la evolución global de la concentración sinovial de vancomicina. Estudio IO. (F: valor F de Snedecor)

Factor estudiado	Intervalo	F	Valor p
Tiempo	00 min – 15 min	34,670	0,000
	15 min – 30 min	37,009	0,000
	30 min – 45 min	19,404	0,001
	45 min – 65 min	5,173	0,046
	65 min – 90 min	9,064	0,013
Interacción Tiempo * Articulación	00 min – 15 min	3,380	0,096
	15 min – 30 min	1,132	0,312
	30 min – 45 min	2,994	0,114
	45 min – 65 min	0,705	0,421
	65 min – 90 min	0,641	0,442

Tabla 80. Efectos sobre los intervalos intermuestreo. Estudio IO.

El tiempo actúa como un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina alcanzada en ambas articulaciones MTCF y IFD; es decir, la concentración de vancomicina en ambas articulaciones MTCF y IFD varía significativamente a lo largo del tiempo. Esto ocurre teniendo en cuenta la concentración de vancomicina alcanzada en las articulaciones tanto de forma general ($p=0,000$; tabla 79), como para cada uno de los intervalos intermuestreo ($p<0,05$; tabla 80).

En cambio, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina a lo largo del tiempo en cada articulación no es significativamente diferente ni de forma global ($p = 0,062$; tabla 79), ni para ninguno de los intervalos inter-muestreo ($p > 0,05$; tabla 80).

Se calcularon los valores medios de concentración de vancomicina en cada una de las articulaciones MTCF y IFD y se analizó la significatividad de la diferencia:

Articulación	Media	Error típico	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
MTCF	47,335	7,242	31,198	63,472
IFD	39,345	7,242	23,208	55,482

Tabla 81. Concentración media de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$). Estudio IO.

Factor	F	Valor p
Articulación	0,609	0,453

Tabla 82. Efecto del factor articulación sobre la concentración global de vancomicina. Estudio IO.

La concentración media de vancomicina ($\mu\text{g/ml}$) alcanzada en la articulación MTCF ($47,335 \pm 7,242$) fue mayor que en la articulación IFD ($39,345 \pm 10,916$); sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,453$; tabla 82).

La figura 26 muestra la representación gráfica de los niveles de vancomicina determinados en cada punto de muestreo en líquido sinovial de ambas articulaciones metacarpofalángica (MTCF) e interfalángica distal (IFD), en el estudio IO, señalados en la tabla 83.

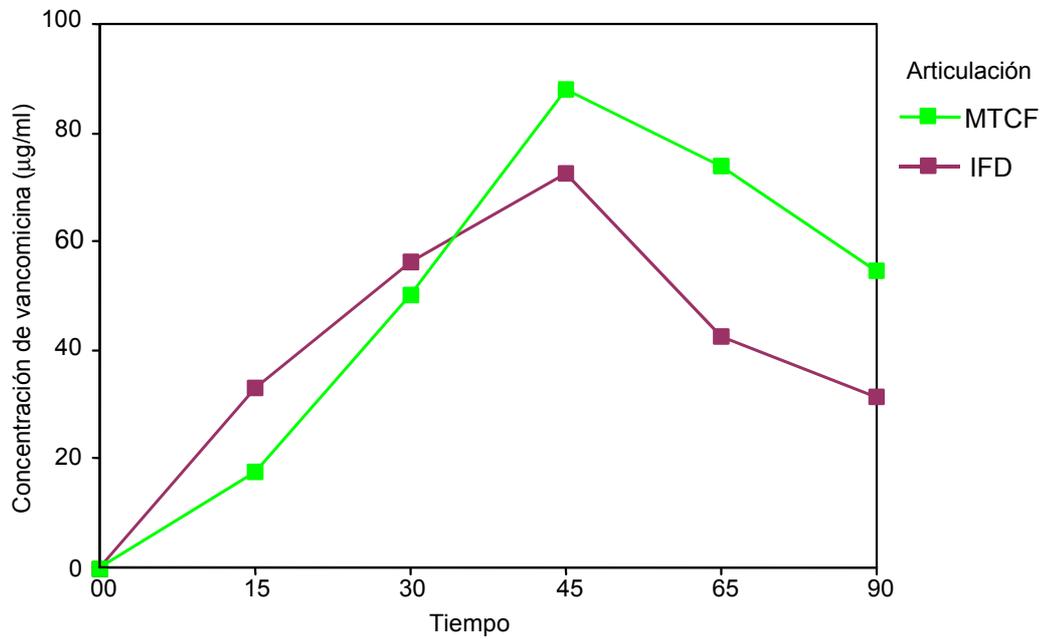


Fig. 43. Evolución en el tiempo de las concentraciones sinoviales de vancomicina. Estudio IO.

Tiempo	Articulación	Media ± Desviación típica	Mínimo	Máximo
T15	MTCF	17,400 ± 10,792	4,94	36,35
	IFD	33,198 ± 18,072	9,75	49,35
T39	MTCF	50,3533 ± 26,504	29,10	91,33
	IFD	56,342 ± 18,762	33,75	82,43
T45	MTCF	87,792 ± 40,794	39,32	143,96
	IFD	72,662 ± 33,132	35,68	126,87
T65	MTCF	73,913 ± 37,496	43,74	145,58
	IFD	42,548 ± 24,316	20,40	76,43
T90	MTCF	54,553 ± 24,768	28,05	82,42
	IFD	31,320 ± 19,067	17,50	60,81

Tabla 83. Estadística descriptiva (µg/ml). Estudio IO.

La siguiente tabla (Tabla 84) muestra los resultados del análisis *t* de Student realizado para la evaluación de la significatividad de las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas por vía IO, entre ambas articulaciones MTCF e IFD.

Muestra	F	Valor p
15 min	3,380	0,096
30 min	0,204	0,661
45 min	0,497	0,497
65 min	2,955	0,116
90 min	3,315	0,099

Tabla 84. Test *t* de Student, estudio IV.

Las diferencias entre las concentraciones de vancomicina alcanzadas en ambas articulaciones no fueron significativas en ningún tiempo de muestreo (valores de $p \geq 0,05$; tabla 84).

2.5 Estudio de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia

2.5.1 Determinación de los parámetros

Para cada una de las localizaciones de las que se tomaron muestras, se calcularon los parámetros farmacocinéticos y de eficacia siguientes utilizando el programa informático para tratamiento farmacocinética Pconlin® V 4.0 (Statistical Consultants Inc., Lexington, KY. Estados Unidos):

- β (min^{-1}): pendiente de la fase de eliminación de la curva de concentración de vancomicina frente a tiempo en esa localización.
- $t_{1/2 \beta}$ (min): tiempo de vida media de β .
- AUC_t ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$): área que se encuentra debajo de la curva desde el tiempo 0 hasta un momento determinado en el tiempo (t).
- MRT_t (min): indica el tiempo medio de permanencia de la vancomicina en esa localización, desde el tiempo 0 un momento determinado en el tiempo (t).

Las siguientes tablas (Tablas 85 a 92) muestran los parámetros farmacocinéticos y de eficacia para cada uno de los individuos y los valores medios y de desviación típica (DT) en cada localización.

En el caso de IFD, los niveles de vancomicina obtenidos hasta el minuto 90 no permitieron calcular los parámetros $\beta \times 10^{-3}$ y $t_{1/2 \beta}$ correspondientes a la fase de eliminación de la cinética de vancomicina en dicha articulación en ambos estudios IV e IO. Asimismo, en el caso de SS tampoco fue posible calcular estos dos parámetros para todos los caballos de los estudios.

IV-MTCF	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₂₄	MRT ₂₄
Caballo 1	1,7	398,29	11478,92	332,19
Caballo 2	3,2	217,16	29464,77	268,67
Caballo 3	1,7	401,74	19431,42	292,95
Caballo 4	1,4	497,07	21988,72	461,61
Caballo 5	1,5	467,51	11061,50	367,16
Caballo 6	1,2	557,34	8802,90	422,69
Media	1,78	423,18	17038,04	357,54
DT	0,72	117,43	7988,76	74,67

Tabla 85. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF, estudio IV (DT: desviación típica).

IV-MO	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₉₀	MRT ₉₀
Caballo 1	93,5	7,41	110856,27	31,94
Caballo 2	107,4	6,45	96869,42	33,82
Caballo 3	28,7	24,15	87338,62	31,97
Caballo 4	57,5	12,05	101021,25	36,68
Caballo 5	52,1	13,3	45941,97	37,40
Caballo 6	61,2	11,32	68919,45	37,55
Media	66,73	12,45	85157,83	34,90
DT	28,80	6,33	23897,88	2,64

Tabla 86. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO, estudio IV (DT: desviación típica).

IV-IFD	AUC ₉₀	MRT ₉₀
Caballo 1	8742,97	52,59
Caballo 2	3953,60	53,80
Caballo 3	1664,47	54,36
Caballo 4	6738,57	53,50
Caballo 5	10695,77	50,90
Caballo 6	6377,00	53,37
Media	6362,06	53,09
DT	3239,13	1,22

Tabla 87. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD, estudio IV.

IV-SS	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₂₄	MRT ₂₄
Caballo 1	2,7	252,34	239,9	180,11
Caballo 2			99,17	81,32
Caballo 3			226,92	174,01
Caballo 4			11,82	72,40
Caballo 5	2,9	240	349,5	269,54
Caballo 6			424,8	203,01
Media	2,8	246,17	225,3517	163,3983
DT	0,141421	8,725698	152,921	75,15926

Tabla 88. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS, estudio IV (DT: desviación típica).

IO-MTCF	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₂₄	MRT ₂₄
Caballo 1	1,1	639,81	14799,32	482,97
Caballo 2	1,3	517,86	15332,32	401,60
Caballo 3	1,5	473,56	36131,80	372,07
Caballo 4	1,9	362,83	41390,77	389,19
Caballo 5	1,2	591,14	15957,10	414,60
Caballo 6	1,5	470,20	27005,75	367,47
Media	1,42	509,23	25102,84	404,65
DT	0,29	98,04	11626,06	38,57

Tabla 89. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF, estudio IO (DT: desviación típica).

IO MO	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₉₀	MRT ₉₀
Caballo 1	87,5	7,93	65155,87	34,49
Caballo 2	75,2	9,21	74868,35	34,21
Caballo 3	61,7	11,23	72406,87	35,67
Caballo 4	86,8	7,98	62045,57	28,92
Caballo 5	47,8	14,5	84934,07	38,45
Caballo 6	47,5	14,6	87655,07	32,46
Media	67,75	10,91	74510,97	34,03
DT	16,60	2,80	9388,53	2,92

Tabla 90. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO, estudio IO (DT: desviación típica).

IO IFD	AUC ₉₀	MRT ₉₀
Caballo 1	2265,12	50,49
Caballo 2	5261,52	51,08
Caballo 3	5113,35	42,00
Caballo 4	5120,00	50,71
Caballo 5	2268,10	49,24
Caballo 6	3753,00	41,51
Media	3963,51	47,50
DT	1300,49	4,11

Tabla 91. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD, estudio IO.

IO SS	$\beta \times 10^{-3}$	t1/2 β	AUC ₂₄	MRT ₂₄
Caballo 1	0,8	899,6	555,25	235,71
Caballo 2			389,82	251,51
Caballo 3			131,5	80,80
Caballo 4			346,57	157,97
Caballo 5			86,25	82,50
Caballo 6			142,8	133,29
Media	0,8	899,6	275,36	156,96
DT	0	0	168,59	67,14

Tabla 92. Parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS, estudio IO.

2.5.2 Comparación de los estudios experimentales intravenoso e intraóseo

Los datos no se distribuían de forma normal, por lo que se aplicó el análisis de Kolmogorov-Smirnov, comparando los diferentes parámetros obtenidos en cada localización entre ambos estudios o vías de administración (IV e IO). Las siguientes tablas muestran los resultados de estos análisis para cada localización

MTCF	Z de Kolmogorov-Smirnov	Valor p
$\beta \times 10^{-3}$	0,577	0,893
T1/2 β	0,866	0,441
AUC ₂₄	0,866	0,441
MRT ₂₄	1,155	0,139

Tabla 93. Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MTCF.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros farmacocinéticos en la articulación MTCF, entre los estudios IV e IO.

IFD	Z de Kolmogorov-Smirnov	Valor p
AUC ₉₀	1,155	0,139
MRT ₉₀	1,443	0,031

Tabla 94. Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en IFD.

Las diferencias de los parámetros farmacocinéticos en la articulación IFD entre las vías de administración IV e IO son significativas únicamente para el caso del parámetro MRTT.

MO	Z de Kolmogorov-Smirnov	Valor p
$\beta \times 10^{-3}$	0,577	0,893
t1/2 β	0,577	0,893
AUC ₉₀	0,866	0,441
MRT ₉₀	0,577	0,893

Tabla 95. Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en MO.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros farmacocinéticos en médula ósea de primera falange (MO), entre los estudios IV e IO.

SS	Z de Kolmogorov-Smirnov	Valor p
Tmax	0,000	1,000
Cmax	0,577	0,893
AUC₂₄	0,289	1,000
MRT₂₄	0,577	0,893

Tabla 96. Test Kolmogorov-Smirnov de los parámetros farmacocinéticos y de eficacia en SS.

No existen diferencias significativas para ninguno de los parámetros farmacocinéticos en sangre sistémica entre los estudios IV e IO.

Discusión

La perfusión regional por ambas vías intravenosa e intraósea, de la porción distal de la extremidad anterior del caballo con 300 mg de vancomicina no comporta efectos tóxicos regionales ni sistémicos, y proporciona niveles de vancomicina elevados en los diferentes tejidos estudiados que son mantenidos por un período de tiempo prolongado. Por tanto, podría constituir una alternativa terapéutica para aquellos casos de infecciones ortopédicas causadas por microorganismos sensibles a la vancomicina; especialmente aquellos que muestran alto grado de resistencia a otros quimioterápicos como los estafilococos meticilina-resistentes, cuya prevalencia en las infecciones iatrogénicas en los caballos está en aumento (Hartmann y col, 1997; Seguin y col, 1999; Trostle y col, 2001).

1. Discusión de los resultados clínicos y radiológicos

Los parámetros clínicos observados de forma previa y durante los 7 días posteriores a la realización de la perfusión, y las escalas de gradación utilizadas fueron determinadas conforme a otros autores (Adair y col, 1991; Whitehair y col, 1992c; Stashak, 2002). La mayoría de los caballos mostraron cierto grado de distensión articular (efusión sinovial) de la articulación metacarpofalángica. El hecho de haber valorado los parámetros clínicos en esta articulación se debe a que las otras articulaciones incluidas en la región sometida al procedimiento de la perfusión (interfalángicas proximal y distal) no permiten una fácil evaluación. Sin embargo, esta articulación se sometió a artrocentesis repetidas durante el experimento. Los niveles de distensión de la articulación del menudillo no fueron significativamente diferentes entre los grupos VCM y CTL, por lo que se puede concluir que son debidos al procedimiento experimental realizado y no se pueden considerar efectos adversos producidos por la vancomicina.

El procedimiento de la punción articular origina una inflamación de la membrana sinovial y diferentes grados de hemorragias intraarticulares (Lloyd y col, 1988b; Misheff y col, 1991; Lescun y col, 2002). Estas situaciones originan la distensión articular que es causa de dolor articular y por lo tanto, de cojera (Hasegawa e Ito, 1991).

Los mayores grados de efusión sinovial se observaron en el día 1. En cambio, en el tiempo 0-post, que corresponde al momento tras la recuperación anestésica del animal, la efusión sinovial fue mínima; únicamente 2 de los 6 caballos en la fase IV y 1 en la fase IO mostraron un grado muy leve de distensión. Durante los 90 minutos iniciales del estudio (tiempo 0 = inicio de la perfusión), se realizó una única artrocentesis de las articulaciones del menudillo e

interfalángica distal para minimizar el trauma a la membrana sinovial y evitar la hemorragia intraarticular. En el caso de la articulación del menudillo, la aguja (de un calibre menor, 23G) fue insertada a través del ligamento sesamoideo colateral lateral con la extremidad en semiflexión, localización que presenta un riesgo bajo de desarrollo de hemorragia ya que en esta localización existe una menor cantidad de capilares sanguíneos (Misheff y col, 1991). Al mantener esta aguja *in situ* para recoger las muestras siguientes, se evitaron punciones sucesivas que habrían producido un mayor grado de inflamación sinovial y habrían aumentado el riesgo de hemorragia intraarticular (Wagner y col, 1982; Stover y Pool, 1985; Lescun y col, 2000).

En la toma de muestras en los tiempos posteriores (4, 8, 12 y 24 horas), que se realizaron en el caballo en la estación, el punto de artrocentesis fue alternado para cada articulación con el fin de limitar la hemorragia y favorecer la recogida de muestras, ya que la inflamación de las vellosidades de la membrana sinovial puede impedir la obtención de líquido sinovial aun cuando la aguja se encuentre situada en el interior de la cavidad articular (Misheff y col, 1991). Además de la punción a través del ligamento sesamoideo colateral, se han descrito otros abordajes para la articulación del menudillo. Abordajes dorsales, lateral y medial, a un lado u otro del tendón extensor digital común. Abordajes palmaro/plantaro-proximales, lateral y medial, en un punto proximal al hueso sesamoideo proximal, en el receso sinovial palmar/plantar de la articulación. Y, abordajes palmaro/plantaro-distales, lateral y medial, en situación distal al hueso sesamoideo proximal. Estos últimos son los preferidos por muchos autores especialmente para el caso de las extremidades anteriores, ya que originan un menor grado de hemorragia articular debido a que, en esa localización, existe una menor cantidad de capilares sanguíneos (Southwood y col, 1997; Adams, 1998). En este estudio se comenzó con el abordaje palmarodistolateral para la toma de muestra correspondiente a MTCF-4h. Seguidamente se utilizaron los abordajes dorsales y, por último, los palmares en casos en que los anteriores no permitieran la obtención de líquido sinovial. En otros estudios de perfusión regional con antibióticos en el caballo, los autores han descrito resultados similares en cuanto a efusión sinovial y presencia de hemorragia intrarticular (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001). Por otro lado, no existieron diferencias significativas en el grado de efusión articular entre los grupos VCM y CTL, por lo que creemos que la efusión sinovial está fundamentalmente originada por la realización de artrocentesis repetidas y no por el procedimiento de la perfusión regional, ni representa un efecto tóxico de la vancomicina.

Si la vancomicina hubiera producido una sinovitis aguda en las condiciones en que se ha administrado en este estudio, cabría esperar que se hubiera observado en el tiempo 0 post. Si en vez de una inflamación aguda, hubiera producido una artritis más retardada, se esperarían diferencias significativas entre los grupos VCM y CTL. Las concentraciones máximas de vancomicina en líquido sinovial alcanzan valores medios máximos > 80 µg/ml

para la articulación metacarpofalángica antes de la liberación del torniquete. Este hecho significa que el antibiótico ha difundido a través de la membrana sinovial, donde los microorganismos proliferan, para acceder al interior de la articulación (Whitehair y col, 1992b).

El grado de cojera mostrado por los caballos corresponde con claudicaciones mínimas, apenas observables clínicamente, y coinciden con los resultados de otros autores que señalan ausencia de cojera o cojera apenas clínicamente observable (Whitehair y col, 1992b; Palmer y Hogan, 1999; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002). Asimismo, no existen diferencias significativas entre los grupos VCM y CTL. Todos los caballos que manifestaron cojera clínica lo hicieron durante los 2-3 primeros días, excepto el caballo nº 5 de la fase IV, que mostró cojera y la mantuvo durante los 7 días que duró el estudio. Este caballo mostró claudicación después de la infusión tanto de la solución con vancomicina, como de la solución control de solución salina, y en un grado similar, por lo que se concluye que la cojera observada no está originada por la vancomicina.

Al igual que para el parámetro “cojera”, el caballo nº 5 de la fase IV fue también el que mostró el mayor grado de efusión sinovial de la articulación metacarpofalángica, que se observó tanto en el grupo VCM como en el CTL y en un grado similar. Por tanto, este caballo puede ser considerado como un animal altamente sensible al procedimiento experimental, especialmente a la artrocentesis. Además, los mayores grados de cojera y efusión sinovial los desarrolló a partir del día 1, cuando ya se habían realizado las artrocentesis repetidas para la recogida de muestras de líquido sinovial con el animal en la estación. Como se ha señalado, la distensión articular es origen de dolor articular, y por lo tanto de cojera (Hasegawa e Ito, 1991). Por ello, el caballo nº 5 de la fase IV fue el caballo con los mayores grados de efusión articular y de cojera en el presente estudio. En el estudio experimental realizado por Whitehair y col (1992b), uno de los 4 caballos sometidos a perfusión regional, presentó mayores grados de cojera y efusión sinovial, tanto en la extremidad a la que se administró gentamicina como en la extremidad control, siendo estos resultados similares al caballo nº 5 de la fase IV del presente trabajo. El efecto de esta inflamación de la membrana sinovial sobre las concentraciones articulares de vancomicina en este caballo nº 5 se consideró mínimo debido a que el caballo mostró los mayores signos clínicos de forma posterior a la recogida de las muestras. Por otro lado, habría que considerar que en todos los caballos se produjeron efectos de la inflamación sobre los niveles articulares de vancomicina, ya que todos los caballos fueron sometidos a artrocentesis repetidas y la mayor parte de ellos, mostró cierto grado de efusión articular. Sin embargo, estos efectos también se han producido en otros trabajos realizados en caballos (Whitehair y col, 1992b; Scheuch y col, 2002), por lo que los resultados son comparables.

El calor es otro de los puntos cardinales de todo proceso inflamatorio, por lo que es lógico que en una artritis inflamatoria como la producida por artrocentesis repetidas, el calor sea otro parámetro clínico evidente. Al igual que con la cojera y la efusión articular, no existieron diferencias significativas entre las fases IV e IO, ni entre los grupos VCM y CTL. Por ello, se deduce que el calor también está originado por las punciones articulares seriadas y no es efecto de la vancomicina. Del mismo modo, el calor en el menudillo también fue mayor en el día 1, lo que consideramos está causado por el proceso inflamatorio originado por las punciones articulares.

Los valores medios del parámetro sensibilidad a la palpación en la zona de la articulación metacarpofalángica fueron igualmente mínimos para todos los grupos experimentales, no existiendo diferencias significativas entre los grupos VCM y CTL, ni entre las fases IV e IO, ni existe interacción significativa entre los 2 factores.

No obstante, aunque la evaluación de los parámetros clínicos en este trabajo fue realizada siempre por la misma persona para reducir variabilidad en el criterio, los métodos de detección del grado de calor y de la sensibilidad a la palpación utilizados constituyen técnicas con alto grado de subjetividad. El empleo de la termografía podría haber resultado un método más objetivo para el caso de detección del grado de calor.

Como se ha señalado en la revisión bibliográfica, el hidrocloreuro de vancomicina ha sido asociado tradicionalmente con la producción de tromboflebitis severa, razón que ha condicionado su administración a la utilización de vías intravenosas centrales, ya que de esta manera se maximiza la dilución del antibiótico, reduciendo los efectos tóxicos vasculares (Pham Dang y col, 2001). De los resultados de nuestro estudio se puede concluir que la administración de vancomicina por perfusión regional intravenosa en la extremidad anterior del caballo a una dosis total de 300 mg, en una concentración de 5 mg/ml y a una tasa de infusión máxima de 10 mg/min, no es origen de ningún efecto tóxico vascular clínicamente evidente, ya que las observaciones del grado clínico en cada uno de los 3 parámetros clínicos utilizados para evaluar el punto de infusión (inflamación, descarga y sensibilidad a la palpación), han sido nulas para todos los caballos incluidos en el estudio. Las condiciones en las que se ha desarrollado este trabajo coinciden con las recomendaciones de administración de vancomicina. De acuerdo con estudios experimentales realizados con células endoteliales de cordón umbilical de neonatos humanos, se recomienda una concentración ≤ 5 mg/ml (Robibaro y col, 1998; Vorbach y col. 1999). La administración intravascular se debe realizar a una tasa de infusión ≤ 15 mg/min, idealmente 10 mg/min, para evitar los efectos adversos de irritabilidad local en el punto de infusión como flebitis y necrosis tisular cuando existe extravasación (DiPiro y col, 1996). Además, el estudio previo realizado sobre 3 caballos en la estación, indicó que la administración de vancomicina por perfusión regional a una concentración de 5 mg/ml y a una velocidad de 10 mg/min, no producía efectos adversos

clínicamente evidentes a los caballos en la estación. Aunque no se realizó histopatología de la vena digital lateral ni de otros vasos infundidos, ninguno de los caballos mostró signos indicativos de flebitis ni tromboflebitis del vaso inyectado, por lo que consideramos que la infusión regional de vancomicina en las condiciones establecidas en este estudio no comporta efectos clínicos evidentes de toxicidad local sobre el árbol vascular infundido.

De la misma forma, el proceso de la perfusión en sí mismo tampoco ha sido causa de alteraciones clínicamente evidentes en el vaso sanguíneo en el que se realiza la infusión, ya que no se han observado diferencias entre los grupos VCM y CTL. Esta observación coincide con otros autores (Whitehair y col, 1992b; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002 Richardson, 2003; Kettner y col, 2003).

Actualmente, la perfusión regional se considera un procedimiento seguro y no lesivo para los tejidos. Se utiliza con frecuencia para el tratamiento de procesos sépticos de las extremidades de los caballos y se suelen realizar perfusiones regionales por vía intravenosa de forma repetida con una frecuencia diaria o a días alternos (Palmer y Hogan, 1999; Kettner y col, 2003). En estos casos no se han descrito problemas severos asociados a la punción repetida del vaso en el que se realiza la infusión, por lo que no se indican efectos adversos debidos a su repetición. Es conveniente la utilización de catéteres o agujas de calibre pequeño que producen un traumatismo menor sobre el vaso sanguíneo. En este estudio se han utilizado catéteres de 22G en caballos adultos. La mayoría de los autores han utilizado un calibre de 20G en estos casos (Murphey y col, 1999; Palmer y Hogan, 1999; Butt y col, 2001), sin embargo otros recomiendan calibres incluso menores (Richardson, 2003). Nuestra experiencia nos ha mostrado que resulta más conveniente la cateterización de la vena digital palmar a nivel del sesamoideo proximal con catéteres de 22G × 25 mm, que con catéteres de 20G × 32 mm. En esta localización, la vena digital recorre un camino relativamente tortuoso que puede dificultar la inserción de la totalidad del catéter, ya que se dobla al chocar contra la pared vascular. En nuestro caso, estos problemas los hemos encontrado de forma más frecuente con los catéteres de mayor calibre.

Una limitación de este trabajo sería la ausencia de realización de estudio histopatológico de la médula ósea de MTCIII en el caso de la administración intraósea, que permitieran una correcta evaluación de los efectos tóxicos sobre la misma. Sin embargo, sus componentes celulares se pueden considerar similares a los integrantes de la vena digital ya que la médula ósea está formada por un entramado de capilares y vasos sanguíneos que, evidentemente, presentan un endotelio celular similar. Estudios experimentales con perfusiones repetidas, han demostrado que la infusión intraósea de soluciones poliónicas y de sangre entera causa fibrosis de la médula ósea (Welch y col, 1992). En un principio se sugirió que esta fibrosis medular podría originar una disminución del flujo de una solución administrada por vía intraósea de forma repetida (Welch y col, 1992). Este hecho no pudo ser demostrado en un

estudio en el que realizaron infusiones intraóseas con amikacina repetidas durante 6 meses (Chastagner y col, 2001). Por su parte, la infusión intermitente de Ringer-Lactato a alta presión (situación similar a la realizada en nuestro estudio), no produjo los cambios que sí se observaron tras la infusión continua de sangre entera (Welch y col, 1992). Estos cambios que incluían incrementos de la densidad mineral del hueso, formación de nuevo hueso y erosión de la superficie ósea, parecían estar más correlacionados con un aumento de presión intramedular de forma mantenida, que con aumentos intermitentes (Welch y col, 1992 y 1993). En el caso de que la vancomicina ejerciera efectos tóxicos sobre la médula ósea, se esperarían cambios inflamatorios y/o necróticos, que producirían signos clínicos de inflamación, descarga y sensibilidad en el punto infusión en MTCIII más evidentes que los observados. Probablemente el grado de cojera sería superior, y se observarían diferencias significativas entre los grupos, VCM y CTL. Sin embargo, el grado de cojera ha sido mínimo y no existen diferencias entre ambos grupos.

El punto de perforación de MTCIII ha mostrado en este trabajo un grado medio leve de inflamación. Los estudios radiológicos no han mostrado cambios óseos evidentes en la cavidad medular ni en el punto de infusión del hueso MTCIII, por lo que esa inflamación se corresponde con una inflamación de tejidos blandos, lo que también ha sido observado por otros autores (Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002). La implantación de tornillos ha sido asociada por otros autores con formación de nuevo hueso en aquellas situaciones en las que los implantes permanecen durante un período de tiempo prolongado (Welch y col, 1992). El grado de inflamación observado fue similar en ambos grupos VCM y CTL, sin observarse diferencias significativas, al igual que con el grado de sensibilidad, por lo que estos cambios no pueden ser atribuidos únicamente a la administración de vancomicina. Ninguno de los caballos de la fase IO mostro descarga exudativa del punto de infusión, que podría haberse esperado en caso de haberse producido fenómenos de necrosis tisular de la médula ósea de MTCIII debido a la toxicidad de la vancomicina. La inflamación en el punto de infusión se resolvió sin tratamiento en un período de 7 a 10 días, como ha sido descrito (Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002). Al igual que la técnica IV, la perfusión regional de la extremidad del caballo con antibióticos por vía IO también representa un procedimiento seguro que se utiliza en el tratamiento de infecciones localizadas (Whitehair y col, 1992c; Kettner y col, 2003)

En conclusión, todos los parámetros clínicos evaluados en los caballos incluidos en ambas fases de este estudio han mostrado un grado mínimo de abnormalidad, que como otros autores han descrito en sus estudios, no se consideran clínicamente significativos. No existen diferencias significativas entre fases experimentales (IV e IO), ni entre grupos experimentales (VCM y CTL), ni existe interacción significativa entre ambos factores (fase y grupo). Por lo tanto, se puede concluir que las alteraciones observadas no son debidas a los posibles

efectos tóxicos de la vancomicina, sino al procedimiento experimental de la perfusión regional o a las artrocentesis repetidas de la articulación metacarpofalángica para la toma de muestras que se realizan una vez recuperado el caballo de la anestesia general.

En el resto de estudios experimentales de perfusión regional de las extremidades de los caballos con diferentes antibióticos, ningún autor ha descrito efectos tóxicos regionales a las dosis normalmente utilizadas, aunque éstas son altamente variables (Whitehair y col, 1992b; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002; Harriss y col, 2002). En el caso de la gentamicina, se ha señalado el desarrollo de celulitis y necrosis tisular, con cantidades mayores a 1 gramo (Santschi y col, 1998). La administración de 10 millones de UI de penicilina sódica mediante PRIV originó trombosis generalizada de todas las venas localizadas distalmente al torniquete en 2 vacas, lo que pareció ser un efecto tóxico de las altas concentraciones tisulares de penicilina alcanzadas (Steiner y col, 1990). En el caso de la vancomicina, no existe ningún trabajo publicado en el que se haya administrado este fármaco mediante perfusión regional, pero en base a los resultados de este estudio, se puede concluir que la perfusión regional de la porción distal de la extremidad del caballo con vancomicina en las condiciones descritas, no produce efectos tóxicos locales clínicamente evidentes derivados de la vancomicina. Ésta observación estaría de acuerdo con las observaciones de que los preparados más modernos poseen una toxicidad menor (Wenman y col, 1991), y en contra de otros autores que han sugerido la imposibilidad de administrar vancomicina por la ruta regional bajo un torniquete (de Lalla y col, 1993 y 2000).

La aplicación del torniquete durante 45 min en este trabajo es un factor que se diferencia de la mayoría de los estudios experimentales realizados en caballos en los que mayoritariamente se ha utilizado un período de 30 min (Whitehair y col, 1992b; Whitehair y col, 1995; Baxter, 1996; Palmer y Hogan, 1999). Los resultados del presente trabajo indican que la aplicación de un torniquete durante 45 minutos no tiene consecuencias nocivas regionales para el animal, al igual que señalan otros autores (Harriss y col, 2002; Kettner y col, 2003). En cambio, podría tener efectos positivos desde el punto de vista farmacológico.

Ninguno de los caballos mostró signos de desarrollo del síndrome compartimental. Este síndrome aparece cuando tejidos incluidos en espacios anatómicos cerrados o poco distensibles (como p. ej. grupos musculares incluidos en una fascia) son sometidos a alta presión (Weinmann, 2003). Las consecuencias son fenómenos de necrosis tisular, alteraciones de las ramas nerviosas sensoriales inicialmente, y de las ramas motoras en una fase posterior, y, dolor. Dentro de las causas del síndrome compartimental están además de lesiones musculares y quemaduras, periodos de isquemia, aplicación de torniquetes y la realización de perfusión regional en extremidades (Chan y col, 1997; Weinmann, 2003). Ninguno de los trabajos de perfusión regional realizados en caballos y bovinos han descrito

ningún caso de síndrome compartimental. En un estudio experimental realizado en perros a los que se les administraba infusiones sistémicas por vía intraósea, a una velocidad de 7 ml/min, los primeros signos se observaron cuando el volumen infundido alcanzaba los 350 ml (Gunal y col, 1996). Si bien es cierto que en estos casos se trataba de infusiones sistémicas, es decir, sin aplicación de torniquete, en nuestros caballos la tasa de infusión y el volumen total han sido menores (2ml/min y 60 ml, respectivamente). Además, previamente, la región había sido exanguinada, por lo que la presurización del árbol vascular disminuye (Grice y col, 1986). El volumen de perfusión de 60 ml se determinó en base a los estudios realizados en caballos en los que se ha administrado este volumen para la porción distal de la extremidad del caballo, con las mismas condiciones de exanguinación y tasa de velocidad aplicadas en este trabajo (Santschi y col, 1998; Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001). En estos trabajos, los autores han administrado las soluciones a perfundir bien en forma de bolo en un tiempo variable (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001), o bien mediante una infusión controlada a 2 ml/min (Whitehair y col, 1992bc; Scheuch y col, 2002).

Otra causa frecuente del síndrome compartimental es la pérdida de solución a través de la interfase hueso-implante, ya que las agujas intraóseas utilizadas no permiten un sellado hermético de esta zona (Whitehair y col, 1992b; Butt y col, 2001). La aplicación de acrílicos que sellan esta unión o la infusión a través de tornillos canulados, disminuyen el riesgo de pérdida de solución (Scheuch y col, 2002; Kettner y col, 2003), y por tanto, de desarrollo de síndrome compartimental.

Los efectos tóxicos de la vancomicina a nivel sistémico produjeron un condicionamiento de su administración en cuanto a concentración, velocidad, utilización de catéteres centrales y monitorización de los niveles plasmáticos del antibiótico, con el fin de evitar la aparición de efectos tóxicos graves (reacciones de hipersensibilidad, nefrotoxicidad, ototoxicidad y neurotoxicidad) (Pham Dang y col, 2001). La nefrotoxicidad constituye el factor más importante de la toxicidad sistémica ejercido por la vancomicina. Ninguno de los caballos mostró signos clínicos de nefrotoxicidad, y los parámetros sanguíneos de urea y creatinina se mantuvieron dentro de la ventana fisiológica en todos ellos. Los valores plasmáticos de vancomicina, determinados mediante una técnica de inmunoensayo de luz polarizada, mostraron niveles máximos alrededor de 2 µg/ml, niveles muy inferiores a los valores >30 µg/ml señalados como C_{max} plasmáticas potencialmente nefrotóxicas (Farber y Moellering, 1983). Esta técnica de determinación por inmunofluorescencia se utiliza con frecuencia en la especie equina (Whitehair y col, 1992bc; Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001). Para la determinación de niveles de vancomicina se ha empleado en el único trabajo experimental realizado en caballos que describe por primera y única vez la administración de vancomicina

a los caballos (Orsini y col, 1992). La mayoría de los niveles plasmáticos determinados en los caballos de este estudio se encuentran por debajo o alrededor de 2 µg/ml, concentración que representa el umbral de la técnica. La afinidad de la técnica en este rango de concentraciones no es óptima, por lo que éstas podrían no ser exactas. Sin embargo estos niveles no se consideran con riesgo de toxicidad ya que son extremadamente inferiores a los umbrales de toxicidad descritos para la vancomicina en otras especies.

La ototoxicidad es el segundo efecto tóxico sistémico más importante ejercido por la vancomicina. En este trabajo no se valoró la función auditiva de los caballos, pero el umbral plasmático descrito para el desarrollo de ototoxicidad en personas (60 µg/ml) es más elevado que para la nefrotoxicidad, por lo que sería lógico pensar que antes de aparecer daño auditivo aparecerá el daño renal (Mellor y col, 1984).

El daño neurológico a niveles central y periférico es otro efecto tóxico asociado a la vancomicina, aunque su incidencia es muy inferior y raramente ha sido descrito por otros autores (Snaveley y col, 1984). Además, la administración intraventricular de vancomicina se ha mostrado efectiva para el tratamiento de infecciones a nivel de sistema nervioso central y no se han descrito efectos neurotóxicos (Pfausler y col, 2003). Los exámenes clínicos que se realizaron durante los 7 días posteriores a la realización de la perfusión regional fueron normales en los 12 caballos incluidos en este trabajo, y ninguno de ellos mostró signos clínicos indicativos de alteración neurológica.

Los efectos adversos derivados de la aplicación de un torniquete, como son la isquemia tisular y la embolización de focos sépticos, son más frecuentes en los potros, razón por la que algunos autores no recomiendan la perfusión regional en neonatos como terapia de primera opción (Bertone, 2003). En adultos existe el riesgo de embolización grasa debido a la presión intramedular elevada (Orlowski y col, 1989; Chastagener y col, 2001), aunque este fenómeno no ha sido descrito como consecuencia de perfusiones regionales en caballos adultos. El efecto adverso más frecuente en los adultos es el desarrollo de hipertensión sistémica, situación que si bien es reversible y desaparece tras la liberación del torniquete sin efectos graves, requiere la interrupción inmediata del procedimiento (Abrahamsen y col, 1989). En nuestro estudio, la aplicación de un torniquete durante un tiempo de 45 minutos no comportó alteraciones sistémicas evidentes como el desarrollo de hipertensión, lo que concuerda con otros autores que señalan que en los caballos, la aplicación de torniquetes por períodos de hasta 2 horas no tiene consecuencias clínicas (Adams, 1998). En el resto de estudios de perfusión regional realizado en caballos, ningún autor ha descrito el desarrollo de hipertensión sistémica.

2. Discusión de los resultados farmacológicos

Nuestros resultados muestran un alto grado de variabilidad en las concentraciones de vancomicina alcanzadas en cada punto de muestreo. Sin embargo, en todos los trabajos de perfusión regional publicados se ha observado un grado de dispersión de los resultados similar (Stanek y col, 1984; Whitehair y col, 1992b; Gagnon y col, 1994; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002). La aplicación inadecuada del torniquete tiene como consecuencia la pérdida de fármaco a circulación sistémica (Grice y col, 1986). Ésta es una de las posibles razones de la gran variabilidad observada (Whitehair y col, 1992b; Gagnon y col, 1994; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002). Otros factores que podrían influir son variaciones individuales entre los diferentes animales referentes al posicionamiento del torniquete y a la presión ejercida durante la aplicación del mismo. La cantidad de antibiótico administrado es la misma para todos los caballos, sin embargo, el peso y volumen de la extremidad es diferente en cada animal. También se han descrito variaciones en la distribución anatómica del árbol vascular (Ghosal, 1975) que podrían afectar a la distribución de la solución perfundida. La presencia de un volumen medular mayor en los caballos de mayor tamaño también se ha relacionado con concentraciones sinoviales menores (Scheuch y col, 2002). Por ello, y para minimizar al máximo el efecto de todos estos factores entre los distintos animales, la exanguinación de la porción distal de la extremidad con la venda de Esmarch y la aplicación del torniquete fueron realizadas por la misma persona del equipo investigador en todos los caballos del estudio (Whitehair y col, 1992b).

La Presión Venosa Máxima (PVM) es el valor máximo de Presión Venosa (PV) que se puede alcanzar en el interior del sistema venoso de una porción del organismo sometida a perfusión regional (Grice y col, 1986). Cuando la PV alcanza valores superiores a la PVM, se producen pérdidas a circulación sistémica, siempre y cuando esa PVM sea mayor que la presión arterial sistólica (Grice y col, 1986). Cuando se dispone de un torniquete neumático, se puede controlar con precisión la presión ejercida. En este caso se recomienda la aplicación de presiones equivalentes a la presión arterial sistólica incrementada en 100 mmHg, con valores máximos recomendados en torno a los 300 mmHg (Blass y col, 1984). En vacas y caballos se

han aplicado presiones de 450-500 mmHg sin desarrollo de efectos adversos (Gagnon y col, 1994; Scheuch y col, 2002). Cuando no se dispone de torniquetes neumáticos que permitan un control exacto de la presión ejercida, se puede incrementar el valor de PVM aplicando torniquetes de anchura mayor (Grice y col, 1986). Se recomienda que la anchura del torniquete sea aproximadamente un 20% mayor al diámetro de la extremidad donde se aplica el torniquete (Grice y col, 1986). En personas, se recomienda una anchura aproximada de 10-12 cm para el brazo, cuyo diámetro puede considerarse similar al diámetro de la extremidad anterior del caballo en la zona proximal de la caña, razón por la cuál se ha utilizado un torniquete de 11 cm de anchura. Aparte de la anchura del torniquete, los otros factores que determinarán el valor de PVM son la presión ejercida durante la aplicación del mismo y las características individuales de la extremidad del paciente (Grice y col, 1986). Estas últimas no se pueden modificar, y la primera, se intentó mantener con la menor variabilidad posible en este trabajo, al ser aplicado por la misma persona en todas las ocasiones. Una vez posicionado el torniquete, no importa lo fuerte o rápido que se inyecte la solución, la PVM no puede ser excedida (Grice y col, 1986).

Por su parte, la PV alcanzada depende de la tasa y del punto de inyección, de la presencia o ausencia de exanguinación previa y del volumen de solución infundido. Grice y col (1986) observaron que tanto una tasa de infusión lenta, como la utilización de la exanguinación previa, reducen la probabilidad de alcanzar la PVM, independientemente del punto de infusión. Como en este trabajo se realizó la exanguinación previa de la extremidad y se realizó una infusión lenta de la solución (2 ml/min), la probabilidad de haber alcanzado el valor de PVM y, consiguientemente, haberse producido pérdidas a circulación sistémica, se puede considerar baja. El volumen de 60 ml administrado se ha comprobado que es adecuado para la perfusión de la porción distal de la extremidad equina (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001).

En ninguno de los caballos del presente estudio se detectó vancomicina en sangre sistémica de forma previa a la liberación del torniquete. A pesar de que la exactitud de las concentraciones plasmáticas de vancomicina no puede ser asegurada, al encontrarse en el límite de sensibilidad de la técnica de determinación, consideramos que aseguran la efectividad del torniquete empleado en el presente estudio. El límite de 2 µg/ml indica la concentración mínima de vancomicina que la técnica es capaz de determinar con una especificidad del 100 %. Sin embargo, la técnica detecta concentraciones inferiores, como lo demuestran las determinaciones realizadas para hallar la recta de regresión de la técnica en este trabajo. Se incluyeron soluciones con concentraciones desde 1 µg/ml y el grado de correlación de la recta ha sido muy satisfactorio ($r=0,991$). En otros estudios en los que utilizaron venda de Esmarch como torniquete, las técnicas de determinación poseían características similares, por lo que consideramos que los resultados son comparables

(Whitehair y col, 1992bc; Murpey y col, 1999; Navarre y col, 1999; Palmer y Hogan, 1999; Butt y col, 2001; Harriss y col, 2002).

Para conseguir una velocidad de infusión de 2 ml/min, se utilizó una bomba de infusión de fluidos intravenosos como lo han realizado otros autores (Whitehair y col, 1992bc; Scheuch y col, 2002; Harriss y col, 2002). En el caso de la infusión intraósea, debido a las altas presiones que se alcanzan en cavidad medular, el funcionamiento de la bomba de infusión es defectuoso (Whitehair y col, 1992bc). Se han descrito valores de presión máxima de 30 atmósferas (frente a presiones máximas < 1 atm en la técnica intravenosa), que hacen necesario el empleo de bombas de infusión de alta presión como los inyectores angiográficos utilizados en medicina humana (Whitehair y col, 1992bc). Estos dispositivos poseen un elevado coste económico, circunstancia que determinó su no disponibilidad. Consideramos que estas mismas razones económicas pueden limitar su disponibilidad práctica en situaciones clínicas, y en estudios experimentales y clínicos recientes, realizados en caballos, se ha descrito la administración intraósea de soluciones de forma manual con resultados satisfactorios (Butt y col, 2001; Kettner y col, 2003). En base a estas consideraciones, se determinó la utilización de un sistema manual de infusión intraósea, que fue realizado a una tasa (1ml/30s), equivalente a la administrada por la vía IV (2 ml/min), siempre por la misma persona, para reducir evitar posibles efectos individuales. Se utilizaron jeringas de pequeño volumen (10 cc) que permiten un mayor control de la infusión (Kettner y col, 2003). Estas jeringas se conectaron al tornillo canulado colocado en MTCIII a través de un prolongador de vía y una llave de tres vías, que permite su cierre y apertura voluntarios para impedir el reflujo. Consideramos que a pesar de diferencias metodológicas, los resultados de ambas técnicas son comparables, y que la técnica manual ofrece ventajas en condiciones experimentales y clínicas rutinarias, cuando no se dispone de inyectores de alta presión.

Las concentraciones de vancomicina alcanzadas en los diferentes puntos han mostrado que en todos los casos, el factor tiempo ejerce un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina, lo que quiere decir que la concentración de vancomicina varía de forma significativa a lo largo del tiempo.

La C_{max} de vancomicina se alcanza en el tiempo 45 min en las 2 articulaciones estudiadas (MTCF e IFD). Este momento representa el instante previo a la liberación del torniquete. Las figuras 20 y 21 muestran que la concentración de VCM en líquido sinovial asciende hasta alcanzar el máximo en el minuto 45 y, posteriormente, el nivel de VCM desciende. En otros estudios en caballos, la liberación del torniquete coincidía con la finalización de la infusión de la solución a perfundir, por lo que la C_{max} se alcanzaba al finalizar la infusión justo antes de la liberación del torniquete (Whitehair y col, 1992bc; Mattson y col, 2002). En estudios en los

que la solución se ha administrado en forma de bolo, el pico de concentración sinovial se alcanzaba en el minuto 10 ó 15, momentos que se correspondían con el primer muestreo (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001). En el caso de la amikacina, la Cmax sinovial parece que se alcanza en un tiempo inferior a 10 minutos (Butt y col, 2001).

Ambas técnicas de perfusión regional empleadas en este estudio han producido Cmax de amikacina en líquido sinovial en el mismo momento, (Butt y col, 2001; Harriss y col, 2002) situación que también se ha demostrado para la vancomicina. La administración IO en la cavidad medular de primera falange produce el pico de concentración sinovial más tarde que la técnica IV (Harriss y col, 2002). Si se considera la perfusión regional del tarso, la infusión de amikacina en la porción distal de la tibia o en la porción proximal del hueso metatarsiano III, producen Cmax más tarde que la PRIV en la vena safena (Scheuch y col, 2002). Factores fisicoquímicos del fármaco administrado, que determinen posibles afinidades o tendencias a acumulación, así como factores anatómicos de las estructuras involucradas, como por ejemplo el calibre de los vasos sanguíneos regionales o la distancia desde el punto de infusión, pueden estar determinando el momento en que se alcanza el pico de concentración (Scheuch y col, 2002).

No obstante, el hecho de que la Cmax de vancomicina en ambas cavidades sinoviales se alcance 15 minutos después de la finalización de la infusión de vancomicina, indica que la concentración de vancomicina en la red capilar de la membrana sinovial es mayor que la concentración en líquido sinovial, en el intervalo de tiempo entre los 30 y los 45 minutos. Por ello, el antibiótico continuó difundiendo hacia el interior de la cavidad articular con el fin de disminuir ese gradiente de concentración, originando niveles de vancomicina mayores en el tiempo 45 min, justo antes de la liberación del torniquete. Una vez liberado, la concentración sinovial en ambas articulaciones disminuyó progresivamente. Por tanto, en este estudio, el mantenimiento del torniquete por un período más prolongado que la duración de la perfusión, permitió alcanzar mayores niveles de vancomicina, en las cavidades sinoviales, en comparación con el caso en que el torniquete es liberado justo al finalizar la perfusión. De manera similar, cuando se administra cefazolina mediante PRIV en vacas, se recomienda mantener el torniquete durante 30-45 minutos tras su administración en bolo, ya que este es el tiempo que tarda en alcanzar la Cmax sinovial (Gagnon y col, 1994). Esta circunstancia es lógica debido a que el antibiótico alcanza las diferentes estructuras anatómicas mediante difusión pasiva desde el compartimento intravascular, en función del gradiente de concentración. Según describieron Navarre y col en bovinos (1999), la concentración de ceftiofur en el sistema vascular de la porción perfundida va disminuyendo progresivamente durante el mantenimiento del torniquete después de su administración en bolo. Por tanto, cabe pensar que justo al finalizar la infusión de la solución con el antibiótico, la concentración intravascular del mismo podría corresponderse con la concentración máxima en esa

localización. Además, en todos los caballos excepto en el nº 6 de la fase IV, la Cmax en MO se alcanza en el minuto 30, momento que coincide con la finalización de la perfusión. La concentración que se mide en las muestras de MO corresponde a la concentración en médula ósea, que es aspirada ya que está compuesta fundamentalmente por elementos sanguíneos. Alcanzar mayores concentraciones de antibiótico y mantenerlas elevadas de forma prolongada favorece la erradicación bacteriana, por lo tanto, en casos en que se realizan perfusiones regionales con antibióticos para el tratamiento de artritis infecciosas, sería recomendable el mantenimiento del torniquete por un período más prolongado que el tiempo de perfusión. El tiempo que se debería mantener dependerá de los factores que influyen en la difusión del mismo a través de los tejidos, entre ellos las características físico-químicas del fármaco, por lo que creemos serán diferentes para cada antibiótico, como lo muestran los estudios señalados sobre cefozolina y amikacina (Gagnon y col, 1994; Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001). En el caso de la vancomicina, no podemos concluir si los 15 minutos han sido suficientes o, si, por el contrario, el mantenimiento del torniquete por un período de tiempo mayor habría permitido alcanzar valores de Cmax en líquido sinovial superiores.

La Cmax de vancomicina en sangre sistémica se alcanzó en el tiempo 65 minutos, momento que coincide con el primer muestreo tras la liberación del torniquete. Posteriormente, la concentración plasmática de vancomicina va disminuyendo progresivamente, lo que lógicamente indica la eliminación del fármaco (Whitehair y col, 1992b).

Los niveles de vancomicina alcanzados en líquido sinovial de la articulación MTCF son sustancialmente mayores que los descritos tras la administración IV sistémica en caballos (Orsini y col, 1992). Se mantienen por encima de la CMI para *S. aureus* sensibles a vancomicina (CMI \leq 4 μ g/ml; Chambers, 2001b), durante prácticamente 24h, mientras que para conseguir este objetivo mediante administración sistémica, se requiere la administración de 3 dosis IV diarias (Orsini y col, 1992). El trabajo de Orsini y col (1992), es el único estudio en el que se ha evaluado la administración experimental de vancomicina en los caballos. Los autores no describieron el desarrollo de ningún efecto adverso debido a la vancomicina, sin embargo, no realizaron la administración repetida de vancomicina durante un período prolongado, que normalmente es necesario para el tratamiento de infecciones ortopédicas (McIlwraith, 1983). Las concentraciones plasmáticas descritas (Orsini y col, 1992) fueron muy superiores a las descritas en este trabajo tras la administración por perfusión regional.

En la articulación del menudillo, si bien durante las 24 horas del estudio las concentraciones de vancomicina conseguidas tras la administración IO fueron siempre superiores a las alcanzadas tras la técnica IV, las diferencias entre ambas fueron significativas únicamente en

el tiempo 24h. Los parámetros farmacocinéticos tampoco mostraron diferencias significativas, aunque el tiempo de vida media ($t_{1/2\beta}$), el área bajo la curva (AUC_{24}) y el tiempo medio de residencia (MRT_t) fueron mayores con la técnica intraósea. Por tanto, aunque ambas técnicas estarían indicadas, la técnica intraósea podría ofrecer alguna ventaja para el tratamiento de la artritis infecciosa del menudillo. La actividad bactericida de la vancomicina está determinada fundamentalmente por el parámetro $T > CMI$ (T =tiempo), que es mayor con la técnica IO; en nuestro trabajo, durante las 24 horas que dura el estudio. Por otro lado, Greenberg y col (1990), observaron una tasa bactericida de la vancomicina mayor al aumentar el parámetro C_{max}/CMI . Si se tiene en cuenta este aspecto, la actividad bactericida de ambas técnicas IV e IO sería similar, ya que la C_{max} en ambas técnicas ha sido prácticamente la misma ($80,179 \pm 37,802$ y $87,792 \pm 40,795$, para IV e IO, respectivamente).

En ambos casos, la actividad bactericida sería muy superior en magnitud y rapidez (Greenberg y col, 1990; Ackerman y col, 1992), a la conseguida tras la administración por vía intravenosa sistémica (Orsini y col, 1992), en donde para mantener de forma constante una concentración sinovial de vancomicina por encima de $2 \mu\text{g/ml}$, es necesaria la administración cada 8 horas, y los valores de C_{max} alcanzados en líquido sinovial son $< 10 \mu\text{g/ml}$ con la administración de $4,3-7,5 \text{ mg/kg}$ recomendada por los autores. El parámetro AUC_{24}/CMI en MTCF es 8 y 10 veces superior con las técnicas IV e IO respectivamente, en comparación con lo descrito por Orsini y col (1992). Por tanto, según Knudsen y col (2000), la perfusión regional con vancomicina ofrecería una mayor eficacia terapéutica que la administración sistémica.

Ambas técnicas IV e IO de perfusión regional con vancomicina satisfacen mejor que la administración sistémica los objetivos terapéuticos establecidos para el tratamiento con vancomicina que son alcanzar picos de concentración (C_{max}) $> 10-20$ veces la CMI del microorganismo, y, en segundo lugar, mantener la concentración de vancomicina $> CMI$ durante todo el intervalo (Edwards y Pancorbo, 1987), siendo éste mayor con la técnica intraósea. Con nuestros resultados y, de acuerdo con Cohen y col (2002), que observaron una respuesta clínica favorable con valores de $T > CMI$ de 84%, la realización de una perfusión regional (IV o IO) con 300 mg vancomicina cada 24 h, constituiría un plan de administración y dosificación adecuado. Sin embargo, sería necesaria la realización previos de estudios con infección experimental que lo comprobasen, ya que en condiciones sépticas, los niveles de antibiótico pueden ser diferentes (Nelson, 1971; Firth y col, 1988; Whitehair y col, 1992c).

Por otro lado, la administración de vancomicina por perfusión regional en las condiciones descritas, permite alcanzar concentraciones sinoviales superiores a la CMI descritas para los estafilococos con resistencia intermedia a la vancomicina (gérmenes VISA), y mantenerlas durante un tiempo prolongado. Estos gérmenes muestran valores de CMI de $8-16 \mu\text{g/ml}$ y representan un problema importante para su tratamiento (Sieradzki y col, 1999; Lowy, 2003).

Butt y col (2001) no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de amikacina alcanzadas en articulación MTCF entre las técnicas IV e IO. Sin embargo, sólo estudiaron las concentraciones del antibiótico durante 70 minutos y no realizaron el estudio de la cinética durante 24 h. En cambio, en ese estudio, los autores sí encontraron diferencias en los niveles de amikacina en la articulación IFD, siendo los niveles tras la perfusión IV significativamente superiores a los alcanzados tras la perfusión IO (Butt y col, 2001). Nuestros resultados concuerdan con ellos ya que, aunque nuestra Cmax no ha sido significativamente diferente, los niveles de vancomicina tras la PRIV han sido superiores a los de PRIO en todos los tiempos de muestreo y esta diferencia ha sido significativa en los tiempos 65 y 90 min. Los parámetros farmacocinéticos AUC₉₀ y MRT₉₀ han sido superiores en la técnica intravenosa, siendo la diferencia significativa en caso de MRT₉₀ (p= 0,031; Tabla 94). Por tanto, en las condiciones de este estudio, la técnica intravenosa de perfusión regional ofrece ventajas sobre la técnica IO para la perfusión de la articulación IFD.

Harriss y col (2002) obtuvieron una Cmax de amikacina en MTCF mayor tras la perfusión regional en la vena cefálica que con las técnicas intraóseas, aunque las diferencias no fueron significativas. En el caso del tarso, la PRIV ofrece niveles de amikacina en la articulación tibiotarsiana superiores a las alcanzadas con las técnicas IO en tibia distal o en metatarsiano proximal, siendo significativas las diferencias entre cada una de las 2 primeras técnicas con la última IO (Scheuch y col, 2002).

Nuestros resultados muestran que la cavidad medular de la primera falange es perfundida de manera similar con ambas técnicas, alcanzando niveles de vancomicina en médula ósea altamente satisfactorios. No conocemos ningún trabajo que haya realizado un estudio de las concentraciones en esta localización tras la administración de un antibiótico por perfusión regional. Sí existen trabajos sobre las concentraciones alcanzadas en huesos como el de Muphey y col (1999), que estudiaron los niveles de amikacina alcanzados tras la administración por perfusión regional IV en los huesos sesamoideo distal y en tercera falange 1 hora después de la realización de la perfusión. Mattson y col (2002b) determinaron niveles de gentamicina en muestras de los huesos metacarpiano III, las tres falanges y los sesamoideos proximales y distal. En ambos trabajos, los niveles observados fueron muy inferiores a los de líquido sinovial. Se debe señalar que estas concentraciones fueron medidas a partir de un homogeneizado de la muestra, por tanto mezclando componentes intra y extracelulares. Algunos autores señalan que los niveles que interesan son aquellos en el líquido extracelular, no en el espacio intracelular y que, la homogenización de la muestra de tejido óseo origina sobre- o sub-estimaciones según la afinidad del antibiótico por acumularse en el interior celular o no, respectivamente (Fitzgerald, 1984).

Los primeros autores que aplicaron la perfusión regional para el tratamiento de procesos infecciosos recomendaban la infusión de la solución de antibiótico desde un punto distal al foco de infección ya que se realizaba de forma IV y el antibiótico se distribuía a través del sistema venoso (Finsterbush y col, 1972). Los siguientes autores mantuvieron esta indicación, pero según nuestro trabajo y los de otros autores (Murphey y col, 1999; Butt y col, 2001; Scheuch y col, 2002), la perfusión regional tanto intravenosa como intraósea permite la consecución de niveles satisfactorios del fármaco administrado en estructuras sinoviales y óseas distales al punto en el que se realiza la infusión. Nuestros resultados demuestran que la primera falange es perfundida mediante la infusión por perfusión regional desde un punto proximal, ya sea por vía IV o IO, alcanzándose además, concentraciones de vancomicina en cavidad medular muy próximas y que siguen una farmacocinética similar. Esta observación coincide con Mattson y col (2002a) que observaron que la distribución del radiofármaco Tecnecio 99m era similar tras su administración por perfusión regional con las técnicas IV e IO empleadas en este estudio.

Las concentraciones de vancomicina y los parámetros farmacocinéticos en sangre sistémica han sido muy similares, no existiendo ninguna diferencia significativa entre las dos técnicas. Aunque el análisis estadístico mostró que el tiempo ejerce un efecto significativo sobre la concentración de vancomicina, no consideramos de interés el estudio de estos niveles desde el punto de vista farmacológico debido al rango tan bajo en el que se encuentran.

En nuestro trabajo hemos comparado las concentraciones de vancomicina alcanzadas en las articulaciones MTCF e IFD, ambas localizadas dentro de la zona sometida a la perfusión. En el estudio IV, la concentración de vancomicina en ambas articulaciones varía de forma significativamente diferente, tanto de forma global como para cada uno de los intervalos intermuestreo. Además, la evolución de la variación de la concentración de vancomicina en cada una de las 2 articulaciones ha sido significativamente diferente en el primer tramo intermuestreo ($p = 0,044$; tabla 74). En este tramo (entre tiempos 00 y 15 min), el incremento de concentración ha sido significativamente mayor en la articulación IFD que en la MTCF, como se puede observar en la Fig. 42. Esto ha originado que la concentración de vancomicina en la articulación IFD haya sido significativamente superior para los tiempos 15 y 30 min ($p=0,044$ y $p=0,021$; tabla 78, respectivamente). Por tanto, en conclusión, la concentración de vancomicina en la articulación IFD aumenta de forma más rápida y alcanza niveles mayores que en el caso de MTCF.

Por su parte, en la fase IO, el tiempo también ejerce un efecto significativo sobre la variación de la concentración de vancomicina de forma global. Sin embargo, esta variación no es significativamente diferente para cada articulación ni de forma global, ni en ninguno de los

tramos intermuestreo. En este caso, los valores medios de concentración de vancomicina en ambas articulaciones comienzan siendo mucho más aproximados que en el estudio IV, pero al contrario que en éste, la Cmax en MTCF es superior con la técnica IO, aunque la diferencia no es significativa. En este caso, la concentración de vancomicina en ambas articulaciones aumenta de forma más parecida que tras la administración intravenosa. La PRIO con gentamicina en caballos en la estación también produjo una Cmax mayor en MTCF en comparación con IFD (Mattson y col, 2002b). En nuestro estudio, a partir del minuto 45 la concentración de vancomicina en ambas articulaciones disminuye de manera similar (valores $p > 0,05$; tabla 79: interacción tiempo*articulación), manteniéndose las concentraciones en MTCF por encima de las de IFD hasta el minuto 90 que termina el estudio, aunque las diferencias no fueron significativas (Fig. 43).

En el resto de estudios, no se ha realizado la comparación estadística de los niveles de antibiótico entre las diferentes articulaciones. Murphey y col (1999) describieron que la PRIV producía concentraciones de amikacina superiores en la articulación MTCF que en IFD. En el trabajo de Butt y col (2001) las menores concentraciones de amikacina en IFD se obtuvieron con la técnica IO. Sin embargo, aunque ninguno de los 2 trabajos comparaba estadísticamente los resultados, las diferencias no parecen significativas por la gran variabilidad de los resultados.

Aunque no se hayan observado diferencias significativas, nuestros resultados y los obtenidos por el resto de autores parecen indicar que la técnica intraósea de perfusión regional produce menores concentraciones de antibiótico en la articulación IFD que en MTCF, y menores que los que se alcanzan con la técnica IV. Por lo tanto, para el tratamiento de infecciones localizadas en la articulación IFD, estaría recomendada la administración de antibiótico por vía intravenosa. No obstante, serían necesarios más trabajos comparativos que ayudasen a aclarar este aspecto, ya que consideramos que numerosos factores podrían influir con los resultados. Posiblemente, el mantenimiento del torniquete por un periodo de tiempo más prolongado, permitiría alcanzar una mayor Cmax en la articulación IFD, ya que las concentraciones de un fármaco en los diferentes tejidos tienden a alcanzar un equilibrio con la concentración en el compartimento intravascular siguiendo la ley de Fick (Katzug, 2001). El tiempo que tarda cada uno de los tejidos o compartimentos en alcanzar ese estado de equilibrio estará en función de las características fisicoquímicas del fármaco y de la membrana a través de la cuál difunde. La ley de Fick señala que la tasa de difusión a través de una membrana, en este caso sinovial, será mayor cuanto mayor sea el gradiente de concentración, mayor sea la superficie de la membrana y menor el espesor de ésta (Katzug, 2001). Si se considera que el gradiente de concentración es el mismo para las articulaciones incluidas en la región sometida a perfusión, y las características de membrana sinovial también, el tiempo que cada articulación tarda en alcanzar ese equilibrio, dependerá de la

proporción entre la superficie de la membrana sinovial y el volumen de líquido sinovial intraarticular. Sin embargo, cada una de las técnicas de perfusión (IV e IO), parece producir niveles mayores en cada una de las articulaciones. Por tanto, no parece que la causa sea debida a las características anatómicas de la articulación, sino más bien, las características propias de cada técnica. En este sentido, el hecho de realizar la cateterización de la vena digital palmar a nivel del hueso sesamoideo proximal con un catéter de 2,5 cm, podría estar favoreciendo en un principio, la perfusión de las estructuras más distales en comparación con la infusión en la cavidad medular del hueso MTCIII. El catéter se introduce al nivel de la articulación MTCF, pero el extremo del mismo se localiza 2,5 cm en posición más distal al punto de cateterización y, además, la solución es administrada a presión mediante una bomba de infusión.

En cambio, en el caso de la técnica IO, la solución se infunde en la cavidad del hueso MTCIII, situado en posición proximal a la articulación MTCF. En este caso, por efecto de la alta presurización a que es sometida la cavidad medular, la solución infundida se supone debe abandonar la cavidad medular a través de capilares en toda la circunferencia del hueso, de forma similar a la descrita por Whitehair y col (1992b) para el carpo. Como consecuencia, la articulación MTCF es perfundida desde un primer momento de una forma más íntegra que con la técnica IV. Estudios con contraste han mostrado una mayor densidad de material radiopaco en el sistema venoso que rodea la región del tarso después de su administración IV en la vena safena, que cuando se administra vía IO en la porción distal de la tibia o en el extremo proximal del metatarsiano (Scheuch y col, 2002). Sin embargo, las radiografías fueron realizadas únicamente antes de la liberación del torniquete. Palmer y Hogan (1999) mostraron que la PRIV en la vena digital ofrecía una perfusión completa de la vascularización digital en unos segundos tras su inyección. Ambas técnicas de perfusión con Tecnecio 99m han mostrado grados de radioactividad similares (Mattson y col, 2002a), lo que indicaría que la distribución del compuesto radiactivo es similar para las dos vías de administración.

Teniendo en cuenta que la actividad bactericida de la vancomicina depende fundamentalmente del parámetro farmacodinámico $T > CMI$, se puede concluir que las concentraciones de vancomicina alcanzadas en la articulación metacarpofalángica mantiene el $T > CMI$ durante casi 24 h tras la administración de vancomicina por vía regional IV, y durante 24 h para la perfusión regional por vía IO; en ambos casos $> 84\%$ señalado por Cohen y col (2002). Estas condiciones favorecerían el tratamiento de artritis infecciosa por microorganismos SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) cuyas CMI descritas en la literatura varían entre 1-2 $\mu\text{g/ml}$, y permitirían la realización de perfusiones regionales con una frecuencia diaria. La vía IO mantiene concentraciones finales de vancomicina mayores a la vía IV, por lo que estaría más indicada para el tratamiento de una

artritis infecciosa de la articulación del menudillo; sin embargo, la vancomicina presenta efectos antibacterianos post-antibióticos que posiblemente posibilitarían la realización de perfusiones regionales por vía IV con frecuencia diaria para el tratamiento de esa patología manteniendo la efectividad del mismo. En cambio, en el caso de la articulación IFD, la técnica IV consigue concentraciones de vancomicina mayores y más mantenidas que la técnica IO, por lo que quizás para infecciones distales al punto de infusión estaría más indicada la realización de una perfusión regional por vía intravenosa que intraósea.

A la vista de los resultados y tras la discusión de los mismos con los aportados por otros autores se puede concluir que la perfusión regional de la porción distal de la extremidad del caballo con 300 mg de vancomicina en las condiciones descritas en el presente estudio, produce concentraciones satisfactorias en las estructuras sinoviales y en la cavidad medular de la primera falange. Estas concentraciones son superiores a los valores de CMI descritos para organismos infecciosos como los *S. aureus* meticilina-resistentes, que plantean problemas para su tratamiento debido al alto grado de resistencia frente a numerosos antibióticos. Por tanto, y teniendo en cuenta la ausencia de desarrollo de efectos adversos ejercidos por la vancomicina, consideramos que la PR con vancomicina es una posibilidad terapéutica para el tratamiento de infecciones clínicas. No obstante, consideramos la vancomicina como un agente antibiótico a utilizar sólo en casos en que se haya descartado previamente la posibilidad de utilización de otros quimioterápicos, ya que el desarrollo de nuevas resistencias frente a la vancomicina representa un riesgo para la salud animal y humana.

Conclusiones

De nuestros resultados y en las condiciones en las que el trabajo ha sido realizado, se desprenden las siguientes conclusiones:

1. La administración de 300 mg de vancomicina mediante perfusión regional de la porción distal de la extremidad del caballo, no presenta consecuencias adversas clínicamente evidentes tanto a nivel local como a nivel regional, sobre los tejidos directamente expuestos a altas concentraciones del fármaco. Ambas técnicas de perfusión, intravenosa e intraósea, muestran una seguridad clínica loco-regional similar.
2. La perfusión regional con 300 mg de vancomicina evita los riesgos de desarrollo de efectos tóxicos a nivel sistémico. Este hecho se produce de forma similar con ambas técnicas intravenosa e intraósea, de perfusión.
3. Ambas técnicas de perfusión regional consiguen concentraciones de vancomicina en estructuras sinoviales y medulares, que podrían ser adecuadas para el tratamiento de procesos infecciosos localizados en estos puntos y originados por microorganismos sensibles a la vancomicina, como es el caso de *S. aureus* meticilina-resistente.
4. La técnica intravenosa de perfusión regional permite conseguir mayores niveles de vancomicina en la articulación interfalángica distal, por lo que sería recomendable su utilización en procesos infecciosos de esta articulación.
5. La técnica intraósea de perfusión regional mantiene niveles de vancomicina más altos durante más tiempo en la articulación metacarpofalángica, por lo que sería recomendable su utilización en infecciones de esta articulación.
6. La administración de vancomicina por perfusión regional ofrece una alternativa terapéutica para el tratamiento de aquellas infecciones cuyo tratamiento mediante la administración sistémica de vancomicina plantea una limitación económica.

Referencias bibliográficas

- Abdelnour** A, Arvidson S, Bremell T, Ryden C, Tarkowski A. The accessory gene regulator (*agr*) controls *Staphylococcus aureus* virulence in a murine arthritis model. *Infect Immun* 1993a;61(9):3879-85.
- Abdelnour** A, Tarkowski A. Polyclonal B-cell activation by an arthritogenic *Staphylococcus aureus* strain: contribution of T-cells and monokines. *Cell Immunol* 1993b;147(2):279-93.
- Abrahamsen** E, Hellyer PW, Bednarski RM, Hubbell JA, Muir WW 3rd. Tourniquet-induced hypertension in a horse. *J Am Vet Med Assoc* 1989;194(3):386-8.
- Ackerman** BH, Vannier AM, Eudy EB. Analysis of vancomycin time-kill studies with *Staphylococcus* species by using a curve stripping program to describe the relationship between concentration and pharmacodynamic response. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36(8):1766-9.
- Adair** HS, Goble DO, Vanhooser S, Blackford JT. Evaluation of use of dimethyl sulfoxide for intraarticular lavage in clinically normal horses. *Am J Vet Res* 1991;52(2):333-6.
- Adams** SB. Tourniquets. En: White II NA, Moore JN, editores. *Current techniques in equine surgery and lameness*. 2^a ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 385-9.
- Aldridge** KE, Gelfand MS, Schiro DD, Barg NL. The rapid emergence of fluoroquinolone-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in a community hospital. An *in vitro* look at alternative antimicrobial agents. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992;15(7):601-8.
- Antalovsky** A. Technika mistni mitrozilin na distalinch castech koncetin u skotu. *Vet Med (Prag)* 1965;7:413-20.
- Anzai** T, Kamada M, Kanemaru T, Sugitaa S, Shimizu A, Higuci T. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from mares with metritis and its zoonoepidemiology. *J Equine Sci* 1996;7:7-11.
- Archer** GL, Pennell E. Detection of methicillin resistance in staphylococci by using a DNA probe. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34(9):1720-4.
- Arias** CA, Courvalin P, Reynolds PE. vanC cluster of vancomycin-resistant *Enterococcus gallinarum* BM4174. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(6):1660-6.
- Avemann** M. Prüfung des von Antalovsky angegebenen Verfahrens zur intravenösen regionalen Betäubung im Zehenbereich des Rindes auf seine praktische Brauchbarkeit. [Tesis]. Hannover. Tierärztliche Hochschule Hannover; 1974.
- Barber** M. Methicillin-resistant staphylococci. *J Clin Pathol* 1961;14:385-93.
- Bates** J, Jordens JZ, Griffiths DT. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *J Antimicrob Chemother* 1994;34(4):507-14.

- Baxter** GM, Turner AS. Diseases of bone and related structures. En: Stashack TS, editor. Adams' lameness in horses. 5ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 401-50.
- Baxter** GM. Instrumentation and techniques for treating orthopedic infections in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1996;12(2):303-35.
- Belknap** JK, Baxter GM, Nickels FA. Extensor tendon lacerations in horses: 50 cases (1982-1988). *J Am Vet Med Assoc* 1993;203(3):428-31.
- Beluche** LA, Bertone AL, Anderson DE, Kohn CW, Weisbrode SE. *In vitro* dose-dependent effects of enrofloxacin on equine articular cartilage. *Am J Vet Res* 1999;60(5):577-82.
- Benoit** MA, Mousset B, Delloye C, Bouillet R, Gillard J. Antibiotic-loaded plaster of Paris implants coated with poly lactide-co-glycolide as a controlled release delivery system for the treatment of bone infections. *Int Orthop* 1997;21(6):403-8.
- Bergamini** TM, Polk HC Jr. Pharmacodynamics of antibiotic penetration of tissue and surgical prophylaxis. *Surg Gynecol Obstet* 1989;168(3):283-9.
- Bertazzoni** Minelli E, Caveiari C, Benini A. Release of antibiotics from polymethylmethacrylate cement. *J Chemother* 2002;14(5):492-500.
- Bertone** AL, Caprile KA, Davis DM. Serum and synovial concentrations of gentamicin administered chronically to horses with experimentally-induced infectious arthritis [abstract]. *Vet Surg* 1990;19:57.
- Bertone** AL, Davis DM, Cox HU, Kamerling SS, Roberts ED, Caprile KA et al. Arthrotomy versus arthroscopy and partial synovectomy for treatment of experimentally induced infectious arthritis in horses. *Am J Vet Res* 1992;53:585-91.
- Bertone** AL, McIlwraith CW, Jones RL, Norrdin RW, Radin MJ, Lebel JL. Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis. *Am J Vet Res* 1987;48(3):519-29.
- Bertone** AL, Palmer JL, Jones J. Synovial fluid inflammatory mediators as markers of equine synovitis. *Vet Surg* 1993;22:372-3.
- Bertone** AL. Infectious arthritis. En: McIlwraith CW, Trotter GW, editores. Joint disease in the horse. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1996. p. 397-409.
- Bertone** AL. Infectious arthritis. En: MW Ross & SJ Dyson, editores. Diagnosis and management of lameness in the horse. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2003. p. 598-605.
- Bertone** AL. Update on infectious arthritis in horses. *Equine vet Educ* 1999;11(3):143-52.
- Bier** A. Über einen neuen Weg Localanästhesie an den Gliedmassen zu erzeugen. *Arch klin Chir* 1908;86:1007-16.
- Blaser** J, Stone BB, Groner MC, Zinner SH. Comparative study with enoxacin and netilmicin in a pharmacodynamic model to determine importance of ratio of antibiotic peak concentration

to MIC for bactericidal activity and emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31(7):1054-60.

Blass CE, Moore BW. The tourniquet in surgery: A review. *Vet Surg* 1984;13:111-4.

Blockey NJ. Osteomyelitis in children. *Equine Vet J* 1983;15(1):10-3.

Bloom JD, Fitzgerald RH Jr, Washington JA 2nd, Kelly PJ. The transcapillary passage and interstitial fluid concentration of penicillin in canine bone. *J Bone Joint Surg Am* 1980;62(7):1168-75.

Bloom W, Fawcett DW. Bone. En: *A Textbook of Histology*. 10^a ed. Philadelphia: WA Saunders Co; 1975. p. 244-50.

Booth LC, Feeney DA. Superficial osteitis and sequestrum formation as a result of skin avulsion in the horse. *Vet Surg* 1982;11:2.

Booth TM, Butson RJ, Clegg PD, Schramme MC, Smith RK. Treatment of sepsis in the small tarsal joints of 11 horses with gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Vet Rec* 2001;148(12):376-80.

Bramlage LR. Infection of Bones and Joints. Proceedings of the 44^o Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1998 Dic 6-9; Baltimore, EEUU.

Bremell T, Abdelnour A, Tarkowski A. Histological and serological progression of experimental *Staphylococcus aureus* arthritis. *Infect Immun* 1992;60:2976-85.

Brewer B, Koterba A. Bacterial isolates and susceptibility patterns in a neonatal intensive care unit. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1990;12:1773-81.

Brown MP. Antimicrobial selection and advances. Proceedings of the 5th Annual Veterinary Symposium of the American College of Veterinary Surgeons; 1995 Oct-Nov; Chicago, IL, EEUU.

Brumbaugh GW. Adverse drug reactions and interactions in the horse. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2001;17(3):445-53.

Brumbaugh GW. Antimicrobial therapy of adult horses with emergency conditions. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1994;10(3):527-34.

Budsberg SC, Kemp DT. Antimicrobial distribution and therapeutics in bone. *The Compendium Small Animal* 1990;12(12):1758-62.

Burgess DS. Pharmacodynamic principles of antibiotic therapy and the prevention of resistance. *Chest* 1999;115:19S-23S.

Butson RJ, Schramme MC, Garlick MH, Davies JV. Treatment of intrasynovial infection with gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Vet Rec* 1996;138(19):460-4.

Butt TD, Bailey JV, Dowling PM, Fretz PB. Comparison of 2 techniques for regional antibiotic delivery to the equine forelimb: intraosseous perfusion vs. intravenous perfusion. *Can Vet J* 2001;42(8):617-22.

- Cars** O, Odenholt-Tornqvist I. The post-antibiotic sub-MIC effect in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother* 1993;31 Suppl D:159-66.
- Cawston** T, McLaughlan P, Coughlan R, Kyle V, Hazleman B. Synovial fluids from infected joints contain metalloproteinase--tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) complexes. *Biochim Biophys Acta* 1990;1033(1):96-102.
- Cefai** C, Ashurst S, Owens C. Human carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* linked with pet dog. *Lancet* 1994;344(8921):539-40.
- Chambers** HF. Antimicrobial agents: general considerations. En: JG Hardman y LE Limbird, Goodman & Gilman, editores. *The pharmacological basis of therapeutics*. 10ª ed. Nueva York: McGrawHill; 2001a. p. 1143-70.
- Chambers** HF. Antimicrobial agents: protein síntesis inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. En: JG Hardman y LE Limbird, Goodman & Gilman, editores. *The pharmacological basis of therapeutics*. 10ª ed. Nueva York: McGrawHill; 2001b. p. 1240-72.
- Chan** PS, Naranja RJ, Klimkiewicz JJ, Heppenstall RB. Compartment syndrome after isolated perfusion of the leg: a case report. *Am J Orthop* 1997;26(5):369-70.
- Chan** YS, Ueng SW, Wang CJ, Lee SS, Chao EK, Shin CH. Management of small infected tibial defects with antibiotic-impregnated autogenic cancellous bone grafting. *J Trauma* 1998;45(4):758-64.
- Chastagner** P, Lozniewski A, Lascombes P, Barberi-Heyob M, Merthes PM, Merlin JL. Pharmacokinetic longitudinal studies of antibiotics administered via a permanent intraosseous device in micropigs. *Med Pediatr Oncol* 2001;36(6):635-40.
- Clark-Price** SC, Rush BR, Gaughan EM, Cox JM. Osteomyelitis of the pelvis caused by *Rhodococcus equi* in a two-year-old horse. *J Am Vet Med Assoc* 2003;222(7):969-72.
- Climo** MW, Patron RL, Archer GL. Combinations of vancomycin and beta-lactams are synergistic against staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(7):1747-53.
- Cohen** E, Dadashev A, Drucker M, Samra Z, Rubinstein E, Garty M. Once-daily versus twice-daily intravenous administration of vancomycin for infections in hospitalized patients. *J Antimicrob Chemother* 2002;49(1):155-60.
- Cohen** ND. Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals. *J Am Vet Med Assoc* 1994;204:1644-51.
- Cook** VL, Bertone AL, Kowalski JJ, Weisbrode SE. Gentamicin-impregnated biodegradable polymer for the treatment of equine joint infection in vivo: preliminary study. *Vet Surg* 1997;26:411-2.
- Cook** VL, Bertone AL, Kowalski JJ. Biodegradable drug delivery systems for gentamicin release and treatment of synovial membrane infection. *Vet Surg* 1999;28:233-41.

- Copland** VS, Hildebrand SV, Hill T 3rd, Wong P, Brock N. Blood pressure response to tourniquet use in anaesthetised horses. *J Am Vet Med Assoc* 1989;195(8):1097-103.
- Craig** WA, Ebert SC. Killing and regrowth of bacteria in vitro: a review. *Scand J Infect Dis Suppl* 1990;74:63-70.
- Craig** WA, Gudmunsson S. Postantibiotic effect. En : Lorian V, editor. *Antibiotics in laboratory medicine*. 4^a ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1996. p. 296-329.
- Craig** WA, Redington J, Ebert SC. Pharmacodynamics of amikacin in vitro and in mouse thigh and lung infections. *J Antimicrob Chemother* 1991;27 Suppl C:29-40.
- Craig** WA. Kinetics of antibiotics in relation to effective and convenient outpatient parenteral therapy. *Int J Antimicrob Agents* 1995;5:19-22.
- Craig** WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998;26(1):1-10.
- Cruz** A. "Poliartritis y osteomielitis". *Jornadas Técnicas Veterinarias del Salón Internacional del Caballo*; 1999. Sevilla, España.
- Cunha** BA, Gossling HR, Pasternak HS, Nightingale CH, Quintiliani R. The penetration characteristics of cefazolin, cephalothin, and cephradine into bone in patients undergoing total hip replacement. *J Bone Joint Surg Am* 1977;59(7):856-9.
- Cunha** BA, Ristuccia AM. Clinical usefulness of vancomycin. *Clin Pharm* 1983;2(5):417-24.
- Curtiss** PH, Cline L. Destruction of articular cartilage in septic arthritis. II. *In vivo* studies. *J Bone Joint Surg [Am]* 1965;47:1595-604.
- Cutler** NR, Narang PK, Lesko LJ, Ninos M, Power M. Vancomycin disposition: the importance of age. *Clin Pharmacol Ther* 1984;36(6):803-10.
- Daniel** D, Akerson W, Amiel D, Ryder M, Boyer J. Lavage of septic joints in rabbits: Effect of chondrolysis. *J Bone Joint Surg [Am]* 1976;58:393-5.
- Davies** J, Gray G. Evolutionary relationships among genes for antibiotic resistance. *Ciba Found Symp* 1984;102:219-32.
- Davis** RL, Smith AL, Koup JR. The "red man's syndrome" and slow infusion of vancomycin. *Ann Intern Med* 1986;104(2):285-6.
- de Lalla** F, Novelli A, Pellicer G, Milocchi F, Viola R, Rigoni A, et al. Regional and systemic prophylaxis with teicoplanin in monolateral and bilateral total knee replacement procedures: study of pharmacokinetics and tissue penetration. *Antimicrobial Agents Chemother* 1993;37(12):2693-8.
- de Lalla** F, Viola R, Pellicer G, Lazzarini L, Tramarin A, Fabris P. Regional prophylaxis with teicoplanin in monolateral or bilateral total knee replacement: an open study. *Antimicrobial Agents Chemother* 2000;44(2):316-9.

- Deighton** C. Beta haemolytic streptococci and reactive arthritis in adults. *Ann Rheum Dis* 1993;52(6):475-82.
- Devriese** LA, Van Damme LR, Fameree L. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl Veterinarmed B* 1972;19(7):598-605.
- Dietz** O, Gängel H, Woborill J. Die intravenöse lokale Antibiotikatherapie bei infektiösen Erkrankungen im Zehenbereich des Rindes. *Mh Vet-Med* 1980;35:729-34.
- Dietz** O, Kehnscherper G. Intravenöse Stauungsantibiose bei pyogenen Infektionen der distalen Gliedmassenabschnitte des Pferdes. *Der praktische Tierarzt* 1990;8:30-3.
- DiPiro** JT, Edmiston CE Jr, Bohnen JM. Pharmacodynamics of antimicrobial therapy in surgery. *Am J Surg* 1996;171(6):615-22.
- Drusano** GL. Role of pharmacokinetics in the outcome of infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32(3):289-97.
- Dubost** JJ, Fis I, Denis P, Lopitiaux R, Soubrier M, Ristori JM, et al. Polyarticular septic arthritis. *Medicine (Baltimore)*. 1993;72(5):296-310.
- Eagle** H, Musselman ASD. The slow recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *Journal of Bacteriology* 1949;58:475-80.
- Edwards** DJ, Pancorbo S. Routine monitoring of serum vancomycin concentrations. Waiting for proof of its value. *Clin Pharm* 1987;6:652-4.
- Edwards** GB, Vaughan LC. Infective arthritis of the elbow joint in horses. *Vet Rec* 1978;103(11):227-9.
- El-Hassan** KM, Hutton P, Black AM. Venous pressure and arm volume changes during simulated Bier's block. *Anaesthesia* 1984;39(3):229-35.
- Ellington** JK, Reilly SS, Ramp WK, Smeltzer MS, Kellam JF, Hudson MC. Mechanisms of *Staphylococcus aureus* invasion of cultured osteoblasts. *Microbial Pathogenesis* 1999;26:317-23.
- Emori** TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993;6(4):428-42.
- Fantin** B, Ebert S, Leggett J, Vogelmann B, Craig WA. Factors affecting duration of *in vivo* postantibiotic effect for aminoglycosides against gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother* 1991;27(6):829-36.
- Farber** BF, Moellering RC Jr. Retrospective study of the toxicity of preparations of vancomycin from 1974 to 1981. *Antimicrob Agents Chemother* 1983;23(1):138-41.
- Farnsworth** KD, White NA 2nd, Robertson J. The effect of implanting gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads in the tarsocrural joint of the horse. *Vet Surg* 2001;30(2):126-31.

- Ferrán Aranaz M.** SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico. McGraw Hill, 1996.
- Fessl L, Awad-Masalmeh M.** Antibiotische Versorgung der distalen Extremitäten beim Rind mittels Applikation in eine gestaute Digitalvene. *Wien tierärztl Mschr* 1975;62(2):51-3.
- Finsterbusch A, Weinberg H.** Venous perfusion of the limb with antibiotics for osteomyelitis and other chronic infections. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1972;54-A(6):1227-1234.
- Finsterbusch A, Argaman M, Sacks T.** Bone joint perfusion with antibiotics in the treatment of experimental Staphylococcal infection in rabbits. *J Bone Joint Surg* 1970;52-A(7):1424-32.
- Firth EC, Dik KJ, Goedegebuure SA, et al.** Polyarthritis and bone infection in foals. *Zentralbl Veterinarmed [B]* 1980;27:102-24.
- Firth EC, Klein WR, Nouws JF, Wensing T.** Effect of induced synovial inflammation on pharmacokinetics and synovial concentration of sodium ampicillin and kanamycin sulfate after systemic administration in ponies. *J Vet Pharmacol Ther* 1988;11(1):56-62 .
- Firth EC, Poulos PW.** Microangiographic studies of metaphyseal vessels in young foals. *Res Vet Sci* 1983a;34:231-5.
- Firth EC.** Current concepts in infectious polyarthritis in foals. *Equine Vet J* 1983b;15:5-9.
- Firth EC.** Infectious arthritis in foals. En: White NA and Moore JN, editores. *Current practice of equine surgery*. Philadelphia: JB Lippincott Co; 1990. p. 577-85.
- Firth EC.** Specific orthopedic infections. En: Auer JA, editor. *Equine Surgery*. Philadelphia: WB Saunders; 1992. p. 932.
- Fischer HP.** Therapy-induced tumor regression. Morphological findings in malignant primary and secondary liver tumors following intensive regional cytostatic treatment. *Pathologe* 1985;6(1):16-23.
- Fitzgerald RH Jr.** Antibiotic distribution in normal and osteomyelitic bone. *Orthop Clin North Am* 1984;15(3):537-46.
- Fitzgerald RH Jr.** Antimicrobial therapy for the musculoskeletal system. *Instr Course Lect* 1982;31:1-9.
- Foley JP, Legendre AM.** Treatment of coccidioidomycosis osteomyelitis with itraconazole in a horse. A brief report. *J Vet Intern Med* 1992;6(6):333-4.
- Francioli M, Bille J, Glauser MP, Moreillon P.** Beta-lactam resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1991;163(3):514-23.
- Frank L.** Clinical pharmacology of rifampin. *J Am Vet Med Assoc* 1990;197:114-7.
- Friedland IR, McCracken GH Jr.** Management of infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med* 1994;331(6):377-82.

- Gagnon H**, Ferguson JG, Papich MG, Bailey JV. Single-dose pharmacokinetics of cefazolin in bovine synovial fluid after intravenous regional injection. *J Vet Pharmacol Ther* 1994;17(1):31-7.
- Gambarotto K**, Ploy MC, Turlure P, Grelaud C, Martin C, Bordessoule D, et al. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing area of France. *J Clin Microbiol* 2000;38(2):620-4.
- García DC**, Woloj GM, Pineiro S, Sordelli DO, Kaufman S. An 8-year study of resistance to amikacin in gram-negative bacilli isolates from patients with nosocomial infection at one hospital in Argentina. *J Med Microbiol* 1995;42(4):283-90.
- Garrett DO**, Jochimsen E, Murfitt K, Hill B, McAllister S, Nelson P, et al. The emergence of decreased susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20(3):167-70.
- Gerberding JL**, Miick C, Liu HH, Chambers HF. Comparison of conventional susceptibility tests with direct detection of penicillin-binding protein 2a in borderline oxacillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35(12):2574-9.
- Ghosal NG**. Heart and arteries. En: Sisson y Grossman, editores. *The anatomy of the domestic animals*. Philadelphia: W.B.Saunders; 1975. p. 591-618.
- Gibaldi M**, McNamara PJ. Apparent volumes of distribution and drug binding to plasma proteins and tissues. *Eur J Clin Pharmacol* 1978;13(5):373-80.
- Gibson KT**, McIlwraith CW, Turner AS, Stashak TS, Aanes WA, Trotter GW. Open joint injuries in horses: 58 cases (1980-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1989;194:398-404.
- Giguere S**, Sweeney RW, Belanger M. Pharmacokinetics of enrofloxacin in. Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *Am J Vet Res* 1996;57:1025-30.
- Goldenberg DL**. "Postinfectious arthritis": a new look at old concept with particular attention to disseminated gonococcal infection. *Am J Med* 1983;74:925-8.
- Goldenberg DL**. Septic arthritis. *Lancet* 1998;351(9097):197-202.
- Golenz MR**, Carlson GP, Madigan JE, Craychee T. Preliminary report: the development of an intraosseous infusion technique for neonatal foals. *J Vet Intern Med* 1993;7(6):377-82.
- González-Zorn B**, Courvalin P. vanA-mediated high level glycopeptide resistance in MRSA. *Lancet Infect Dis* 2003;3:67-8.
- Gottlob R**. Endothelschäden nach intravasalen Injektionen und Infusionen. *Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für pathologie* 1972;56:563-565.
- Green SL**, Conlon PD. Clinical pharmacokinetics of amikacin in hypoxic premature foals. *Equine Vet J* 1993;25(4):276-80.

- Greenberg** RN, Benes CA. Time-kill studies with oxacillin, vancomycin, and teicoplanin versus *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 1990;161(5):1036-7.
- Greene** N, Holtom PD, Warren CA, Ressler RL, Shepherd L, McPherson EJ, et al. *In vitro* elution of tobramycin and vancomycin polymethyl-methacrylate beads and spacers from Simplex and Palacos. Am J Orthop 1998;27:201-5.
- Greenwood** D. In vitro veritas? Antimicrobial susceptibility tests and their clinical relevance. J Infect Dis 1981;144(4):380-5.
- Grice** SC, Morell RC, Balestrieri FJ, Stump DA, Howard G. Intravenous regional anesthesia: evaluation and prevention of leakage under the tourniquet. Anesthesiology 1986;65(3):316-20.
- Grimer** RJ, Karpinski JM, Wise R. Penetration of amoxycillin and clavulanic acid into bone. Chemotherapy 1986;32:185-91.
- Gristina** AG, Costerton JW. Bacterial adherence and the glycocalyx and their role in musculoskeletal infection. Orthop Clin North Am 1984;15(3):517-35.
- Groom** LJ, Gaughan EM, Lillich JD, Valentino LW. Arthrodesis of the proximal interphalangeal joint affected with septic arthritis in 8 horses. Can Vet J 2000;41(2):117-23.
- Grosshandler** S, Henschel EO, Jacoby J. Perfusion with chemotherapeutic agents for malignancy. Anesthetic problems in extracorporeal perfusion with chemotherapeutic agents for malignancy. Neoplasma 1965;12(6):645-52.
- Gunal** I, Kose N, Gurer D. Compartment syndrome after intraosseous infusion: an experimental study in dogs. J Pediatr Surg 1996;31(11):1491-3.
- Gustafson** SB, McIlwraith CW, Jones RL, Dixon-White HE. Further investigations into the potentiation of infection by intra-articular injection of polysulfated glycosaminoglycan and the effect of filtration and intra-articular injection of amikacin. Am J Vet Res 1989a;50(12):2018-22.
- Gustafson** SB, McIlwraith CW, Jones RL. Comparison of the effect of polysulfated glycosaminoglycans, corticosteroids and sodium hyaluronate in the potentiation of a subinfective dose of *Staphylococcus aureus* in the midcarpal joint of horses. Am J Vet Res 1989b;50(12):2014-7.
- Hall** BB, Fitzgerald RH Jr. The pharmacokinetics of penicillin in osteomyelitic canine bone. J Bone Joint Surg Am 1983;65(4):526-32.
- Hall** BB, Rosenblatt JE, Fitzgerald RH Jr. Anaerobic septic arthritis and osteomyelitis. Orthop Clin North Am 1984;15(3):505-16.
- Halliwell** B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J 1984;219(1):1-14.

Hamilton-Miller JM. Glycopeptide-resistant staphylococci. *Int J Antimicrob Agents* 1999;13(1):63-5.

Hanberger H, Nilsson LE, Maller R, Isaksson B. Pharmacodynamics of daptomycin and vancomycin on *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus* demonstrated by studies of initial killing and postantibiotic effect and influence of Ca²⁺ and albumin on these drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35(9):1710-6.

Hance SR. Hematogenous infections of the musculoskeletal system in foals. Proceedings of the 44^o Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1998 Dic 6-9; Baltimore, EEUU. p. 159-66.

Hardy DJ, Hanson CW, Hensey DM, Beyer JM, Fernandes PB. Susceptibility of *Campylobacter pylori* to macrolides and fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother* 1988;22(5):631-6.

Hardy J, Bertone AL, Malemud CJ. Effect of bacterial infection on hyaluronate synthesis by equine synovium in vitro. Proceedings of the Annual Meeting of the Veterinary Orthopedic Society 1993;21:6.

Hardy J, Bertone AL, Malemud CJ. Effect of synovial membrane infection in vitro on equine synoviocytes and chondrocytes. *Am J Vet Res* 1998;59:293-9.

Hardy J, Bertone AL, Muir WW. Joint pressure influences synovial tissue blood flow as determined by colored microspheres. *J Appl Physiol* 1996;80(4):1225-32.

Harkins JD, Carney JM, Tobin T. Clinical use and characteristics of the corticosteroids. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1993;9(3):543-62.

Harris ED Jr, Cohen GL, Krane SM. Synovial collagenase: Its presence in culture from joint disease of diverse etiology. *Arthritis Rheum* 1969;12:92.

Harriss FK, Galupo LD, Van Hooymgoed LM, MacDonald MH. Antibiotic delivery to the forelimb digital flexor tendon sheath and metacarpophalangeal joint of horses by three regional limb perfusion techniques. Proceedings of the 29th Annual Conference of the Veterinary Orthopedic Society; 2002; The Canyons, Utah, EEUU; p. 63.

Hartmann FA, Trostle SS, Klohn AA. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *J Am Vet Med Assoc* 1997;211(5):590-2.

Hasegawa Y, Ito H. Intracapsular pressure in hip synovitis in children. *Acta Orthop Scand* 1991;62:333-6.

Hauck-Bauer R. Untersuchungen über den therapeutischen Nutzen der regionalen intravenösen Verabreichung von Oxytetracyclin in die Vv. Digitalis dorsalis communis III und IV bei Klauen-erkrankung des Rindes [Tesis de grado]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover, 1977.

- Hershberger E**, Aeschlimann JR, Moldovan T, Rybak MJ. Evaluation of bactericidal activities of LY333328, vancomycin, teicoplanin, ampicillin-sulbactam, trovafloxacin, and RP59500 alone or in combination with rifampin or gentamicin against different strains of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* by time-kill curve methods. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(3):717-21.
- Hirsch DC**, Indiveri MC, Jang SS, Biberstein EL. Changes in prevalence and susceptibility of obligate anaerobes in clinical practice. *J Am Vet Med Ass* 1985;186:1086-9.
- Hirsch DC**, Jang S. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens from horses. *Vet Clin North Am Equine Practice* 1987;3:181-90.
- Hirsch DC**, Ruehl W. A rational approach to the selection of an antimicrobial agent. *J Am Vet Med Assoc* 1984;185:1058-61.
- Holcombe SJ**, Schneider RK, Bramlage LR, Embertson RM. Use of antibiotic-impregnated polymethylmetacrylate in horses with open or infected fractures or joints: 19 cases (1987-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1997;211:889-93.
- Honnas CM**, Schumacher J, Cohen ND, Watkins JP, Taylor TS. Septic tenosynovitis in horses: 25 cases (1983-1989). *J Am Vet Med Assoc* 1991;199(11):1616-22.
- Honnas CM**, Schumacher J, Kuesis BS. Ankylosis of the distal interphalangeal joint in a horse after septic arthritis and septic navicular bursitis. *J Am Vet Med Assoc* 1992a;200(7):964-8.
- Honnas CM**, Welch RD, Ford TS, Vacek JR, Watkins JP. Septic arthritis of the distal interphalangeal joint in 12 horses. *Vet Surg* 1992b;21:261-8.
- Hope PG**, Kristinsson KG, Norman P, Elson RA. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71(5):851-5.
- Houlihan HH**, Mercier RC, Rybak MJ. Pharmacodynamics of vancomycin alone and in combination with gentamicin at various dosing intervals against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected fibrin-platelet clots in an in vitro infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(11):2497-501.
- Howell A**, Sutherland R, Rolinson GN. Effect of protein binding on levels of ampicillin and cloxacillin in synovial fluid. *Clin Pharmacol Ther* 1972;13(5):724-32.
- Hughes R**, Keat A. Reactive arthritis: The role of bacterial antigens in inflammatory arthritis. *Baillieres Clin Rheumatol* 1992;6:285-308.
- Hurley JD**, Wilson SD, Worman LW, Carey LC. Chronic osteomyelitis: treatment by regional perfusion with antibiotics. *Archives of surgery* 1966;92(4):548-53.
- Hurst LN**, Weiglein O, Brown WF, Campbell GJ. The pneumatic tourniquet: a biomechanical and electrophysiological study. *Plast Reconstr Surg* 1981;67(5):648-52.

- Lescun** TB, Adams SB, Wu CC, Bill RP, Van Sickle DC. Effects of continuous intra-articular infusion of gentamicin on synovial membrane and articular cartilage in the tarsocrural joint of horses. *Am J Vet Res* 2002;63(5):683-7.
- Lescun** TB, Adams SB, Wu CC, Bill RP. Continuous infusion of gentamicin into the tarsocrural joint of horses. *Am J Vet Res* 2000;61(4):407-12.
- Levine** DP, Fromm BS, Reddy BR. Slow response to vancomycin or vancomycin plus rifampin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Ann Intern Med* 1991;115(9):674-80.
- Levine** JF. Vancomycin: a review. *Med Clin North Am* 1987;71(6):1135-45.
- Levy** JH, Kettlekamp N, Goertz P, Hermens J, Hirshman CA. Histamine release by vancomycin: a mechanism for hypotension in man. *Anesthesiology* 1987;67(1):122-5.
- Liu** SJ, Wen-Neng Ueng S, Lin SS, Chan EC. *In vivo* release of vancomycin from biodegradable beads. *J Biomed Mater Res* 2002;63(6):807-13.
- Lloyd** KC, Stover SM, Pascoe JR, Adams P. Synovial fluid pH, cytologic characteristics and gentamicin concentration after intra-articular administration of the drug in an experimental model of infectious arthritis in horses. *Am J Vet Res* 1990;51(9):1363-9.
- Lloyd** KC, Stover SM, Pascoe JR, Baggot JD, Kurpershoek C, Hietala S. Plasma and synovial fluid concentrations of gentamicin in horses after intra-articular administration of buffered and unbuffered gentamicin. *Am J Vet Res* 1988a;49(5):644-9.
- Lloyd** KCK, Stover SM, Pascoe JR, Pool RR. A technique for catheterization of the equine antebrachio-carpal joint. *Am J Vet Res* 1988b;49(5):658-662.
- Löwdin** E, Odenholt I, Cars O. In vitro studies of pharmacodynamic properties of vancomycin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(10):2739-44.
- Lowy** FD, Hammer SM. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Ann Intern Med* 1983;99(6):834-9.
- Lowy** FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003;111(9):1265-73.
- Lunke** RJ, Fitzgerald RH Jr, Washington JA 2nd. Pharmacokinetics of cefamandole in osseous tissue. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19(5):851-8.
- MacClure** SR, Honnas CM, Watkins JP. Managing equine fractures with external skeletal fixation. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1995;17:1054-1062.
- MacDonald** DG, Morley PS, Bailey JV, Barber SM, Fretz PB. An examination of the occurrence of surgical wound infection following equine orthopaedic surgery (1981-1990). *Equine Vet J* 1994;26(4):323-6.

Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW.. Diagnostic values of sinus tract cultures in chronic osteomyelitis. J Am Vet Med Assoc 1978;239:2772-5.

Mader JT, Cantrell JS, Calhoun J. Oral ciprofloxacin compared with standard parenteral antibiotic therapy for chronic therapy for chronic osteomyelitis in adults. J Bone Joint Surg 1990;72A:104-10.

Mader JT, Shirliff ME, Bergquist SC, Calhoun J. Antimicrobial treatment of chronic osteomyelitis. Clin Orthop 1999;(360):47-65.

Madison JB, Reid BV, Raskin RE. Amphotericin B treatment of *Candida* arthritis in two horses. J Am Vet Med Assoc 1995;206(3):338-41.

Martens RJ, Auer JA, Carter GK. Equine pediatrics: Septic arthritis and osteomyelitis. J Am Vet Med Assoc 1986;188(6):582-5.

Martínez MA, Pinto ME. Molecular characterization of the transferable resistance to amikacin in Enterobacteriaceae strains isolated from hospital infections. Rev Med Chil 1993;121(9):969-74.

Mattson SE, Bouré LP, Pearce SG, Dobson H, Hurtig MB, Black WM. Comparison of standing intraosseous and intravenous 99m Technetium pertechnetate infusion of the distal limb in horses using scintigraphic imaging. Proceedings of the 12th Annual American College of Veterinary Surgeons; Oct 2002a.

Mattson SE, Bouré LP, Pearce SG, Hurtig MB, Black WM, Burger J. Concentration of gentamicin in distal limb synovial structures and bones using local antibiotic perfusion of the distal metacarpus in standing sedated horses. Proceedings of the 12th Annual American College of Veterinary Surgeons; Oct 2002b.

Mayberry-Carson KJ, Tober-Meyer B, Smith JK, Lambe DW Jr, Costerton JW. Bacterial adherence and glycocalyx formation in osteomyelitis experimentally induced with *Staphylococcus aureus*. Infect Immun 1984;43(3):825-33.

McDonald PJ, Craig WA, Kunin CM. Persistent effect of antibiotics on *Staphylococcus aureus* after exposure for limited periods of time. J Infect Dis 1977;135(2):217-23.

McDonald PJ, Wetherall BL, Pruul H. Postantibiotic leukocyte enhancement: increased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics to activity of leukocytes. Rev Infect Dis 1981;3(1):38-44.

McDonald PJ. Methicillin-resistant staphylococci: a sign of the times?. Med J Aust 1982;1(11):445-6.

McIlwraith CW. Antibiotic use in musculoskeletal disease. Proceedings. 32nd Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners; 1986; Nashville, TN. EEUU. p. 241-9.

McIlwraith CW. Treatment of infectious arthritis. Vet Clin North Am Large Anim Pract 1983;5(2):363-79.

- Mehta S**, Humphrey JS, Schenkman DI, Seaber AV, Vail TP. Gentamicin distribution from a collagen carrier. *J Orthop Res* 1996;14(5):749-54.
- Meijer MC**, van Weeren PR, Rijkenhuizen AB. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2000;47(6):351-65.
- Mellor JA**, Kingdom J, Cafferkey M, Keane C. Vancomycin ototoxicity in patients with normal renal function. *Br J Audiol* 1984;18(3):179-80.
- Misheff MM**, Stover SM. A comparison of two techniques for arthrocentesis of the equine metacarpophalangeal joint. *Equine Vet J* 1991;23(4):273-6.
- Moellering RC Jr**, Krogstad DJ, Greenblatt DJ. Vancomycin therapy in patients with impaired renal function: a nomogram for dosage. *Ann Intern Med* 1981;94(3):343-6.
- Moore RM**, Schneider RK, Kowalski J, Bramlage LR, Mecklenburg LM, Kohn CW. Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from 233 horses with musculoskeletal infection during 1979-1989. *Equine Vet J* 1992;24(6):450-6.
- Moore RM**. Pathophysiology and factors in orthopedic infection. Proceedings of the 5th Annual Veterinary Symposium of the American College of Veterinary Surgeons; 1995 Oct-Nov; Chicago, Illinois.
- Moreillon P**. The efficacy of amoxicillin/clavulanate (Augmentin) in the treatment of severe staphylococcal infections. *J Chemother* 1994;6 Suppl 2:51-7.
- Morris P**. The clinical management of septic arthritis in the horse. *Compend Cont Educ Pract Vet* 1980;11:S207-S220.
- Murakami K**, Nomura K, Doi M, Yoshida T. Production of low-affinity penicillin-binding protein by low- and high-resistance groups of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31(9):1307-11.
- Murphey ED**, Santschi EM, Papich MG. Regional intravenous perfusion of the distal limb of horses with amikacin sulfate. *J Vet Pharmacol Ther* 1999;22(1):68-71.
- Murray BE**. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* 2000;342(10):710-21.
- Nade S**. Acute septic arthritis in infancy and childhood. *J Bone Joint Surg [Br]* 1983;65:234.
- Nagl M, Neher C, Hager J, Pfausler B, Schmutzhard E, Allerberger F. Bactericidal activity of vancomycin in cerebrospinal fluid. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(8):1932-4.
- Nakata MM**, Lewis RP. Anaerobic bacteria in bone and joint infections. *Rev Infect Dis* 1984;6:S165-S170.
- Navarre CB**, Zhang L, Sunkara G, Duran SH, Kompella UB. Ceftiofur distribution in plasma and joint fluid following regional limb injection in cattle. *J Vet Pharmacol Ther* 1999;22(1):13-9.

- Nelson** CL, Hickmon SG, Skinner RA. Comparison of gentamicin dosing regimens in the treatment of experimental osteomyelitis. *Trans Annu Meet Orthop Res Soc* 1994;40:20.
- Nelson** JD. Antibiotic concentrations in septic joint effusions. *N Engl J Med* 1971;284(7):349-53.
- Neu** HC. Cephalosporin antibiotics as applied in surgery of bones and joints. *Clin Orthop* 1984;190:50-64.
- Nie** L, Nicolau DP, Tessier PR, Kourea HP, Browner BD, Nightingale CH. Use of a bioabsorbable polymer for the delivery of ofloxacin during experimental osteomyelitis treatment. *J Orthop Res* 1998;16(1):76-9.
- Noble** WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992;72(2):195-8.
- Odenholt-Tornqvist** I, Lowdin E, Cars O. Postantibiotic sub-MIC effects of vancomycin, roxithromycin, sparflaxacin, and amikacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36(9):1852-8.
- Ogden** JA, Lister G. The pathology of neonatal osteomyelitis. *Pediatrics* 1975;55:474-8.
- Oguri** T. Incidence and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of MRSA from 1988 to 1990, from the results of 26 clinical laboratories in Tokyo and the surrounding area. *Nippon Rinsho* 1992;50(5):952-60.
- Orlowski** JP, Julius CJ, Petras RE, Porembka DT, Gallagher JM. The safety of intraosseous infusions: risks of fat and bone marrow emboli to the lungs. *Ann Emerg Med* 1989;18(10):1062-7.
- Orsini** JA, Benson CE, Spencer PA, Van Miller E. Resistance to gentamicin and amikacin of gram-negative organisms isolated from horses. *Am J Vet Res* 1989;50(6):923-5.
- Orsini** JA, Ramberg CF Jr, Benson CE, Dreyfuss DJ, Vecchione JA, Kunz CC. Vancomycin kinetics in plasma and synovial fluid following intravenous administration in horses. *J Vet Pharmacol Ther* 1992;15(4):351-63.
- Orsini** JA, Soma LR, Rourke JE, Park M. Pharmacokinetics of amikacin in the horse following intravenous and intramuscular administration. *J Vet Pharmacol Ther* 1985;8(2):194-201.
- Ostermann** PA, Seligson D, Henry SL. Local antibiotic therapy for severe open fractures. A review of 1085 consecutive cases. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77(1):93-7.
- Owen** LN. The pathology of bone infection. En: Summer-Smith G, editor. *Bone in Clinical Orthopedics*. Philadelphia: W Saunders; 1982. p. 261-72.
- Palmer** JL, Bertone AL. Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. *Equine vet J* 1994a;26:263-77.
- Palmer** JL, Bertone AL. Use of LPS endotoxin as a model of synovitis in the horse. *Equine vet J* 1994b;26:496-9.

Palmer SE, Hogan PM. How to perform regional limb perfusion in the standing horse. Proceedings of the 45th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1999 Dic 5-8; Albuquerque, Nuevo México, EEUU.

Palmer SM, Rybak MJ. Pharmacodynamics of once- or twice-daily levofloxacin versus vancomycin, with or without rifampin, against *Staphylococcus aureus* in an in vitro model with infected platelet-fibrin clots. Antimicrob Agents Chemother 1996;40(3):701-5.

Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, Martone WJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. Infect Control Hosp Epidemiol 1992;13(10):582-6.

Papich MG, Riviere JE. Chloranfenicol and derivatives, macrolides, lincosamides and miscellaneous antimicrobials. En: HR Adams, editor. Veterinary pharmacology and therapeutics. 8ª ed. Iowa: Iowa State University Press; 2001. p. 868-97.

Papich MG. Current concepts in antimicrobial therapy for horses. Proceedings of the 45th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2001; EEUU.

Paradis MR. Cutaneous and musculoskeletal manifestations of *Rhodococcus equi* infection in foals. Equine Vet Educ 1997;9:266-70.

Patti J, Bremell T, Krajewska-Bietrasik D, et al. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesion is a virulence determinant in experimental septic arthritis. Infect Immun 1994;62:152-61.

Peetermans WE, Hoogeterp JJ, Hazekamp-van Dokkum AM, van den Broek P, Mattie H. Antistaphylococcal activities of teicoplanin and vancomycin *in vitro* and in an experimental infection. Antimicrob Agents Chemother 1990;34(10):1869-74.

Peltola H, Vahvanen V. A comparative study of osteomyelitis and purulent arthritis with special reference to aetiology and recovery. Infection 1984;12(2):75-9.

Pfausler B, Spiss H, Beer R, Kampl A, Engelhardt K, Schober M, Schmutzhard E. Treatment of staphylococcal ventriculitis associated with external cerebrospinal fluid drains: a prospective randomized trial of intravenous compared with intraventricular vancomycin therapy. J Neurosurg 2003;98(5):1040-4.

Pham Dang C, Gouin F, Touchais S, Richard C, Potel G. The comparative costs of vancomycin treatment versus teicoplanin in osteoarticular infection caused by methicillin-resistant staphylococci. Pathol Biol (Paris) 2001;49(7):587-96.

Platt H. Joint ill and other bacterial infections on Thoroughbred studs. Equine vet J 1977;9(3):141-5.

Prentice DE, Wyn-Jones GW, Jones RS, Jagger DW. Intravenous regional anaesthesia of the bovine foot. Vet Rec 1974;94(13):293-5.

- Raad I**, Alrahwan A, Rolston K. *Staphylococcus epidermidis*: emerging resistance and need for alternative agents. Clin Infect Dis 1998;26(5):1182-7.
- Raisbeck MF**, Holt GR, Osweiler GD. Lincomycin-associated colitis in horses. J Am Vet Med Assoc 1981;179:362-3.
- Raisis AL**, Hodgson JL, Hodgson DR. Equine neonatal septicaemia: 24 cases. Aust Vet J 1996;73(4):137-40.
- Raisis AL**, Hodgson JL, Hodgson DR. Serum gentamicin concentrations in compromised neonatal foals. Equine Vet J 1998;30(4):324-8.
- Ramage G**, Tunney MM, Patrick S, Gorman SP, Nixon JR. Formation of *Propionibacterium acnes* biofilms on orthopaedic biomaterials and their susceptibility to antimicrobials. Biomaterials 2003;24(19):3221-7.
- Ramzan PH**, Pilsworth RC. Suspected septic physitis of the proximal humerus in two cases of Thoroughbred horses age two years. Equine Vet J 2001;33(5):514-8.
- Resnick D**, Niwayama G. Osteomyelitis, septic arthritis and soft tissue infections: The mechanics and situations. En: Resnick D, Niwayama G, editores. Diagnosis of bone and joint disorders. Philadelphia: WB Saunders; 1981. p. 2024-129.
- Richardson DW**. Local antimicrobial delivery in equine orthopedics. Proceedings of the 13th Annual American College of Veterinary Surgeons Veterinary Symposium; 2003 Oct 9-12; Washington DC, EEUU.
- Richardson GL**, O'Brien TR, Pascoe JR, Meagher DM. Puncture wounds of the navicular bursa in 38 horses. Vet Surg 1986;15:156-160.
- Robibaro B**, Vorbach H, Weigel G, Weihs A, Hlousek M, Presterl E, Georgopoulos A, Griesmacher A, Graninger W. Endothelial cell compatibility of glycopeptide antibiotics for intravenous use. J Antimicrob Chemother 1998;41(2):297-300.
- Roeder B**, Van Gils CC, Maling S. Antibiotic beads in the treatment of diabetic pedal osteomyelitis. J Foot Ankle Surg 2000;39(2):124-30.
- Rosin E**. Empirical selection of antibiotics in small animal surgery. Compend contin Ed Pract Vet 1990;2:231-2.
- Ross MW**, Orsini JA, Richardson DW, Martin BB. Closed suction drainage in the treatment of infectious arthritis of the equine tarsocrural joint. Vet Surg 1991;20(1):21-9.
- Rossi L**, Tonin E, Cheng YR, Fontana R. Regulation of penicillin-binding protein activity: description of a methicillin-inducible penicillin-binding protein in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1985;27(5):828-31.
- Rudd RG**. A rational approach to the diagnosis and treatment of osteomyelitis. Compend Cont Educ Pract Vet 1985;8:S225-S233.

- Rybak MJ**, Albrecht LM, Boike SC, Chandrasekar PH. Nephrotoxicity of vancomycin, alone and with an aminoglycoside. *J Antimicrob Chemother* 1990;25(4):679-87.
- Sahai J**, Healy DP, Garris R, Berry A, Polk RE. Influence of antihistamine pretreatment on vancomycin-induced red-man syndrome. *J Infect Dis* 1989;160(5):876-81.
- Santschi EM**, Adams SB, Murphey ED. How to perform equine intravenous digital perfusion. Proceedings of the 44^o Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1998 Dic 6-9; Baltimore, EEUU. p. 198-201.
- Saraux A**, Taelman H, Blanche P, et al. HIV infections as a risk factor for septic arthritis. *Br J Rheumatol* 1997;36:333-7.
- Schaad UB**, McCracken GH Jr, Nelson JD. Clinical pharmacology and efficacy of vancomycin in pediatric patients. *J Pediatr* 1980;96(1):119-26.
- Scheuch BC**, Van Hoogmoed LM, Wilson WD, Snyder JR, MacDonald MH, Watson ZE, Steffey EP. Comparison of intraosseous or intravenous infusion for delivery of amikacin sulfate to the tibiotarsal joint of horses. *Am J Vet Res* 2002;63(3):374-80.
- Schneider RK**, Andrea R, Barnes HG. Use of antibiotic-impregnated polymethyl methacrylate for treatment of an open radial fracture in a horse. *J Am Vet Med Assoc* 1995;207(11):1454-7.
- Schneider RK**, Bramlage LR, Meckleburg LM, Moore RM, Gabel AA. Open drainage, intra-articular and systemic antibiotics in the treatment of septic arthritis/tenosynovitis in horses. *Equine Vet J* 1992a;24(6):443-9.
- Schneider RK**, Bramlage LR, Moore RM, Mecklenburg LM, Kohn CW, Gabel AA. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Vet J* 1992b;24(6):436-42.
- Schneider RK**. Orthopedic infections. En: Auer y Stick, editors. *Equine Surgery*. 2^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1999. p. 727-6.
- Scott EA**, Riebold TW, Lamar AM, Wolz GS, Sandler GA, Thompson LR. Effect of pneumatic tourniquet application to the distal extremities of the horse: blood gas, serum electrolyte, osmolality, and hematologic alterations. *Am J Vet Res* 1979;40(8):1078-81.
- Scott GM**, Thomson R, Malone-Lee J, Ridgway GL. Cross-infection between animals and man: possible feline transmission of *Staphylococcus aureus* infection in humans?. *J Hosp Infect* 1988;12(1):29-34.
- Seguin JC**, Walker RD, Caron JP, Kloos WE, George CG, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. *J Clin Microbiol* 1999;37(5):1459-63.
- Shah PM**, Junghanns W, Stille W. Dosis-Wirkungs-Beziehung der Bakterizidee bei *E. coli*, *K. pneumoniae* und *Staphylococcus aureus*. *Dtsch Med Wochenschr* 1976;101:325-8.

- Shaw** BA, Kasser JR. Acute septic arthritis in infancy and childhood. *Clin Orthop* 1990;257:212-25.
- Sheldrick** GM, Jones PG, Kennard O, Williams DH, Smith GA. Structure of vancomycin and its complex with acetyl-D-alanyl-D-alanine. *Nature* 1978;271(5642):223-5.
- Shimizu** A, Kawano J, Yamamoto C, Kakutani O, Anzai T, Kamada M. Genetic analysis of equine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis. *J Vet Med Sci* 1997;59(10):935-7.
- Showsh** SA, De Boer EH, Clewell DB. Vancomycin resistance plasmid in *Enterococcus faecalis* that encodes sensitivity to a sex pheromone also produced by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2177-8.
- Sieradzki** K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N Engl J Med* 1999;340(7):517-23.
- Small** PM, Chambers HF. Vancomycin for *Staphylococcus aureus* endocarditis in intravenous drug users. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34(6):1227-31.
- Smith** RL, Merchant TC, Shurman DJ. *In vitro* cartilage degradation by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Arthritis Rheum* 1982;25:441-6.
- Smith** RL, Schurman DJ, Kajiyama G, et al. The effect of antibiotics on the destruction of cartilage in experimental infectious arthritis. *J Bone Joint Surg [Am]* 1987;60:1063-8.
- Smith** RL, Schurman DJ. Bacterial arthritis. A staphylococcal proteoglycan-releasing factor. *Arthritis Rheum* 1986;29:1278-386.
- Smith** SM, Eng RH, Cherubin CE. Conditions affecting the results of susceptibility testing for the quinolone compounds. *Chemotherapy* 1988;34(4):308-14.
- Smith** TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group. *N Engl J Med* 1999;340(7):493-501.
- Snively** SR, Hodges GR. The neurotoxicity of antibacterial agents. *Ann Intern Med* 1984;101(1):92-104.
- Snyder** JR, Pascoe JR, Hirsch DC. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from equine orthopedic patients. *Vet Surg* 1987;16:197-201.
- Sorrell** TC, Collignon PJ. A prospective study of adverse reactions associated with vancomycin therapy. *J Antimicrob Chemother* 1985;16(2):235-41.
- Southwood** LL, Baxter GM, Fehr JE. How to perform arthrocentesis of the fetlock joint by using a distal palmar (plantar) approach. Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1997 Dic 7-10; Phoenix, Arizona. EEUU

- Spiers S**, May SA, Bennett D, Edwards GB. Cellular sources of proteolytic enzymes in equine joints. *Equine Vet J* 1994a;26(1):43-7.
- Spiers S**, May SA, Harrison LJ, Bennett D, Edwards GB. Proteolytic enzymes in equine joints with infectious arthritis. *Equine Vet J* 1994b;26(1):48-50.
- Spratt BG**. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994;264(5157):388-93.
- SPSS**. Spss 11.5 Syntax Reference Guide. SPSS Inc. 2002.
- Stanek C**, Fessler L, Awad-Masalmeh M. Penicillin and ampicillin levels in pathologically altered tissue following regional intravenous administration of antibiotics in cattle legs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1984;97(5):162-6.
- Stashak TS**. Examination of lameness. En: TS Stashak, editor. *Adam's lameness in horses*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 113-84.
- Steel CM**, Hunt AR, Adams PLE, Robertson ID, Chicken C, Yovich JV, et al. Factors associated with prognosis for survival and athletic use in foals with septic arthritis: 93 cases (1987-1994). *J Am Vet Med Assoc* 1999;215(7):973-7.
- Steiner A**, Ossent P, Mathis GA. Die intravenöse Stauungsanästhesie/-antibiose beim Rind – Indikationen, Technik, Komplikationen. *Schweiz Arch Tierheilk* 1990;132:227-37.
- Stengel D**, Bauwens K, Sehouli J, Ekkernkamp A, Porzolt F. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet Infect Dis* 2001;1(3):175-88.
- Stobberingh E**, van den Bogaard A, London N, Driessen C, Top J, Willems R. Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (sub)urban residents in the south of The Netherlands: evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans? *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(9):2215-21.
- Stover SM**, Pool RR. Effect of intra-articular gentamicin sulfate on normal equine synovial membrane. *Am J Vet Res* 1985;46:2485-91.
- Strausbaugh LJ**. Vancomycin-intermediate *Staphylococcus epidermidis*: curio or omen? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20(3):163-5.
- Suller MT**, Lloyd D. The antibacterial activity of vancomycin towards *Staphylococcus aureus* under aerobic and anaerobic conditions. *J Appl Microbiol* 2002;92(5):866-72.
- Sutherland GE**, Palitang EG, Marr JJ, Luedke SL. Sterilization of Ommaya reservoir by instillation of vancomycin. *Am J Med* 1981;71(6):1068-70.
- Svensson E**, Hanberger H, Nilsson LE. Pharmacodynamic effects of antibiotics and antibiotic combinations on growing and nongrowing *Staphylococcus epidermidis* cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(1):107-11.
- Swalec-Tobias KM**, Schneider RK, Besser TE. Use of antimicrobial-impregnated polymethylmetacrylate. *J Am Vet Med Assoc* 1996;208:841-4.

- Swerczek** TW, Donahue JM, Hunt RJ. *Scedosporium prolificans* infection associated with arthritis and osteomyelitis in a horse. J Am Vet Med Assoc 2001;218(11):1800-2.
- Tack** KJ, Sabath LD. Increased minimum inhibitory concentrations with anaerobiosis for tobramycin, gentamicin, and amikacin, compared to latamoxef, piperacillin, chloramphenicol, and clindamycin. Chemotherapy 1985;31(3):204-10.
- Tissi** L, Marconi P, Mosci P, Merletti L, Cornacchione P, Rosati E, et al. Experimental model of type IV *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) infection in mice with early development of septic arthritis. Infect Immun 1990;58(9):3093-100.
- Tomlin** J, Pead MJ, Lloyd DH, Howell S, Hartmann F, Jackson HA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in 11 dogs. Vet Rec 1999;144(3):60-4.
- Trostle** SS, Peavey CL, King DS, Hartmann FA. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* infection following repair of an ulnar fracture and humeroradial joint luxation in a horse. J Am Vet Med Assoc 2001;218(4):554-9.
- Trueta** J. The three types of acute haematogenous osteomyelitis. J Bone Joint Surg 1959;41:671-80.
- Tulamo** R-M, Bramlage LR, Gabel AA. The influence of corticosteroids on sequential clinical and synovial fluid parameters in joints with acute infectious arthritis in the horse. Equine Vet J 1989;21:332-7.
- Tulamo** RM, Heiskanen T, Salonen M. Concentration and molecular weight distribution of hyaluronate in synovial fluid from clinically normal horses and horses with diseased joints. Am J Vet Res 1994;55(5):710-5.
- Tuomanen** E. Antibiotics which kill nongrowing bacteria. Trends Pharmacol Sci 1987;8:121-2.
- Turner** AS. Diseases of bone and related structures. En: Stashak TS, editor. Adams' Lameness in Horses. 4^a ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1987. p. 293-338.
- Turnidge** J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. Drugs 1999;58(Suppl 2):29-36.
- Uren** RF, Howman-Giles R. The "cold hip" sign on bone scan. A retrospective review. Clin Nucl Med 1991;16:553-6.
- Vaala** WE, Clark ES, Orsini JA. Omphalophlebitis and osteomyelitis associated with *Klebsiella septicemia* in a premature foal. J Am Vet Med Assoc 1988;193(10):1273-7.
- Vatistas** NJ, Wilson WD, Pascoe JR, Madigan J, DeCarlo M. Septic Arthritis in Foals: Bacterial isolates, antimicrobial susceptibility, and factors influencing survival. Proceedings of the 39th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1993 Dic 5-8; San Antonio, Texas. EEUU.

- Verpooten** GA, Giuliano RA, Verbist L, Eestermans G, De Broe ME. Once-daily dosing decreases renal accumulation of gentamicin and netilmicin. *Clin Pharmacol Ther* 1989;45(1):22-7.
- Verschooten** F, Vermeiren D, Devriese L. Bone infection in the bovine appendicular skeleton: a clinical, radiographic, and experimental study. *Vet Radiol Ultrasound* 2000;41(3):250-60.
- Verwey** WS, Williams HR, Kalsow C. Penetration of chemotherapeutic agents into tissues. *Antimicrob Agents Chemother* 1965;10:16-24.
- Vincent** EM, Amirault JD. Septic arthritis in the elderly. *Clin Orthop* 1990;251:241-5.
- Visconti** EB, Peter G. Vancomycin treatment of cerebrospinal fluid shunt infections. Report of two cases. *J Neurosurg* 1979;51(2):245-6.
- Vogelman** B, Craig WA. Kinetics of antimicrobial activity. *J Pediatr* 1986;108(5 Pt 2):835-40.
- Vogelman** B, Gudmundsson S, Turnidge J, Leggett J, Craig WA. In vivo postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice. *J Infect Dis* 1988;157(2):287-98.
- Vorbach** H, Robibaro B, Armbruster C, Atteneder M, Reiter M, Hlousek M, et al. Endothelial cell compatibility of clindamycin, gentamicin, ceftriaxone and teicoplanin in Bier's arterial arrest. *J Antimicrob Chemother* 1999;44(2):275-7.
- Wade** JC, Smith CR, Petty BG, Lipsky JJ, Conrad G, Ellner J, et al. Cephalothin plus an aminoglycoside is more nephrotoxic than methicillin plus an aminoglycoside. *Lancet* 1978;2(8090):604-6.
- Wagner** AE, McIlwraith CW, Martin GS. Effect of intra-articular injection of orgotein and saline solution on equine synovia. *Am J Vet Res* 1982;43(4):594-7.
- Waldvogel** FA, Vasey H. Osteomyelitis: the past decade. *N Engl J Med* 1980;303:360-70.
- Walker** RD, Richardson DC, Bryant MJ, Draper CS. Anaerobic bacteria associated with osteomyelitis in domestic animals. *J Am Vet Med Assoc* 1983;182:814-6.
- Wallace** MR, Mascola JR, Oldfield EC 3rd. Red man syndrome: incidence, etiology, and prophylaxis. *J Infect Dis* 1991;164(6):1180-5.
- Wallace** SM, Chan LY. In vitro interaction of aminoglycosides with beta-lactam penicillins. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28(2):274-81.
- Walsh** CT. Vancomycin resistance: decoding the molecular logic. *Science* 1993;261(5119):308-9.
- Watanakunakorn** C, Tisone JC. Synergism between vancomycin and gentamicin or tobramycin for methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1982;22(5):903-5.
- Waterman** NG, Raff MJ, Scharfenberger L, Barnwell PA. Protein binding and concentrations of cephaloridine and cefazolin in serum and interstitial fluid of dogs. *J Infect Dis* 1976;133(6):642-7.

- Weinmann** M. Compartment syndrome. *Emerg Med Serv* 2003;32(9):36.
- Weinstein** MP, Stratton CW, Hawley HB, Ackley A, Reller LB. Multicenter collaborative evaluation of a standardized serum bactericidal test as a predictor of therapeutic efficacy in acute and chronic osteomyelitis. *Am J Med* 1987;83(2):218-22.
- Welch** RD, Johnston CE 2nd, Waldron MJ, Poteet B. Bone changes associated with intraosseous hypertension in the caprine tibia. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75(1):53-60.
- Welch** RD, Waldron MJ, Hulse DA, Johnston CE 2nd, Hargis BM. Intraosseous infusion using the osteoport implant in the caprine tibia. *J Orthop Res* 1992;10(6):789-99.
- Wenman** WM, Hitchins E, Grace M. Vancomycin utilization and toxicity pre and post purification changes. Proceedings of the 31st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1991; Chicago, IL, EEUU.
- Wenzel** RP, Nettleman MD, Jones RN, Pfaller MA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: implications for the 1990s and effective control measures. *Am J Med* 1991;91(3B):221S-227S.
- Werner** LA, Hardy J, Bertone AL. Bone gentamicin concentration following intra-articular injection or regional intravenous perfusion in the horse. Proceedings of the 30th Annual Conference Veterinary Orthopedic Society; 2003 Feb 23-28; Steamboat Springs, Colorado. EEUU.
- Whalen** JL, Fitzgerald RH Jr, Morrissy RT. A histological study of acute hematogenous osteomyelitis following physeal injuries in rabbits. *J Bone Joint Surg Am* 1988;70(9):1383-92.
- Whitehair** KJ, Adams SB, Parker JE, Blevins WE, Fessler JF. Regional limb perfusion with antibiotics in three horses. *Vet Surg* 1992a;21(4):286-92.
- Whitehair** KJ, Blevins WE, Fessler JF, Van Sickle DC, White MR, Bill RP. Regional perfusion of the equine carpus for antibiotic delivery. *Vet Surg* 1992b;21(4):279-85.
- Whitehair** KJ, Bowersock TL, Blevins WE, Fessler JF, White MR, Van Sickle D. Regional perfusion for antibiotic treatment of experimentally induced septic arthritis. *Vet Surg* 1992c;21(5):367-73.
- Whitehair** KL. Regional limb perfusion with antibiotics. Proceedings of the 5th Annual Symposium of the American College of Veterinary Surgeons Symposium; 1995 Oct-Nov; Chicago, IL, EEUU.
- Wielunsky** E, Drucker M, Cohen T, Reisner SH. Replacement of gentamicin by amikacin as a means of decreasing gentamicin resistance of gram-negative rods in a neonatal intensive care unit. *Isr J Med Sci* 1983;19(11):1006-8.
- Williams** DN, Gustilo RB, Beverly RG, et al. Bone and serum concentrations of five cephalosporin drugs. *Clin Orthop* 1983;179:253-65.

- Wilson** WD, Madigan JE. Comparison of bacteriologic culture of blood and necropsy specimens for determining the cause of foal septicemia: 47 cases (1978-1987) *J Am Vet Med Assoc* 1989;195(12):1759-63.
- Wilson** WD. Rational Selection of antimicrobials for use in horses. Proceedings the 47th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2001;EEUU.
- Winger** DA, Fass RJ. Antibiotic-impregnated cement and beads for orthopedic infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40(12):2675-9.
- Wisner** ER, O'Brien TR, Pool RR, Pascoe JR, Koblick PD, Hornoff WJ, et al. Osteomyelitis of the axial border of the proximal sesamoid bones in seven horses. *Equine Vet J* 1991;23(5):383-9.
- Wofsy** D. Culture-negative septic arthritis and bacterial endocarditis. Diagnosis by synovial biopsy. *Arthritis Rheum* 1980;23(5):605-7.
- Wold** JS, Turnipseed SA. Toxicology of vancomycin in laboratory animals. *Rev Infect Dis* 1981;3 (Supl):224-9.
- Woodnutt** G. Pharmacodynamics to combat antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:25-31.
- Worster** AA, Lillich JD, Cox JH, Rush BR. Pythiosis with bone lesions in a pregnant mare. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216(11):1795-8.
- Yunis** AA, Bloomberg GR. Chloramphenicol toxicity, clinical features and pathogenesis. *Progress in Haematology* 1964;4:138-59.
- Zaghlol** HA, Brown SA. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of intravenously administered vancomycin in dogs. *Am J Vet Res* 1988;49(9):1637-40.
- Zhanel** GG. Influence of pharmacokinetic and pharmacodynamic principles on antibiotic selection. *Curr Infect Dis Rep* 2001;3:29-34.

Programas utilizados para generar la tesis:

- **Windows XP**
- **Office 2000**
- **Adobe Acrobat 4.0**
- **Adobe Photoshop 6.0**