

## ESTUDO EXPERIMENTAL DAS RELAÇÕES TECIDUAIS EM RATOS, PROVOCADAS POR DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PENICILINA G. BENZATINA

Mara Rita Rodrigues Massad \*  
Eduardo Massad \*\*  
Edna Aparecida Moura Arcuri \*\*\*

MASSAD, M.R.R.; MASSAD, E.; ARCURI, E.A.M. Estudo experimental das reações teciduais em ratos, provocadas por diferentes concentrações de penicilina G. benzatina. *Rev. Esc. Enf. USP*, São Paulo, 24(1):31-40, abr. 1990.

*A procura de respostas científicas aos problemas decorrentes de procedimentos que envolvem ações profissionais constituem um desafio constante aos enfermeiros comprometidos com a melhoria do cuidado de enfermagem. Tendo em vista a intensa dor muscular provocada pela aplicação de penicilina G Benzatina, sentiu-se necessidade de avaliar experimentalmente esse procedimento, a fim de se observar a influência da concentração e/ou volume injetado. Essa avaliação poderia oferecer subsídios para melhorar o cuidado de enfermagem no que diz respeito ao preparo da injeção intramuscular da p.G.b. O estudo foi realizado no Laboratório de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da USP em 27 ratos machos Wistar. Após a aplicação da p.G.b. no membro direito e soro fisiológico no membro esquerdo (controle) os animais foram sacrificados e estudados histologicamente. Verificou-se que o uso da p.G.b. no músculo causou intensa reação inflamatória (miosite), com maior intensidade após 48 horas, mas podendo ser observada até 30 dias. A reação inflamatória foi semelhante em natureza e intensidade para os três níveis de concentração testados. Este estudo não foi suficiente para formar subsídios necessários a alteração no procedimento da injeção intramuscular da p.G.b.*

UNITERMOS: *Injeções intramusculares. Penicilina G. benzatina.*

### I — INTRODUÇÃO:

A administração de medicamentos é uma atividade da equipe de enfermagem. Toda atenção e observação são necessárias visando a segurança, recuperação e conforto do paciente.

Um dos problemas mais comuns relacionado à medicação parenteral é a dor provocada pela penicilina G. benzatina (p.G.b.) administrada no tecido muscular. Além de ser indicada no tratamento de processos bacterianos agudos, essa droga é utilizada na profilaxia de proces-

\* Ex-docente do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

\*\* Professor Associado do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

\*\*\* Professora Associada do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

sos bacterianos agudos, essa droga é utilizada na profilaxia de processos estreptocócicos, como a febre reumática, o que faz com que os portadores da referida moléstia passem muitos anos dependentes do medicamento. Muitos pacientes nessa situação, rejeitam o tratamento devido à dor provocada pela injeção intra-muscular.

Alguns autores como SAGRISTAM et alii (1974) e MULLER-VAHL (1983) estudaram a intensa dor provocada por administração múltipla de antibióticos no mesmo local e as resultantes complicações musculares. Outros, como WEINSTEIN (1973), preocuparam-se em enfatizar os fatores que mais poderiam influenciar a absorção da droga, como a sua solubilidade e concentração, a via de administração e em vascularização do local de injeção. Recentemente, em sua tese de doutorado, TAKAKURA (1988) procedeu a avaliação morfométrica do efeito da massagem e ou calor em músculos de rato após injeção de antibiótico de absorção lenta. Já o estudo de BENITZ & DAMBACH (1966) limitou-se a medir as alterações após a administração de soluções aquosas. Alguns anos antes BEECHER (1957) apresentava protótipo para estudos que visassem a medida da dor.

Segundo GOODMAN & GILMAN (1973) a p.G.b. é absorvida muito lentamente a partir de depósitos no tecido muscular, sendo portanto a penicilina de depósito que produz o efeito antibiótico de maior duração verificável. No adulto são encontradas taxas sanguíneas de aproximadamente 0,03 a 0,05 unidade/ml durante 4 a 5 dias após a administração de 800.000 unidades de uma suspensão aquosa do medicamento. Assim, a droga pode ser indicada diariamente, semanalmente ou quinzenalmente, conforme o caso. Os autores afirmam ainda que entre as respostas irritativas à p.G.b., a mais comum é a dor conseqüente às reações inflamatórias estéreis no local da aplicação, reações estas que estão na dependência da concentração da droga. A administração de um milhão de unidades de p.G.b. dissolvidas em um mililitro de solução salina fisiológica, segundo os referidos autores, pode produzir intenso mal-estar por um tempo apreciável, enquanto que a injeção da mesma quantidade da substância dissolvida em cinco mililitros é acompanhada apenas de dor moderada que dura muito pouco. Assim, baseada na afirmação desses autores, a relação volume-concentração deveria ser levada em consideração por ocasião do preparo de p.G.b. O que se observa na prática, entretanto, é o uso da mesma quantidade de diluente com diferentes concentrações, seja 600.000 ou 2.400.00 unidades, que são injetadas em um só local.

FUERST et alii (1977) e DU-GÁS (1978) afirmaram que a quantidade máxima de solução a ser injetada via intramuscular deve ser de cinco mililitros.

Pensando-se que a dor pudesse estar relacionada à concentração do medicamento e/ou ao volume excessivo do mesmo, o que poderia ser feito com relação ao preparo da p.G.b., tendo em vista o alívio do paciente? Sabe-se que algumas manobras, como massagens, calor local e movimentação do membro injetado, favorecem a absorção de medica-

mentos injetados no tecido muscular com conseqüente diminuição do desconforto do paciente. No caso da p.G.b. tais manobras diminuiriam a ação da mesma, prejudicando o tratamento proposto? É consenso considerar-se que, uma vez administrada a p.G.b., pouco se pode fazer para aliviar o desconforto do paciente.

Outro aspecto a ser considerado na aplicação de uma droga intramuscular é o local. CASTELLANOS (1977) em estudos realizados junto à equipe de enfermagem, verificou, que as regiões deltóide, dorso-glútea e anteriores da coxa são as escolhidas para a aplicação da injeção intramuscular. Entretanto, a autora chama a atenção para a região ventro-glútea que, segundo HOCHSTETTER (1954), é a melhor indicada para injeções intramuscular. No que diz respeito a p.G.b., sabe-se que sua aplicação é geralmente feita na região dorso-glútea.

No sentido de colher subsídios para que se pudesse estudar melhor o preparo da p.G.b., recorreu-se inicialmente à análise da literatura pertinente, encontrando-se poucos trabalhos que pudessem esclarecer os aspectos relacionados à concentração e ao volume. Sabendo-se também que as informações de GOODMAN & GILMAN (1973) não têm sido observadas sistematicamente na prática da enfermagem, pensou-se então em estudar o problema experimentalmente em laboratório, para melhor ser observada a influência da concentração da droga e/ou volume de diluente. Sendo a dor provocada pela p.G.b., classicamente considerada como conseqüente a uma reação do tipo "corpo estranho", como referido em ROBBINS (1969) este estudo poderia mostrar a relação concentração/efeito flogístico local, dados estes que poderiam, talvez, fornecer subsídios para o preparo mais adequado desse medicamento. A relação reação inflamatória — volume dependente seria estudada posteriormente.

## II — OBJETIVO:

Avaliar histologicamente o potencial flogístico (capacidade de provocar uma reação inflamatória) da penicilina G benzatina via intramuscular.

Específico — Verificar experimentalmente as reações teciduais provocadas pela p.G.b., no músculo esquelético do rato, dependentes da concentração da droga.

## III — METODOLOGIA:

O experimento foi realizado no Laboratório de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Foram utilizados 27 ratos Wistar, machos, peso oscilando em torno de 240 gramas, divididos em três grupos, recebendo p.G.b. via intramuscular nas seguintes concentrações e volumes:

<i>Identificação</i>	<i>nº de ratos</i>	<i>concentração da droga</i>	<i>volume injetado</i>
Grupo I	21 ratos	240.000 UI/ml	0,5 ml
Grupo II	3 ratos	120.000 UI/ml	0,5 ml
Grupo III	3 ratos	60.000 UI/ml	0,5 ml

Após terem sido anestesiados com éter anestésico, os ratos foram submetidos a retirada manual dos pelos das regiões a serem injetadas e subseqüentemente feita assepsia do local com álcool a 70%. Todos os animais receberam a p.G.b. no bíceps femural direito e como controle foi injetado soro fisiológico no bíceps femural esquerdo, a fim de possibilitar o estudo comparativo. Foram utilizadas seringas de 3 ml e agulhas de 25X5, ambas descartáveis.

Inoculada a p.G.b. na sua concentração devida e decorrido um prazo previamente estabelecido, os animais, após terem sidos novamente anestesiados com éter anestésico foram sacrificados para colheita de material. Os membros injetados eram então ressecados, os músculos seccionados em vários fragmentos e colocados em pequenos frascos com formol a 10%. Os frascos que continham os fragmentos dos músculos bíceps femural direito eram identificados com a sigla BENZ-D-Rato nº 2... e os frascos que continham os fragmentos dos músculos bíceps esquerdo, com a sigla SF-E-Rato nº 1, SF-E-Rato nº 2... etc.

Como já foi mencionado, foram utilizados três grupos de animais que receberam três concentrações diferentes de p.G.b. no mesmo volume de solução. Os animais do Grupo I, foram numerados de 1 a 21 e subdivididos em sete grupos de três, variando o tempo de sacrificio em cada um deles. Assim, após a inoculação de 0,5 ml de p.G.b. a 240.000 UI/ml, via intramuscular, os animais foram sendo sacrificados em grupos de três, após, respectivamente, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 8 dias, 15 dias, e 30 dias.

Uma vez que a concentração da droga nesses animais foi a mesma, o procedimento visou estabelecer em que tempo se observaria a maior intensidade da reação. Após ter sido constatado que o tempo de maior intensidade de reação inflamatória ocorreu após 48 horas, procedeu-se a aplicação da p.G.b. em concentrações diferentes, mas no mesmo volume de solução, respectivamente 120.000 UI/ml no Grupo II e 60.000 UI/ml no Grupo III. Nestes dois grupos o volume total injetado foi de 0,5 ml como no Grupo I. No Grupo II, a solução foi composta de 0,25 ml de p.G.b. (120.000 UI/ml) + 0,25 ml de água destilada. A solução do Grupo III foi composta de 0,25 ml de p.G.b. (60.000 UI/ml) + 0,25 ml de água destilada.

Os frascos que continham o material retirado, sofreram preparação histológica do tipo hematoxilinaeosina e foram analisados ao microscópio óptico.

#### IV — *RESULTADOS*:

Diferenciando os do grupo controle (fig. 1) todos os animais do Grupo I apresentaram no local inoculado (bíceps femoral D), edema de conectivo (endo e perimísio) de moderada intensidade, acompanhado de reação inflamatória aguda. Esta caracterizou-se por intenso infiltrado inflamatório agudo, com presença de polimorfonucleares neutrófilos (p.m.n.) que margeavam uma lesão do tipo granulomatóide no perimísio. No interior desta lesão, notava-se a presença de cristais revelados por luz polarizada. Este tipo de lesão do perimísio configurava-se como verdadeiros abscessos margeados por enorme quantidade de p.m.n. com formação linfangiectásicas no seu interior.

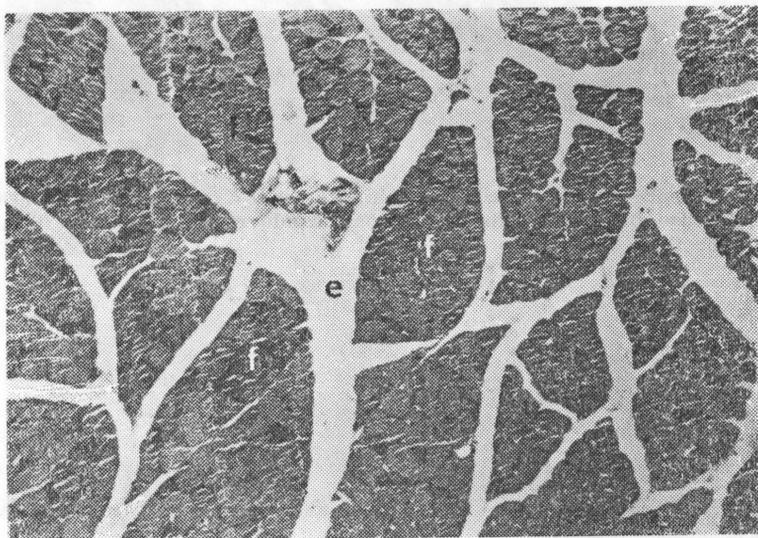
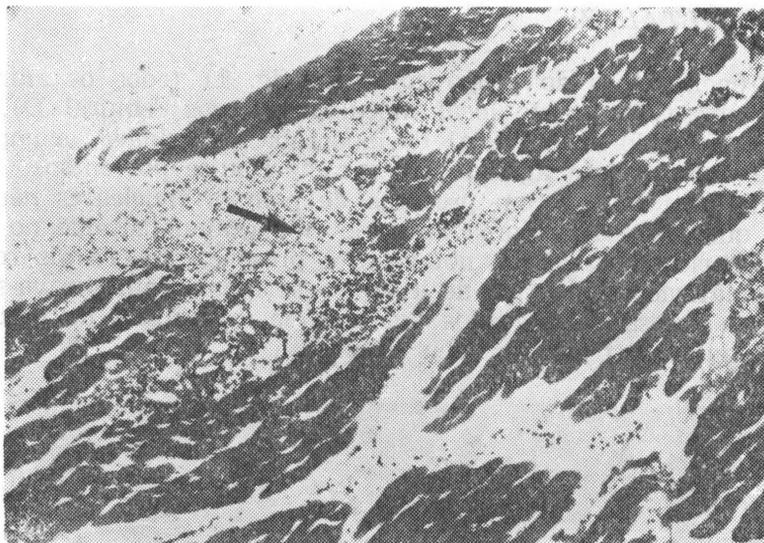


Figura 1 — Membro controle injetado com 0,5 ml de S.F. Notar o espaçamento entre as fibras musculares (f) causado pelo «edema» (e). Safrício após 6 hs. da injeção. H & F.; X 63.

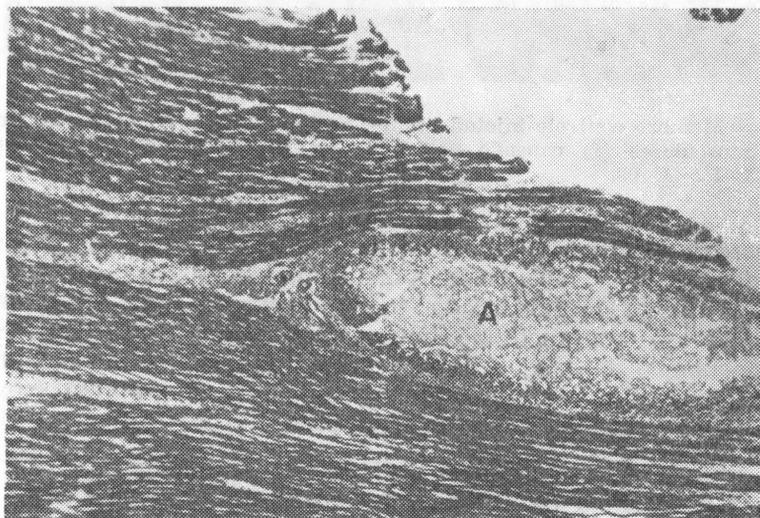
O quadro descrito na figura 2 era observado nos animais sacrificados 6 horas após a inoculação e permaneceu qualitativamente inalterado por 8 dias. Por outro lado, notou-se aumento de intensidade das lesões descritas, com pico máximo nos animais sacrificados 48 horas após a inoculação da droga (fig. 3). Nestes animais, o intenso infiltrado neutrofilico avançava para o interior das fibras musculares provocando sua destruição, caracterizando uma intensa miosite aguda.

A figura 4 mostra a reação inflamatória em forma de cunha, provável local de entrada da agulha hipodérmica.

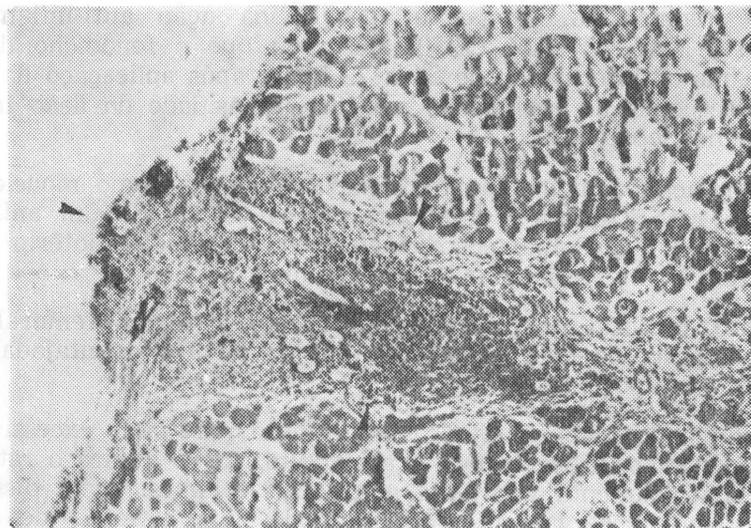
Após 8 dias da injeção, as lesões apresentadas mudaram de aspecto, sendo caracterizada por formação “granulomatóides” no perimísio que lembravam macrófagos xantomatosos claramente agrupados. Todas as



**Figura 2 —** Miosite aguda causada pela injeção de 0,5 ml de p.G.b. 240.000 UI/ml. Nota-se o intenso infiltrado inflamatório permeando e destruindo as fibras (seta). Sacrifício após 6 hs. da injeção. H & E; X 63.



**Figura 3 —** Lesão característica causada pela injeção de 0,5 ml de p.G.b. 240.000 UI/ml, após 48 hs. da injeção. Nota-se o verdadeiro abscesso «incrustado» na massa muscular (A). H & E; X 25.



**Figura 4 —** Aspecto interessante do provável local de entrada da agulha hipodérmica. Nota-se a reação inflamatória em forma de «cunha» (setas). H & E; X 63.

características da miosite e perimiosite aguda anteriormente descritas desapareciam, bem como os cristais polarizantes e após 30 dias não foi observado qualquer sinal do quadro descrito.

Os animais dos Grupos II e III, sacrificados 48 horas após a inoculação, apresentaram quadro histológico idêntico ao encontrado nos animais do Grupo I.

#### V — DISCUSSÃO:

A quantificação de processos dolorosos é ainda um obstáculo a ser transposto pelas ciências biológicas. Assim, todas as técnicas desenvolvidas para a avaliação da resposta dolorosa envolvem parâmetros extremamente subjetivos e de difícil interpretação.

Sendo o objetivo deste trabalho a determinação da natureza da lesão causada pela penicilina G benzatina, bem como sua correlação com a concentração, visando principalmente uma avaliação indireta da resposta dolorosa provocada pela droga, optamos por um estudo morfológico, partindo do pressuposto que a reação inflamatória induzida tem como repercussão clínica a sensação dolorosa.

Uma das evidências de que o processo inflamatório agudo provocado pela p.G.b. tem como principal repercussão clínica a dor, é a observada por KRUGMAN (1958) cujo estudo demonstrou uma sensível melhora da tolerância local, ou seja, redução da dor pela associação da

p.G.b. à prednisolona, droga de reconhecida ação anti-inflamatória. Além disso, MARKOWITZ (1980) observou que o fenômeno doloroso apresenta maior intensidade de 24 a 72 horas após aplicação da p.G.b., o que corresponde ao período de máxima intensidade da ação inflamatória por nós observada.

Com relação a metodologia utilizada, tomamos como modelo experimental o rato (*Rattus Norvegicus*) por se tratar de um animal de fácil disponibilidade, baixo custo, fácil manutenção em biotério e além disso extremamente resistente à dor e a infecções.

Quanto ao local da aplicação da droga, a região femural foi a escolhida por ser de fácil palpação e por apresentar avantajada massa muscular.

O volume utilizado foi de 0,5 ml, embora parecendo excessivo proporcionalmente ao utilizado no homem adulto, não o é para o rato, uma espécie conhecidamente resistente a grandes volumes. Além disso conforme podemos observar nos resultados da administração de solução fisiológica, a título de controle, na pata contra lateral não demonstrou-se excessiva, tendo sido observado apenas edema entre as fibras musculares de pequena intensidade e de natureza fugaz.

Quanto ao tempo de sacrifício adotado para as outras duas concentrações testadas optamos por 48 horas, por ter sido o intervalo de tempo que apresentou a maior intensidade do fenômeno inflamatório. Assim sendo, por se tratar da mesma droga, parece-nos lógico esperar que a evolução temporal do processo inflamatório observado seja o mesmo.

Conforme podemos observar nos resultados, as concentrações de 120.000 e 60.000 UI/ml apresentaram, após 48 horas da injeção, uma reação inflamatória semelhante em natureza e intensidade à primeira concentração testada (240.000 UI/ml).

## VI — CONSIDERAÇÕES GERAIS:

Embora os dados obtidos sugiram que a reação inflamatória não esteja relacionada com as concentrações de p.G.b. utilizadas, seria oportuno a repetição da experiência utilizando-se maior número de ratos. Paralelamente, considera-se imprescindível a realização de experimentos que estudem a reação tecidual diante diferentes volumes de solução com p.G.b.

## VII — CONCLUSÕES:

— O uso da p.G.b. no tecido muscular do rato, causa uma reação inflamatória (miosite).

— Esta reação apresenta maior intensidade após 48 horas e perdura por 30 dias.

— Após 8 dias de exposição, a reação inflamatória muda de características morfológicas adquirindo evidências de cronicidade.

— A reação inflamatória observada foi semelhante em natureza e intensidade para os três níveis de concentração testadas.

— Os resultados obtidos ainda não foram suficientes para fornecer subsídios necessários à alterações no procedimento da injeção intramuscular da p.g.b.

MASSAD, M.R.R.; MASSAD, E.; ARCURI, E.A.M. Study of tissue reaction caused by several concentrations of penicilin G. benzatin in rats. *Rev. Esc. Enf. USP*, São Paulo, 24(1):31-40, Apr. 1990.

*The search of scientific answers to problems due to procedures involving professional actions is a permanent challenge to the nurses committed with the improving of nursing care. In face of the intensive muscle soreness provoked by penicilin G benzatin shots, an experimental evaluation of this procedure was carried out in order to observe the influences of concentration and volumes used. This evaluation could give some insights to improve the nursing care, particularly those linked to the manipulation of the penicilin injection. The study was performed in the Faculty of Medicine of the University of São Paulo, in 27 Male Wistar rats. After the injection of the drug or saline solution in the right and left limb, respectively, the animals were sacrificed and the muscles in which the solution were injected were histologically examined. The use of penicilin provoked intensive inflammatory reaction, the peak intensity being attained after 48 hours. A remaining effect lasted about thirty days. The irreflatory reaction was similar for the three concentrations of penicilin. Nevertheless, the present research does not bring data that should modify the current injection procedures.*

UNITERMS: *Injections intramuscular. Penicillin G. benzathine.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEECHER, H.K. The measurement of pain: prototype for the quantitative study of subjective response. *Pharmacol. Rev.*, Baltimore, 9:59-209, 1957.
- BENITZ, K.F. & DAMBACH, G. Morphologic quantification of muscular lesions after injections of aqueous solutions. *Arzneim Forsch*, 16:658-61, 1966.
- CASTELLANOS, B.E.P. Estudo sobre as regiões para aplicação de injeção por via intramuscular. São Paulo, 1977. 88p. (Dissertação de mestrado — Escola de Enfermagem da USP).
- DU-GAS, B.W. *Enfermagem prática*. 3. ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1978. 526p.
- FUERST, E.V.; WOLF, L.V.; WEITZEL, M.H. *Fundamentos de enfermagem: o humanitarismo e as ciências na enfermagem*. 5. ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1974. 491p.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. 1615p.
- HOCHSTETTER, A. Über die intraglütäale injektion, ihre komplikationen und deroehütung. *Schweiz. Med. Wschr.*, Basel, 84:1226-7, 1954.
- KRUGMAN, S. & EBIN, E. Improved local tolerance to benzathine penicilin G. *Pediatrics*, Springfield, 21(2):243-7, Febr., 1958.
- MARKOWITZ, M. Benzathine penicilin G.: after thirty years. *Clinic. Therap.*, Princeton, 3(1):48-61, 1980.

- MULLER-VAHL, H. Adverse reaction after intramuscular injection. *Lancet*, London, 1(8332):1.060, May 1983.
- ROBBINS, S.L. Inflamação e reparo. In:———. *Patologia*. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1969. cap. 2. p.39-82.
- SACRISTAN, H.D.; SANCHEZ-BARBA, A.; LOPES-DURAN STERN, L.; MARTIN, J.M.; LINAN, C.; FERRANDEZ, L. Fibrosis of the gluteal muscles. *J. Bone J Surg.*, Boston, 56-A(7):1510-12, 1974.
- TAKAKURA, M.S. Avaliação morfométrica do efeito da massagem e/ou calor no músculo Gluteus-maximus de ratos: um estudo em animais injetados e não injetados com antibióticos de absorção lenta. 1988. 103p. (Teste de doutorado — Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto — USP).
- WEINSTEIN, L. Antibióticos: a penicilina. In: GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. cap. 57. p.1110-44.

Recebido em 30/08/88