

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO PROFILÁTICO DA CEFAZOLINA FRENTE À  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI***

**Pricilla de Oliveira Henz**

**Porto Alegre, 2019**

**Pricilla de Oliveira Henz**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO PROFILÁTICO DA CEFAZOLINA FRENTE À  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI***

Trabalho apresentado como requisito parcial  
para aprovação na Disciplina de Trabalho de  
Conclusão do Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Teresa Dalla Costa  
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Celia Palma  
Colaboradora: Graziela Lock

Porto Alegre, 2019

*Para Milene:  
além de mãe e amiga,  
você me proporcionou ser a mulher que sou hoje.*

Ao concluir esse trabalho e essa graduação, quero agradecer...

... primeiramente, à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Teresa, não somente pela elaboração desse trabalho, mas também por ter me apresentado a farmacocinética, pelo conhecimento que tenta transmitir e pela dedicação que tem com seus alunos;

... à Prof<sup>a</sup> Bibiana, pela ajuda e disponibilidade, também porque as aulas e reuniões não seriam as mesmas sem seus comentários engraçados;

... ao Prof. Eduardo, por tirar minhas dúvidas e por ser sempre paciente e prestativo;

... aos meus colegas do CBIM, cada um de vocês me ajudou de alguma forma;

... às minhas amigas, que viveram comigo vários dramas universitários, mas que, além disso, compartilharam comigo experiências que levaremos para o resto da vida;

... e, por fim, a minha família que me mostrou que o que importa de verdade não são os títulos, nem o melhor emprego, mas sim o relacionamento que temos com as pessoas que amamos.

... Também não posso esquecer de agradecer à universidade pública e aos programas de fomento a pesquisa.

Que continuem a existir, sempre e para todos!

## RESUMO

A *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli* são as agentes mais prevalentes em infecções de sítio cirúrgico. As doses de 2 g e 3 g de cefazolina (CFZ) são usadas na profilaxia de cirurgias bariátricas, havendo dúvida sobre a efetividade da profilaxia nesses pacientes. Para otimizar posologias antimicrobianas, a modelagem farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) pode ser uma alternativa aos índices PK/PD, largamente utilizados na clínica. O objetivo desse trabalho foi prever a probabilidade de atingir o alvo (PTA) de 100% de profilaxia em 4 h de cirurgia bariátrica para as doses de 2 g e 3 g de CFZ frente a *S. aureus* e *E. coli*, utilizando modelo PK/PD construído a partir de dados de *time-kill curves in vitro*, e comparar esses resultados com as PTA's previstas pelo índice PK/PD. Para isso, as cepas ATCC 29213 de *S. aureus* e ATCC 25922 de *E. coli* foram tratadas com diferentes concentrações submúltiplas e múltiplas da concentração inibitória mínima (CIM) determinada para cada cepa, em experimentos de curva de morte bacteriana. Esses dados foram ajustados ao modelo de  $E_{\max}$ -modificado. A partir dos parâmetros farmacológicos calculados, foram feitas simulações de Monte Carlo, tendo como alvo terapêutico 100% do tempo médio de cirurgia (4 h) com redução do número de UFC/mL de 2-log em relação ao inóculo inicial para cada bactéria avaliada. Como critério de aceitação estabeleceu-se uma PTA de 90%. Nas *time-kill curves*, em concentrações de correspondentes a 8-16 x CIM um efeito paradoxal é observado frente à *S. aureus*. A modelagem das *time-kill curves* para *E. coli* incluiu um parâmetro para descrever a saturação de meio ( $N_{\max}$ ), enquanto para *S. aureus* adicionou-se também um parâmetro para descrever o atraso no início do efeito ( $\gamma$ ). Ambas as doses atingem PTA de 90% frente às CIMs mais frequentes de *E. coli* (CIM 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e *S. aureus* (CIM 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Contudo, apenas para a dose de 3 g PTAs acima de 90% são observadas até a CIM de 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , para ambas bactérias, sendo essa a dose recomendada como profilaxia de cirurgia bariátrica. Entretanto, a modelagem do efeito paradoxal observado se faz necessária para melhor descrever o desfecho de diferentes posologias profiláticas desse fármaco.

Palavras-chave: *Modelo PK/PD. Simulação de Monte Carlo. Profilaxia. Cefazolina. Cirurgia Bariátrica.*

## ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are the most prevalent agents in Gram-positive and Gram-negative surgical site infections (SSI), respectively. Doses of 2 g and 3 g of cefazolin (CFZ) are used for bariatric surgery prophylaxis, and there is doubt about the effectiveness of prophylaxis in these obese patients. To optimize antimicrobial dosages, pharmacokinetic/ pharmacodynamic modeling (PK/PD) may be an alternative to the widely used clinical PK/PD indices. The aim of this study is to predict the probability of target attainment (PTA) of 100% of prophylaxis, during 4 h bariatric surgery, using 2 g and 3 g CFZ doses against *S. aureus* and *E. coli*, through a PK/PD model, constructed from in vitro time-kill curves data, and compare these results with the PTAs predicted by the PK/PD index. For this, *S. aureus* ATCC 29213 and *E. coli* ATCC 25922 strains were treated with different submultiple and multiple concentrations of the minimum inhibitory concentration (MIC) determined for each strain in time-kill curves experiments. These data were adjusted to the modified- $E_{max}$  model. From the calculated pharmacological parameters, Monte Carlo simulations were performed whose therapeutic target was the maintenance of a 2-log reduction of the initial inoculum during 4 hours of surgery for each bacteria evaluated. The acceptance criterion was a PTA of 90%. In time-kill curves, at concentrations corresponding to 8-16 x MIC, a paradoxical effect is observed against *S. aureus*. Time-kill curves modeling for *E. coli* included a parameter to describe media saturation ( $N_{max}$ ), while for *S. aureus* a parameter was also added to describe the delay at onset of effect ( $\gamma$ ). Both doses reach 90% PTA compared to the most frequent *E. coli* MICs (MIC 1  $\mu\text{g}$  / Ml) and *S. aureus* (MIC 0.5  $\mu\text{g}$  / mL). However, only at a dose of 3 g of CFZ, PTAs above 90% are observed up to a MIC of 2  $\mu\text{g}$ /mL for both bacteria, which is the recommended dose for bariatric surgery prophylaxis. However, modeling of the observed paradoxical effect is necessary to better describe the outcome of different prophylactic dosages of this drug.

Keywords: *PK/PD model. Monte Carlo simulations. Prophylaxis. Cefazolin. Bariatric surgery.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Índices PK/PD usados para otimizar posologia de antimicrobianos.....	13
Figura 2. Simulações de Monte Carlo e %PTAs.....	26
Figura 3. Curvas de crescimento <i>in vitro</i> de <i>E. coli</i> ATCC 25922 e <i>S. aureus</i> ATCC 29213.....	31
Figura 4. <i>Time-kill curves</i> obtidas com diferentes concentrações de CFZ, múltiplos da CIM de (A) <i>E. coli</i> e (B) <i>S. aureus</i> .....	32
Figura 5. <i>Time-kill curves</i> da CFZ frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 modeladas pelo modelo de $E_{máx}$ modificado (Eq. 2).....	34
Figura 6. <i>Time-kill curves</i> da CFZ frente a <i>S. aureus</i> ATCC 29213 modeladas pelo modelo de $E_{máx}$ modificado (Eq. 3).....	35
Figura 7. Comparação entre as PTAs previstas pelo índice PK/PD (Palma et al, 2018) com as previstas pelo modelo PK/PD.....	37
Figura 8. Efeito de diferentes concentrações de cefalotina frente <i>S. aureus</i> .....	40
Figura 9. Taxa de sobrevivência (%) em função da concentração (mg/kg) de ratos infectados com <i>P. vulgaris</i> de cepa não-produtora (símbolo vazado) e produtora (símbolo preenchido) de $\beta$ -lactamases, tratados com (A) cefmenoxima e (B) cefbuperazona.....	41
Figura 10. Representação dos modelos PK/PD desenvolvidos por Nielsen e colaboradores em 2007 (A) e 2011 (B).....	43
Figura 11. Ilustrações esquemáticas de quatro estruturas diferentes do modelo PK/PD (painel esquerdo) com <i>time-kill curves</i> simuladas após uma exposição a concentração constante do fármaco - estática (painel do meio) ou concentrações flutuante - dinâmica (painel direito).....	45

## LISTA DE ABREVIATÖES

ATCC - *American Type Culture Collection* ou Coleção de Microorganismos Norte Americana

AUC – *Area Under the Curve* ou Área Sobre a Curva

CFZ – Cefazolina

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – *Clinical Laboratory Standards Institute*

EUCAST - *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

*f*T – Fração livre tecidual

ISC – Infecção de Sítio Cirúrgico

PD – *Pharmacodynamic* ou Farmacodinâmica

PK – *Pharmacokinetics* ou Farmacocinética

PTA – *Probability of Target Attainment* ou Probabilidade de Atingir o Alvo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
3.1	ÍNDICES PK/PD.....	13
3.2	MODELOS PK/PD.....	15
3.3	SIMULAÇÃO DE MONTE CARLO PARA AVALIAÇÃO DE PTA.....	18
3.4	AVALIAÇÃO PK/PD NA PROFILAXIA DE CIRURGIA BARIÁTRICA.....	20
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>28</b>
4.1	SELEÇÃO DAS CEPAS E DETERMINAÇÃO DA CIM.....	28
4.1.1	<i>Seleção e Estoque das Cepas</i> .....	<b>28</b>
4.1.2	<i>Preparação do inóculo inicial</i> .....	<b>28</b>
4.1.3	<i>Determinação da CIM</i> .....	<b>28</b>
4.2	DETERMINAÇÃO DO TEMPO DA FASE DE LATÊNCIA.....	29
4.3	<i>TIME-KILL CURVES</i> .....	30
4.4	ANÁLISE DE DADOS.....	30
4.4.1	<i>Modelagem PK/PD</i> .....	<b>30</b>
4.4.2	<i>Simulação de Monte Carlo</i> .....	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
5.1	DETERMINAÇÃO DA CIM E TEMPO DE FASE DE LATÊNCIA.....	32
5.2	<i>TIME-KILL CURVES</i> .....	33
5.3	SIMULAÇÕES DE MONTE CARLO.....	37
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as infecções hospitalares, as infecções de sítio cirúrgico (ISC) permanecem como um dos eventos adversos mais comuns e levam ao prolongamento do tempo de internação, aumento das taxas de morbidade, mortalidade e também dos custos hospitalares (RODRIGUES & SIMÕES, 2013; DELLINGER, 2018). A ISC é apontada como a de maior prevalência entre as infecções associadas a cuidados em saúde e, no Brasil, ocupa a terceira posição dentre as infecções encontradas nos serviços de saúde, compreendendo de 14 a 16% das infecções em pacientes hospitalizados (ANVISA, 2017; CDC, 2018).

A administração profilática de antimicrobianos, previamente a procedimentos médicos invasivos, continua sendo uma forma bastante eficaz de evitar a ocorrência das ISC (BERRÍOS-TORRES, 2017). A profilaxia é aprovada em diversos protocolos, sendo comprovada a sua importância em diversos estudos clínicos (BAUM *et al.*, 1981; BRATZLER & HOUCK, 2004; BRATZLER *et al.*, 2013). A importância da profilaxia se torna ainda maior em casos de paciente portadores de certas patologias, como imunodeficiência ou obesidade, uma vez que estes fatores aumentam a suscetibilidade a infecções pós-operatórias (BASSETI *et al.*, 2015).

O uso de cefalosporinas de primeira geração é largamente recomendado na profilaxia cirúrgica, devido a sua segurança e espectro relativamente amplo, que abrange tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas (PEGLER & HEALY, 2007). Dentro desse grupo, a cefazolina (CFZ) apresenta alta atividade contra cocos Gram-positivos, incluindo estafilococos, estreptococos e pneumococos. Frequentemente *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* são sensíveis, enquanto se observa pouca atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* e *Acinetobacter*. A CFZ é recomendada como profilaxia para cirurgia cardiotorácica, cirurgia vascular, artroplastia de quadril ou joelho, neurocirurgia, procedimentos ginecológicos (BASSETI *et al.*, 2015), cirurgia bariátrica ou qualquer outra cirurgia da região abdominal (CHOPRA *et al.*, 2010; FISCHER *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2017), entre outras.

As bactérias presentes na microbiota cutânea são os principais agentes que invadem e se proliferam no sítio cirúrgico causando uma infecção. A principal bactéria oportunista nesses casos é *Staphylococcus aureus* (KAYE & ANDERSON, 2009; MONTES, *et al.*, 2014; VILAYALAKSHMI, 2015; BANERJEE & ARGÁEZ, 2017), que causa 39,28% das ISC por Gram-positivos (SANTOS *et al.*, 2016), e *E. coli* (KAYE & ANDERSON, 2009; MOINE *et al.*, 2016), que causa 30,35% das infecções de sítio cirúrgico por Gram-negativos (SANTOS *et al.*, 2016). Estas e outras espécies estão presentes na pele dos pacientes, nas mãos dos médicos e enfermeiros, podendo contaminar materiais cirúrgicos e outros instrumentos e superfícies, culminando em uma infecção.

A determinação da dose profilática, em geral, baseia-se principalmente no parâmetro farmacodinâmico de concentração inibitória mínima (CIM) e na concentração sérica do fármaco como parâmetro farmacocinético. Porém, a concentração sérica não reflete necessariamente a concentração livre do antimicrobiano no local de ação (MUELLER, DE LA PEÑA & DERENDORF, 2004). No caso dos  $\beta$ -lactâmicos, a concentração de antimicrobiano livre no sítio de ação deveria estar acima da concentração inibitória mínima possivelmente durante todo o tempo de cirurgia para garantir a efetividade profilática.

A utilização de um parâmetro farmacodinâmico estático, a CIM, bem como das concentrações séricas, que não refletem necessariamente as concentrações no sítio de ação, apresenta limitações. Devido a estas limitações, a modelagem farmacocinética e farmacodinâmica (PK/PD) vem sendo estudada nos últimos anos como uma maneira de integrar as características farmacocinéticas e propriedades farmacodinâmicas do fármaco, auxiliando assim a estabelecer regimes terapêuticos mais conscientes (MEIBOHN & DERENDORF, 1997; SCHIMIDT *et al.*, 2008). Nesta modelagem, pode-se considerar a flutuação das concentrações livres do fármaco, que ocorre devido ao processo de eliminação, bem como utilizar dados farmacodinâmicos obtidos de curvas de morte celular (*time-kill curves*), integrando e avaliando o crescimento e morte microbiana em função do tempo e da concentração de antimicrobiano no sítio de ação (MUELLER, DE LA PEÑA & DERENDORF, 2004).

Em cirurgia bariátrica a dose de CFZ de 2 g é utilizada para profilaxia em pacientes adultos, com base em evidências clínicas (FORSE *et al.*, 1989). Para

pacientes com peso igual ou superior a 120 kg, é recomendada a dose de 3 g, (BRATZLER & HOUCK, 2004; PAI, *et al.*, 2007; BRATZLER *et al.*, 2013). No entanto, a real necessidade de ajuste de dose para pacientes obesos ainda é questionada. Alguns estudos demonstram que a dose usual de CFZ deve ser incrementada, já que as concentrações plasmáticas e teciduais avaliadas em pacientes obesos estavam abaixo da CIM (EDMINSTON *et al.*, 2004; BRILL *et al.*, 2014). Nos estudos conduzidos por nosso grupo de pesquisa, a dose de 2 g mostrou-se adequada para cirurgias bariátrica com tempo de duração de até 4 h, na dependência do perfil microbiológico do serviço onde a cirurgia está sendo realizada (PALMA *et al.*, 2018). Essa conclusão baseou-se em simulações de Monte Carlo utilizando o índice PK/PD tempo que em as concentrações livres permanecem acima da CIM ( $f_t > CIM$ ) utilizando concentrações livres subcutâneas de CFZ de pacientes em cirurgia bariátrica obtidas por microdiálise

Em função das limitações dos índices PK/PD, no presente trabalho propomos a avaliação comparativa das probabilidades de atingir o alvo terapêutico para as doses de 2 g e 3 g de CFZ (PTA - *Probability of Target Attainment*) obtidas a partir dos índices PK/PD e obtidas a partir de modelo PK/PD construído com base nas curvas de morte bacteriana *in vitro contra E. Coli e S. auerus*. O resultado dessa comparação deve auxiliar na escolha da dose profilática adequada para uso da CFZ na profilaxia de ISC em pacientes em cirurgia bariátrica.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a probabilidade de atingir o alvo terapêutico de 100% do tempo de 4 horas de cirurgia bariátrica com concentração de CFZ acima da CIM, para as doses de 2 g e 3 g, frente a *S. aureus* e *E. coli* utilizando um modelo PK/PD *in vitro* construído a partir de dados de *time-kill curves*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Selecionar as cepas dos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* para utilização no modelo *in vitro*, com base na determinação da CIM para a CFZ.

Determinação da CIM e do tempo de latência (*lag time*) para as cepas selecionadas.

Realizar os experimentos para determinação das *time-kill curves* estáticas.

Modelar os perfis de morte bacteriana (unidade formadora de colônia/mL por tempo) e para obter os parâmetros farmacodinâmicos ( $k_{m\acute{a}x}$  e  $EC_{50}$ ) através de regressão não-linear utilizando o *software* Scientist<sup>®</sup>.

Realizar a simulação de Monte Carlo com o *software* Berkley Madonna<sup>®</sup>, e calcular as probabilidades de atingir o alvo profilático pelo modelo PK/PD.

Comparar as PTA's obtidas pelo modelo PK/PD com as obtidas pelo índice PK/PD, previamente publicados, avaliando comparativamente a capacidade preditiva das duas abordagens.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

As concentrações plasmáticas e teciduais de um fármaco administrado a um paciente são dependentes dos processos de absorção, distribuição e eliminação condicionados pelo organismo, os quais irão contribuir significativamente para o desfecho clínico. A variação da concentração do fármaco nos diferentes tecidos e fluidos do paciente ao longo do tempo é estudada pela farmacocinética. Através dela é possível obter os parâmetros farmacocinéticos como *clearance*, volume de distribuição, meia-vida e biodisponibilidade, que caracterizam os processos de absorção e distribuição aos quais o fármaco é submetido. Se o fármaco chegar ao sítio de ação na concentração desejada, ele passa a produzir o efeito de acordo com seu mecanismo de ação, o que é estudado pela farmacodinâmica, que descreve a relação entre efeito e concentração do fármaco, seja ela sérica ou no local de ação (biofase).

#### 3.1 ÍNDICES PK/PD

Os índices PK/PD são a relação quantitativa entre um parâmetro farmacocinético, que pode ser a concentração sérica ou tecidual do fármaco, e um parâmetro farmacodinâmico microbiológico, como a CIM (Figura 1). O índice que melhor descreve a eficácia de um antimicrobiano depende do mecanismo de ação desse fármaco. Os aminoglicosídeos, por exemplo, que são fármacos que agem na síntese proteica da bactéria, têm ação denominada concentração-dependente, já que índice pico de concentração plasmática livre ( $C_{m\acute{a}x}$ )/CIM é o que melhor preditor da eficácia clínica do tratamento. Nesses casos, mesmo as concentrações do fármaco livre inferiores a CIM continuam tendo efeito antimicrobiano, prevenindo o recrescimento bacteriano, pois o fármaco apresenta efeito pós-antibiótico. Assim como os aminoglicosídeos, as fluorquinolonas, a polimixina, a daptomicina e o metronidazol são considerados concentração dependentes, pois os índices mais preditivos da eficácia terapêutica são o  $C_{m\acute{a}x}$ /CIM ou área sob a curva de 24h/CIM ( $AUC_{24}/CIM$ ). Para os  $\beta$ -lactâmicos a previsão da eficácia é dependente do tempo em que as concentrações livres ficam acima da CIM no local de ação num intervalo entre doses ( $\%fT > CIM$ ), ou seja, um aumento na concentração não gera um

aumento na taxa de morte bacteriana. Essa classe de antimicrobianos é denominada tempo-dependente, ou seja, a manutenção da concentração de fármaco livre acima da CIM durante o tempo de tratamento é o fator mais importante para gerar o efeito desejado (PAIVA et al, 2011; KITAMURA et al, 2014; ASÍN-PRIETO, RODRÍGUEZ-GASCÓN & ISLA, 2015).

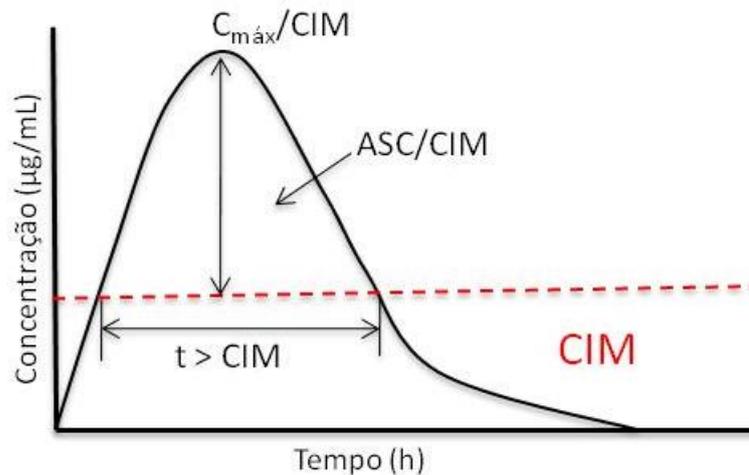


Figura 1. Índices PK/PD usados para otimizar posologia de antimicrobianos.

Há muito tempo os estudos clínicos já mostraram que o sucesso no tratamento é maior quando são utilizados os índices PK/PD para estabelecer regimes posológicos (SCHENTAG, 2000; ZHOU et al., 2011; PAJOT et al., 2015; BHAVNANI et al., 2015). Já em 1987, Moore e colaboradores descreveram uma forte associação entre a resposta clínica e o aumento da relação  $C_{máx}/MIC$  de pacientes com infecções por bactérias Gram-negativas – incluindo infecção urinária, cutânea, abdominal, bacteremia e pneumonia – tratados com gentamicina, tobramicina ou ampicacina, que são aminoglicosídeos. Para os  $\beta$ -lactâmicos, um estudo clínico de Mueller e colaboradores (2012) com ceftazidima, entre outros tantos, mostrou que quando  $\%fT > MIC$  é cerca de 45% do intervalo entre doses, há uma forte probabilidade de negativar a cultura no final da terapia em pacientes com pneumonia nosocomial.

Entretanto, os índices PK/PD podem não ser tão preditivos dos desfechos clínicos observados nos pacientes, principalmente quando se utilizam concentrações plasmáticas totais do fármaco, sem levar em consideração a ligação a proteínas

plasmáticas e nem a penetração tecidual (DERENDORF, 1989). Além disso, para o caso dos fármacos concentração-dependente, diversas posologias podem gerar a mesma ASC/CIM, no entanto, nem todas são eficazes. Essa abordagem também não considera a variação da concentração do fármaco e, conseqüentemente, variação do efeito ao longo do tempo, não permitindo fazer previsões comparativas do efeito de diferentes posologias (MUELLER *et al.*, 2012).

Entre as limitações do uso dos índices PK/PD, há necessidade também de destacar as limitações do parâmetro PD utilizado, uma vez que a CIM é um parâmetro estático tipo tudo ou nada, que assume que não há efeito do fármaco em concentrações abaixo desse valor limite, o que não corresponde à realidade. Portanto, apenas a relação entre a CIM e as concentrações séricas ou teciduais do fármaco não são suficientemente preditivas da eficácia do tratamento com antimicrobianos (LIU *et al.*, 2005; PAIVA *et al.*, 2011; TASSO, ANDRADE & DALLA COSTA, 2011).

### 3.2 MODELOS PK/PD

A modelagem PK/PD é uma ferramenta matemática que relaciona farmacocinética e farmacodinâmica, descrevendo o perfil de efeito ao longo do tempo, considerando a variação da concentração do fármaco (LIU, MUELLER & DERENDORF, 2002). A possibilidade de descrição do efeito ao longo do tempo é a vantagem da modelagem PK/PD em relação aos índices PK/PD utilizados para escolha de posologias para antimicrobianos. A modelagem PK/PD é empregada para racionalizar o desenvolvimento de fármacos, auxiliar no planejamento de estudos clínicos e na tomada de decisões importantes, incluindo o delineamento do regime de dosagem ideal (DERENDORF & MEIBOHM, 1999; SCHMIDT *et al.*, 2008). No tratamento com antimicrobianos, o uso da modelagem PK/PD para otimização posológica apresenta um impacto importante nos resultados do tratamento, na redução de custos e na redução da resistência bacteriana (LIU, MUELLER & DERENDORF, 2002).

Experimentos de infecção *in vitro* são uma forma para aquisição de dados farmacodinâmicos para a modelagem PK/PD, podendo ser utilizadas para isso as *time-kill curves*. Essas curvas são uma maneira de avaliar a morte celular em função do tempo causada por diferentes concentrações de antimicrobiano, através da

contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) ou da densidade de bactérias ou da turbidez do meio de cultura após um intervalo de tempo (BOSWELL *et al.*, 1999; REGOES *et al.*, 2004; FOERSTER *et al.*, 2016). Geralmente são construídas utilizando concentrações que podem variar ao longo do tempo ou são submúltiplos ou múltiplos da CIM, que é a menor concentração do fármaco em que não se observa crescimento bacteriano visível após 18 à 24 horas de incubação de um inóculo de  $10^5$  UFC/mL (MUELLER, DE LA PEÑA & DERENDORF, 2004).

Essas curvas são denominadas estáticas quando a concentração do fármaco não varia com tempo, apenas a concentração de bactérias, diferente das *time-kill* dinâmicas, cujas concentrações de fármaco variam com o tempo através de diluições. A desvantagem das *time-kill* estáticas é justamente não mimetizar o decréscimo da concentração do antimicrobiano no local de ação. Sendo assim, as *time-kill* dinâmicas simulam melhor o que acontece *in vivo* (MURAKAWA *et al.*, 1980; FIRSOV *et al.*, 1997). Por outro lado, os experimentos estáticos são vantajosos em função da sua simplicidade de execução e também geram dados que permitem obter modelos PK/PD capazes de descrever o efeito do fármaco em função do tempo.

Os dados experimentais são modelados com modelos matemáticos farmacodinâmicos, sendo o modelo de  $E_{\text{máx}}$  o mais empregado para descrever a relação concentração-efeito dos antimicrobianos. Esse modelo permite obter parâmetros como  $k_{\text{máx}}$  (velocidade máxima de morte bacteriana - efeito máximo do fármaco), que representa a atividade intrínseca do fármaco, e  $EC_{50}$  (concentração necessária para atingir 50 % do efeito máximo), que corresponde a medida da potência do fármaco. A equação geral do modelo de  $E_{\text{máx}}$  é (Equação 1):

$$\frac{dN}{dt} = \left( k_0 - \frac{k_{\text{máx}} \cdot C}{EC_{50} + C} \right) \cdot N \quad (\text{Eq. 1})$$

onde  $dN/dt$  é a variação do número de bactérias em função do tempo,  $k_0$  ( $h^{-1}$ ) é a constante de crescimento bacteriano na ausência de antimicrobiano,  $C$  (mg/L) é a concentração do fármaco em função do tempo e  $N$  é o número de bactérias viáveis no inóculo inicial, expresso em UFC/mL (MUELLER, DE LA PEÑA & DERENDORF, 2004). Diversas modificações nesse modelo já foram introduzidas para melhor descrever as diferentes curvas obtidas *in vitro*. É possível inserir na equação um

fator de saturação do meio, que corresponde ao número máximo de bactérias que pode viver naquela quantidade de nutrientes que o meio dispõe ( $N_{\text{máx}}$ ). Também podem ser utilizadas correções exponenciais elevadas a constantes como: a constante de adaptação no meio ( $z$ ), que é utilizada nos casos em que o fármaco é adicionado no meio de cultura antes que a bactéria tenha entrado na fase de crescimento exponencial; a constante ( $\gamma$ ) que corresponde ao atraso (*delay*) no início do efeito; e a constante que descreve um início retardado do crescimento ( $x$ ) (NOLTING *et al.*, 1996; MOUTON e VINKS, 2005; TREYAPRASERT *et al.*, 2007).

São encontrados na literatura estudos de modelagem PK/PD *in vitro* para diferentes antimicrobianos, tais como para piperacilina-tazobactama (DALLA COSTA *et al.*, 1997; LIU, RAND & DERENDORF, 2004), piperacilina (NOLTING *et al.*, 1996), azitromicina (TREYAPRASERT *et al.*, 2007), gentamicina (TAM *et al.*, 2006), levofloxacino e gatifloxacino (TASSO *et al.*, 2011) entre tantos outros. Todos os estudos são unânimes em afirmar que os modelos PK/PD são melhores para realizar os ajustes de posologias antimicrobianas do que os índices PK/PD, uma vez que permitem descrever o perfil temporal de efeito do fármaco após a exposição das bactérias a concentrações livres flutuantes do mesmo, fazendo uma melhor aproximação da realidade, além de permitirem a previsão do desfecho do tratamento para posologias distintas, o que não é possível com a utilização dos índices PK/PD (MUELLER, *et al.*, 2012).

Quanto as cefalosporinas, mais especificamente, também são encontrados diversos artigos sobre modelagem PK/PD. De la Peña e colaboradores (2004) avaliaram o efeito do cefaclor sobre diferentes bactérias utilizando modelagem PK/PD. Usando modelo de infecção *in vitro*, isolados de *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenza* e *Streptococcus pneumoniae* foram expostos a concentrações livres do fármaco observadas no fluido intersticial após administração de doses usuais cefaclor em formas farmacêuticas de liberação imediata e liberação modificada. O modelo  $E_{\text{máx}}$ -sigmoidal foi utilizado para obtenção dos parâmetros PK/PD. Com base nesses parâmetros, os autores concluíram que para o cefaclor, o tratamento utilizando duas doses diárias de 750 mg da formulação de liberação modificada não é uma alternativa conveniente e segura comparado à administração de três doses diárias de 500 mg da forma de liberação modificada (DE LA PEÑA, *et al.*, 2004).

Mouton e Vinks (2005), buscando explorar as diferenças entre CIM e os parâmetros PK/PD, utilizaram modelos de infecção *in vitro* para gerar as curvas de morte bacteriana para ceftazidima, meropenem e tobramicina frente a *P. aeruginosa*. Os dados foram descritos utilizando o modelo  $E_{\text{máx}}$ -modificado com fator de Hill. Os autores observaram que, com as concentrações em declínio, a morte bacteriana diminui até atingir uma concentração limiar específica. Esta concentração, na qual as bactérias não estão morrendo, mas também não são capazes de crescer, é denominada concentração estacionária (SC) e não é igual à CIM. As simulações PK/PD sobre diferentes taxas de morte, de crescimento e fatores de inclinação mostraram que, para os antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, o SC está próximo do valor de CIM, o que pode explicar por que as concentrações *in vivo* necessitam estar acima da CIM para garantir a eficácia desses fármacos. Para os antimicrobianos concentração-dependente, tais como os aminoglicosídeos e quinolonas, o SC mostrou-se bastante diferente da CIM sendo, em geral, muito mais baixo. Nesses casos, não há necessidade de manter concentrações no sítio de ação acima da CIM, pois a concentração efetiva é menor. As conclusões dos autores comprovam a hipótese de que apenas a CIM não é um bom parâmetro farmacodinâmico para caracterizar a relação concentração-efeito de antimicrobianos.

### 3.3 SIMULAÇÃO DE MONTE CARLO PARA AVALIAÇÃO DE PTA

Mesmo fazendo o ajuste de dose do fármaco utilizando ferramentas como os índices ou a modelagem PK/PD, essa posologia deve ser testada antes de ser administrada a um paciente. Isso é necessário porque essas abordagens não levam em consideração a variação entre indivíduos, que podem levar a diferentes desfechos clínicos para o mesmo tratamento, ainda mais considerando que pacientes geralmente não respondem da mesma forma que pessoas saudáveis, situação que aumenta ainda mais a variabilidade (ASÍN-PRÍETO, RODRÍGUES-GASCÓN & ISLA, 2015). Através de parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos obtidos de estudos clínicos ou *in vitro*, é possível fazer uma simulação de Monte Carlo e gerar uma população de indivíduos através de amostragens aleatórias sucessivas. Utilizando essa simulação, a probabilidade de atingir determinado alvo terapêutico pode ser calculada (ROBERTS, KIRKPATRICK & LIPMAN, 2010). Assim, diferentes doses de um mesmo fármaco podem ser

testadas em indivíduos virtuais pertencentes a uma mesma população, mas que possuem variabilidade entre si. As simulações de Monte Carlo são bastante utilizadas na biologia e na área da saúde, já que auxiliam a expandir o número de amostras quando obtê-las experimentalmente é muito difícil.

Na literatura são encontrados vários artigos que utilizam a PTA estabelecer o melhor regime de doses para antimicrobianos. Como exemplo pode ser citado o trabalho de Nicasio e colaboradores (2009), no qual foi utilizado um modelo PK/PD para pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica. Nesse estudo, os PTAs para cinco regimes de infusão prolongada diferentes de cefepime foram investigados em três grupos de pacientes classificados pela sua função renal através de faixas de *clearance* de creatinina ( $CL_{CR}$ ), objetivando que o tratamento deveria alcançar o alvo de  $50\% fT > MIC$ . Os resultados mostraram que, em pacientes com  $CL_{CR}$  de 50 a 120 mL/min, o regime de infusão prolongada em altas doses (2 g a cada 8 h, com infusão de 3 h) alcançou PTAs de 91,8%, 78,1% e 50,3% para o alvo terapêutico nas CIMs de 8 µg/mL (*breakpoint* de suscetibilidade), 16 µg/mL (intermediário) e 32 µg/mL (*breakpoint* de resistência), respectivamente. Os regimes tradicionais de dose, que usam apenas 30 min de infusão, alcançaram PTAs significativamente mais baixas para as mesmas CIMs. Entre os pacientes com  $CL_{CR}$  de 30 a 49 mL/min, uma dose de 2 g a cada 12 h infundida em 3 h alcançou PTAs de 93,8%, 79,8% e 50,7% para as CIMs de 8 µg/mL, 16 µg/mL e 32 µg/mL, respectivamente. A mesma dose administrada como infusão de meia hora teve probabilidades um pouco menores nesta faixa de CIM. Em pacientes com  $CL_{CR}$  de 10 a 29 mL/min, todos os regimes atingiram PTAs semelhantes na faixa de CIM testada, no entanto, nenhum regime alcançou uma PTA contra CIMs de 16 µg/mL e 32 µg/mL tão alta quanto os dos outros grupos  $CL_{CR}$ . Esses dados demonstram que a cefepima, administrada 2 g a cada 8 h como uma infusão prolongada de 3 h, aumentou a PTA em relação às infusões padrão de 30 min. Os resultados também forneceram sugestões de doses que são capazes de manter esses alvos em pacientes com função renal diminuída.

O estudo de Asín e colaboradores (2015) determinou a probabilidade de atingir o sucesso no tratamento para diferentes doses de 13 antimicrobianos, entre eles  $\beta$ -lactâmicos e representantes de outras classes, contra bactérias Gram-positivas que apresentam resistência como *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* coagulase negativa resistente a meticilina (MR-CoNS), *S. aureus* resistente a

meticilina (MRSA), *Staphylococcus spp.* coagulase negativa suscetível a metilina (MS-CoNS), *S. aureus* sensível a metilina (MSSA) e *Streptococcus spp.* Através das PTAs obtidas das simulações PK/PD foram determinados os *breakpoints* de suscetibilidade para cada associação fármaco/antimicrobiano. O *breakpoint* é a maior CIM que atingiu PTA de  $\geq 90\%$  para cada fármaco/bactéria. Esses *breakpoints* foram comparados com os estimados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e pela *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) na tentativa de justificar as falhas no tratamento de infecções causadas por bactérias consideradas sensíveis a um determinado antimicrobiano. Foi observado também que, no caso dos  $\beta$ -lactâmicos, menos de 14% das cepas tiveram discrepâncias nos seus *breakpoints* de suscetibilidade quando comparados com os valores de *breakpoint* estabelecidos pela CLSI e pela EUCAST. Porém, para vancomicina, daptomicina e linezolida, essas discrepâncias foram maiores, prevendo-se *breakpoints* ainda menores do que os estabelecidos por essas instituições. Esses autores concluíram que o uso de modelos PK/PD em simulações de Monte Carlo para determinação dos *breakpoints* permite a obtenção de *breakpoints* mais realistas, que levam a determinação de posologias mais eficazes, minimizando a probabilidade de desenvolvimento de resistência e reduzindo a incidência de efeitos colaterais.

Esses estudos demonstram que as simulações de Monte Carlo são úteis para prever posologias ideais, trazendo maior segurança à tomada de decisões quanto ao tratamento mais adequado com antimicrobianos.

### 3.4 AVALIAÇÃO PK/PD NA PROFILAXIA DE CIRURGIA BARIÁTRICA

A profilaxia em cirurgia bariátrica já foi assunto de vários artigos devido à necessidade de estabelecer melhor os protocolos para esses pacientes que, em função do excesso de peso, diferença nos níveis de obesidade e comorbidades, possuem alterações farmacocinéticas em relação a indivíduos considerados normais (van Kralingen, *et al.*, 2011; Brill, *et al.*, 2014).

Moine e colaboradores (2016) fizeram uma avaliação farmacocinética e farmacodinâmica de uma posologia profilática para cefoxitina baseada no peso dos pacientes submetidos à cirurgia bariátrica (40 mg/kg). Através da obtenção de concentrações plasmáticas e teciduais de cefoxitina, foi avaliado se essa dose

atingia concentrações adequadas do fármaco no plasma e no tecido. No início da cirurgia, os pacientes receberam uma dose de 40 mg/kg de cefoxitina i.v. por 5 min e amostras de sangue foram coletadas em tempos pré-determinados, enquanto que amostras de tecido adiposo pericolônico/perirretal foram coletadas no momento da abertura do sítio cirúrgico, 60 min e 180 min após a abertura do sítio cirúrgico e antes da redose, em procedimentos que excederam 2 horas de cirurgia. Os dados séricos de concentração por tempo foram analisados por método não-compartimental com eliminação de primeira ordem. Dessa forma, foi observado que a dose baseada no peso corporal não apresentou concentrações adequadas no tecido adiposo. As simulações de Monte Carlo tiveram como alvo concentração ( $fT > MIC$ ) acima de CIM por 70 e 100% do intervalo entre doses e PTA de 90%. O alvo de 100%  $fT > MIC$  é considerado ideal para  $\beta$ -lactâmicos, segundo estudo anterior do mesmo grupo, já que a contaminação pode ocorrer a qualquer momento durante o procedimento cirúrgico (MOINE & FISH, 2013). Utilizando os mesmos parâmetros farmacocinéticos foram simuladas as doses de 40 mg/kg e dose fixa de 2 g frente as CIMs mais frequentes de *Basilus fragilis*, *S. aureus* e *E. coli*, segundo a EUCAST, para cirúrgicas com duração de 1h a 4h de cirurgia. Nessa população, a dose baseada no peso atingiu PTA  $\geq 90\%$  até 3h pós-administração para *E. coli* e *S. aureus* assumindo como alvo de 70%  $fT > MIC$  e até 2 h para o alvo de 100% de  $fT > MIC$ . No caso do *B. fragilis*, a PTA  $\geq 90\%$  foi atingida apenas até 2 h assumindo  $fT > MIC$  de 70% do tempo da cirurgia e de apenas até 1 h para 100% de  $fT > MIC$ . A dose de 2 g somente atingiu PTA  $\geq 90\%$  até 1 h para *S. aureus* e menos de 1 h para *E. coli* e *B. fragilis* considerando 100% de  $fT > MIC$ . Se o alvo fosse 70% de  $fT > MIC$ , esse tempo passaria para 2 h de cirurgia para *S. aureus* e 1 h para *E. coli*. No entanto, para o *B. fragilis*, em nenhum intervalo de tempo a PTA  $\geq 90\%$  foi atingida com a dose fixa de 2 g. Embora a dose baseada no peso tenha obtido melhores resultados do que a dose padrão fixa de 2 g, a dose de 40 mg/kg ainda pode ser inadequada para todos os patógenos investigados pois obteve-se PTA  $< 90\%$  em cirurgia com duração de mais de 1 h se o alvo considerado 100% de  $fT > MIC$ .

Para a CFZ, que é o antimicrobiano mais usado na profilaxia de cirurgia bariátrica, diferentes protocolos de tratamento existem, mas discordam entre si. Segundo a Sociedade Americana de Farmacêuticos do Sistema de Saúde (ASHP), a Sociedade de Doenças Infecciosas da América (IDSA), a Sociedade de Infecções Cirúrgicas (SIS) e a Sociedade de Epidemiologia da Saúde da América (SHEA), o

protocolo atualmente recomenda a dose de 2 g i.v. *bolus* de CFZ antes da incisão cirúrgica, seguida por uma redose 4 h após a primeira, para pacientes com peso superior a 80 kg, e 3 g antes da cirurgia, seguida de uma redose 4 h após a primeira, para pacientes com peso superior a 120 kg. Contudo, a Sociedade Francesa de Anestesia e Reanimação (SFAR), recomenda 4 g de CFZ antes da cirurgia, seguida de uma redose de 2 g 4 horas após a primeira dose.

No estudo de Dumont e colaboradores (2018), foram coletadas amostras de sangue e biópsias do tecido adiposo subcutâneo de pacientes submetidos a cirurgia bariátrica, que receberam a dose profilática de 4 g de CFZ, logo após a incisão cirúrgica e antes do fechamento da pele. Um modelo de dois compartimentos com cinética de ordem zero foi adotado para modelar os dados farmacocinéticos. A fim de propor a posologia ideal, foram simulados por Monte Carlo diferentes regimes de dosagem (2 g, 3 g, 3 g seguida de infusão contínua de 1 g/h, e 4g de CFZ), cujo alvo foi PTA de 90% para concentração acima da CIM durante 100% do tempo de cirurgia. Os resultados indicaram que a administração de 4 g de CFZ é suficiente para a profilaxia de ISC causada por organismos sensíveis ( $CIM \leq 2 \mu\text{g/mL}$ ) por pelo menos 2 h. Com a dose de 3 g, 2 h após a primeira administração, as concentrações não foram suficientes para a profilaxia de bactérias com CIM de  $2 \mu\text{g/mL}$ . Esses achados validam as recomendações francesas sobre a dose a ser administrada antes do procedimento. Uma dose de ataque de 3 g seguida de infusão contínua de 1 g/h foi avaliada e mostrou que as concentrações teciduais foram alcançadas mesmo para  $CIM \leq 4 \text{ g/L}$ . Além disso, este regime resulta em concentrações no tecido acima de  $4 \mu\text{g/g}$  por pelo menos 4 h. Segundo esse artigo, as doses recomendadas pelas diretrizes americanas pareceram ser insuficientes para profilaxia em cirurgias com duração de mais de 1 h.

Entretanto, a limitação desses dois estudos citados é justamente não ter determinado as concentrações livres teciduais do fármaco na biofase, que são responsáveis pela ação biológica, ainda mais considerando que a CFZ tem ligação a proteínas concentração dependente. A determinação das concentrações livres de fármacos na biofase é possível através da técnica de microdiálise, que é o padrão ouro para esse tipo de avaliação (PEVZNER *et al.*, 2011). A microdiálise, no entanto, requer uma calibração prévia das sondas, que pode ser demorada, além de requer um operador qualificado para realizar o estudo (MOINE *et al.*, 2016; HAMMARLUND-UDENAES, 2017; DUMONT *et al.*, 2018).

Poucos são os artigos que avaliaram as concentrações livres de antimicrobianos no tecido subcutâneo de pacientes obesos na tentativa de definir doses profiláticas para ISC (Blum, Cunha e Cunha, 2019). Nesse sentido, destacam-se os artigos de Brill e colaboradores (2014) e Palma e colaboradores (2018), que utilizaram a técnica de microdiálise para obter essas concentrações livres teciduais ao longo da cirurgia bariátrica.

O objetivo do trabalho de Brill e colaboradores (2014) foi determinar e comprar as concentrações livres teciduais subcutâneas de CFZ no fluido intersticial da população obesa e da população não-obesa, usada como controle, através da técnica de microdiálise. Para calcular os parâmetros farmacocinéticos, foi desenvolvido um modelo para a CFZ total e livre no plasma e livre no tecido, que poderia ser usada para simulações de Monte Carlo e ajustes de doses. Pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica e pacientes não-obesos submetidos a cirurgia de abdominal receberam, antes da incisão, uma dose de 2 g *i.v. bolus* de CFZ. Até 4 h pós-administração da dose, amostras de sangue e de microdialisado de tecido foram coletados em tempos pré-determinados. As sondas de microdiálise foram previamente calibradas por retrodiálise em cada paciente. Para descrever as concentrações de CFZ no plasma e no tecido, foi usado um modelo de dois compartimentos com ligação saturável às proteínas plasmáticas. A área sob a curva da CFZ livre ( $fAUC_{0-4h}$ ) no tecido subcutâneo de pacientes obesos foi significativamente inferior a de pacientes não-obesos, levando a uma penetração tecidual menor em pacientes obesos (média 0,70, intervalo entre 0,68–0,83) em comparação com o grupo controle (média 1,02, intervalo entre 0,85 e 1,41). Através de simulações de Monte Carlo as probabilidades de as concentrações livres plasmáticas e teciduais ficarem acima dos valores de CIM estabelecidos durante 2, 3 e 4 h após a administração da dose de 2 g foram obtidas. Os resultados mostraram que a probabilidade dos pacientes obesos atingirem o alvo de concentração livre tecidual acima da CIM durante o tempo de cirurgia é menor do que a de pacientes não obesos, enquanto que, para concentrações livres plasmáticas essa probabilidade é semelhante entre esses dois grupos. Sendo assim, o que diferencia essas duas populações na profilaxia com CFZ é justamente a penetração tecidual de CFZ, que é menor em pacientes obesos em relação aos não-obesos, o que pode levar a maior ocorrência de ISC nesses pacientes. Os autores sugerem, desse

modo, que doses maiores de CFZ devem ser testadas em pacientes obesos visando a profilaxia da cirurgia bariátrica.

Palma e colaboradores (2018) realizaram um estudo para avaliar a eficácia profilática da CFZ usado as doses de 2 g e 3 g i.v. *bolus* em mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica. Todas elas tinham  $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$  ou  $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$  com comorbidades. Nesse estudo determinou-se as concentrações livres da CFZ no tecido subcutâneo dessas pacientes através de microdiálise, usando uma sonda inserida próximo da região da incisão cirúrgica e calibrada individualmente por retrodiálise em cada paciente previamente ao início da cirurgia. A recuperação da sonda foi usada para o cálculo das concentrações livres teciduais. As pacientes receberam as doses de 2 g ou 3 g de CFZ cerca de 15 min antes da cirurgia e amostras de sangue e microdialisado foram coletadas até o final da cirurgia (4 h de procedimento). Os parâmetros farmacocinéticos dessas pacientes foram obtidos através de modelo farmacocinético populacional de dois compartimentos, que levou em consideração a ligação saturável da CFZ às proteínas tanto no plasma como nos tecidos, diferentemente do estudo de Brill e colaboradores (2014), que consideraram ligação a proteínas saturável apenas no plasma. As concentrações de CFZ obtidas tanto no plasma quanto no tecido subcutâneo tiveram perfis proporcionais às doses administradas, não sendo observadas diferenças estatísticas entre os parâmetros farmacocinéticos plasmáticos e teciduais para a CFZ livre. Os parâmetros farmacocinéticos do plasma e do tecido subcutâneo estão dispostos na Tabela 1.

**Tabela 1. Parâmetros farmacocinéticos plasmáticos e subcutâneos obtidos por análise não-compartimental após dose i.v. *bolus* de cefazolina a paciente submetidos a cirurgia bariátrica.**

Parâmetros PK	Plasma total (Média e DP)			Plasma Livre (Média e DP)			Livre tecidual (Média e DP)		
	2 g	3 g	p valor <sup>a</sup>	2 g	3 g	p valor <sup>a</sup>	2 g	3 g	p valor <sup>a</sup>
<b>ke (h<sup>-1</sup>)</b>	0,320 ± 0,16	0,294 ± 0.11	0.809	0.349 ± 0.07	0.340 ± 0.10	0.887	0.300 ± 0.08	0.459 ± 0.18	0.193
<b>t<sub>1/2</sub>(h)</b>	2.9 ± 1.6	2.8 ± 1.2	0.897	2.1 ± 0.4	2.2 ± 0.6	0.741	2.5 ± 0.8	1.8 ± 0.8	0,272
<b>AUC<sub>0-4</sub> (µg·h/mL)</b>	294.4 ± 78.5	433.5 ± 140.7	0.162	84.2 ± 10.1	132.5 ± 57.6	0.146	70.6 ± 26.1	126.4 ± 52.0	0.128
<b>AUC<sub>0-∞</sub> (µg·h/mL)</b>	490.1 ± 267.6	671.5 ± 289.7	0.422	110.7 ± 8.9	176.2 ± 74.0	0.126	119.6 ± 63.6	169.0 ± 54.6	0.305
<b>MRT (h)</b>	4.0 ± 2.1	3.7 ± 1.6	0.886				3.8 ± 1.3	3.0 ± 1.3	0.458
<b>CL (L/h)</b>	5.3 ± 2.3	5.2 ± 1.7	0.953						
<b>Vd<sub>ss</sub> (L)</b>	16.0 ± 1.7	17.2 ± 4.5	0.666						
<b>DF<sub>tissue</sub></b>							1.05 ± 0.49	1.10 ± 0.37	0.883

ke, constante de eliminação; t<sub>1/2</sub>, meia-vida; AUC<sub>0-4</sub>, área sobre a curva do tempo zero à 4 h; AUC<sub>0-∞</sub>, área sobre a curva de zero à infinito; CL, *clearance* total; MRT, tempo de residência médio; Vd<sub>ss</sub>, volume de distribuição aparente no *steady state*; DF<sub>tissue</sub>, fator de distribuição tecidual, calculado por AUC<sub>0-∞ tissue,free</sub>/AUC<sub>0-∞ plasma,free</sub>.

<sup>a</sup>p > 0.05, sem diferença estatística entre as doses. Fonte: adaptado de PALMA *et al.*, 2018.

A simulação de Monte Carlo (N = 1000) foi realizada para alvo terapêutico de  $fT > MIC$  em 100% do tempo de cirurgia. A efetividade da dose foi considerada para cirurgias com duração de 3, 4, 5 e 6 horas, considerando  $PTA \geq 90\%$  para ambas as doses frente aos patógenos mais frequentes em ISC: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*. Os resultados da simulação podem ser observados na Figura 2, onde os PTAs foram plotadas em função da frequência de distribuição da CIM para cada bactéria, fornecidas pela EUCAST. De acordo com a frequência de distribuição da CIM mais prevalente, a dose profilática de 2 g é adequada para *E. coli* e *S. aureus* em cirurgias com duração de até 5 h. No entanto, para espécies como *K. pneumoniae*, com distribuição predominante de CIM de 2 µg/mL, a manutenção de  $PTA \geq 90\%$  em cirurgias de até 5 horas só é obtida com a dose de 3 g. Para bactérias com  $CIM \geq 4$  µg/mL,  $PTA \geq 90\%$  pode ser alcançada apenas até 3 h de cirurgia. Para bactérias com  $CIM \geq 8$  µg/mL, nenhuma das doses testadas alcançaria o objetivo terapêutico dentro de 3 horas da cirurgia. Sendo assim, não é recomendável generalizar o uso da dose profilática de 3 g CFZ em pacientes obesos. A avaliação feita por simulações de Monte Carlo mostra que a efetividade da profilaxia com a CFZ depende da CIM das bactérias e demonstra o quanto é essencial conhecer a perfil de sensibilidade dos patógenos mais prevalentes do local onde está sendo feita a cirurgia.

Entretanto, nesse estudo a predição da eficácia profilática da CFZ em cirurgia bariátrica é feita através do índice PK/PD de  $fT > MIC$  para 100% do tempo de cirurgia. Para fazer uma melhor predição do desfecho terapêutico para diferentes posologias o uso de modelo PK/PD, em vez do índice PK/PD seria mais preditivo, já que leva em consideração a variação da concentração do fármaco ao longo do tempo de cirurgia. Portanto, o desenvolvimento de modelo PK/PD para CFZ e as simulações de Monte Carlo para a obtenção das PTAs para as doses profilática de 2 g e 3 g de CFZ em pacientes obesos são o objeto deste estudo.

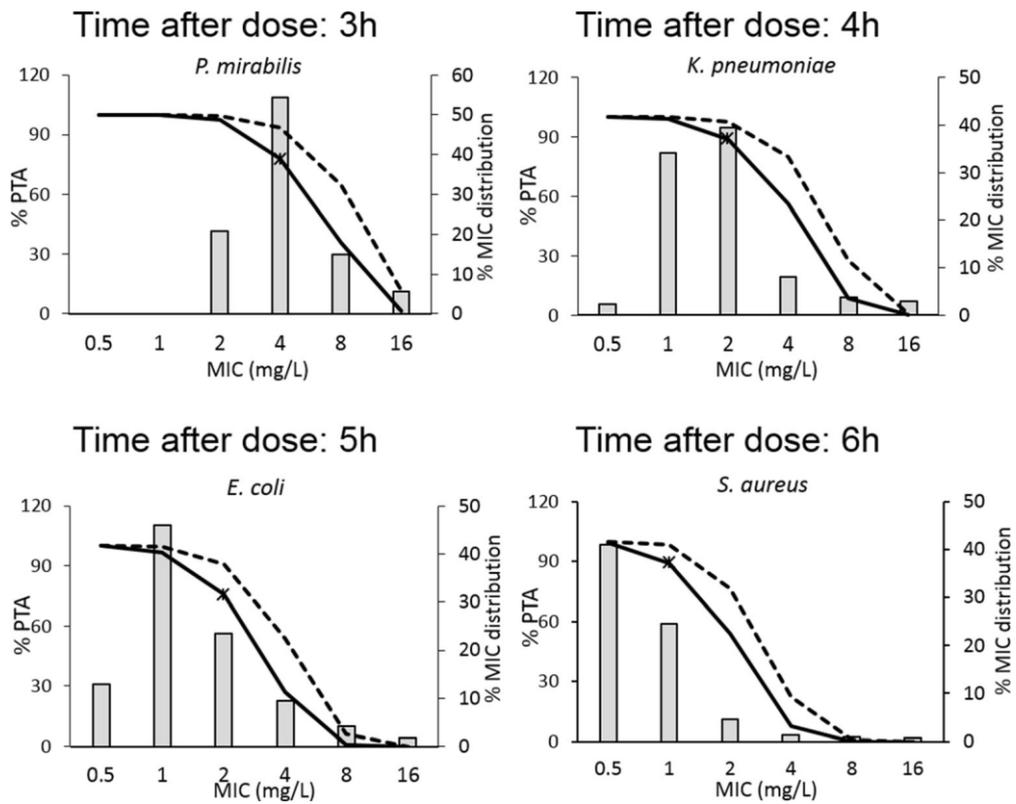


Figura 2. Simulações de Monte Carlo e %PTAs obtidas para as doses de 2 g (linha contínua) e 3 g (linha pontilhada) de CFZ frente *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* e *E. coli* após 3, 4, 5 e 6 h de cirurgia. A distribuição de frequência de CIM está representada pelas barras verticais. \* Representa a CIM em que não foi atingido o valor aceitável de 90% de PTA nos gráficos. Fonte: PALMA *et al.*, 2018.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 SELEÇÃO DAS CEPAS E DETERMINAÇÃO DA CIM

#### 4.1.1 Seleção e Estoque das Cepas

Foram selecionadas cepas com faixas de CIM de CFZ mais prevalentes estabelecidas pelo manual do CLSI (CLSI M07-A9, 2012) para *E. coli* e para *S. aureus*. Sendo assim, a cepa *S. aureus* ATCC 29213, cuja faixa de CIM do CLSI é de 0,25 a 1 µg/mL, e a cepa *E. coli* ATCC 25922, cuja faixa de CIM do CLSI é de 1 a 4 µg/mL foram utilizadas nesse trabalho. As cepas foram repicadas e armazenadas à  $-80 \pm 2$  °C em meio de Skim-Milk 10% e glicerol 10%.

#### 4.1.2 Preparação do inóculo inicial

No dia anterior aos experimentos, a bactéria foi descongelada e plaqueada por espalhamento em ágar Mueller-Hinton (MH), sendo incubada em estufa a  $37 \pm 1$  °C por tempo entre 18 e 24 horas. As colônias foram transferidas por alça estéril, em fluxo laminar, para um tubo de Falcon® contendo 5 mL de solução salina 0,9% e a solução homogeneizada em vórtex. A absorbância foi medida em espectrofotômetro de UV, à 600 nm, em cubeta de quartzo. Os valores de 0,3 e 0,5 de absorbância correspondem a um inóculo de aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/mL, de acordo com a escala de McFarland (CLSI M07-A9, 2012).

#### 4.1.3 Determinação da CIM

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com o manual do CLSI. Nos dias de experimento, uma solução estoque de CFZ na concentração de 5,12 mg/mL foi preparada. A partir desta solução, foram preparadas as soluções de trabalho com concentrações múltiplas da solução estoque. O inóculo inicial de  $1 \times 10^8$  UFC/mL foi diluído para gerar a concentração de  $1 \times 10^6$  UFC/mL. Em uma placa de 96 poços estéril foram adicionados 100 µL de caldo MH em todos os poços, com exceção do controle negativo (controle de

esterilidade, sem adição de bactéria), onde foram adicionados 200 µL. No primeiro e segundo poço, foram adicionados 100 µL da solução de trabalho contendo CFZ. Em seguida, realizou-se a homogeneização com pipeta e iniciaram-se as diluições seriadas através da transferência de 100 µL de um poço para o outro. Um dos poços permaneceu sem adição de fármaco para fins de controle positivo (controle de crescimento bacteriano). Por fim, foram adicionados 100 µL do inóculo bacteriano em todos os poços, com exceção do controle negativo. A placa foi então incubada em estufa a  $37 \pm 1$  °C para observação do crescimento bacteriano após 24 h.

As concentrações testadas foram de 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 e 0,125 µg/mL de CFZ para *E. coli*, enquanto que para *S. aureus* as concentrações foram de 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 e 0,0312 µg/mL de CFZ.

No poço de controle positivo deveria necessariamente acontecer o crescimento bacteriano após a incubação *overnight* e, no controle negativo, necessariamente não deveria acontecer crescimento. O poço com menor concentração, onde não houve crescimento bacteriano visível, foi considerado a CIM para aquela bactéria. Cada um dos experimentos foi feito em triplicata.

#### 4.2 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DA FASE DE LATÊNCIA

Para os experimentos de *time-kill curves*, é necessário a determinação do tempo da fase de latência das bactérias no meio para determinar quando o antimicrobiano poderá ser adicionado ao sistema de infecção *in vitro*. Para tanto, foram feitas as curvas de crescimento bacteriano para as cepas selecionadas previamente. Após a preparação do inóculo inicial, conforme descrito no item 4.1.2, uma alíquota de 20 µL foi adicionada a uma garrafa contendo 20 mL de caldo MH, gerando um inóculo de partida de  $10^5$  UFC/mL. Em duplicata, as garrafas foram mantidas em estufa à  $37 \pm 1$  °C. Amostras dos meios de crescimento foram coletadas a cada 30 min durante 6 h. As amostras foram diluídas em série seguido de plaqueamento pelo método da microgota para quantificação bacteriana. As placas foram mantidas em estufa a  $37 \pm 2$  °C e lidas entre 18 e 24 h de incubação. A fase de latência foi definida pelo tempo de um ponto do gráfico da curva de crescimento em que, a partir dele, começa a aumentar a concentração de bactérias.

### 4.3 TIME-KILL CURVES

Assim como descrito para as curvas de crescimento bacteriano, um inóculo inicial de  $10^8$  UFC/mL foi preparado e 20  $\mu$ L adicionado a garrafas contendo 20 mL de caldo MH, gerando um inóculo de  $10^5$  UFC/mL. Após homogeneização, essas garrafas foram incubadas em estufa a  $37 \pm 1$  °C pelo tempo de fase de latência determinado para cada bactéria através das curvas de crescimento. Decorrido esse tempo, essas garrafas foram identificadas como um submúltiplo ou múltiplo da CIM a ser investigado e um controle sem fármaco. No tempo zero, momento em que foi adicionado o fármaco e a cada hora por 6 horas consecutivas, 20  $\mu$ L de cada garrafa foi transferido para uma placa de 96 poços contendo 180  $\mu$ L de solução salina 0,9%. Diluições em série foram realizadas e plaqueadas pelo método da microgota, em duplicata. Para cada bactéria, foram investigadas as concentrações de 0.5, 1, 2, 4, 8, e 16 vezes a CIM. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

### 4.4 ANÁLISE DE DADOS

#### 4.4.1 Modelagem PK/PD

Os dados experimentais de UFC/mL em função do tempo foram modelados utilizando um modelo de  $E_{m\acute{a}x}$ -modificado. No caso da *E. coli*, a modificação feita na equação geral foi a atribuição do parâmetro que descreve a saturação do meio ( $N_{m\acute{a}x}$ ), gerando a Equação 2. No caso da *S. aureus*, além do termo  $N_{m\acute{a}x}$ , foi atribuído uma correção exponencial elevada ao fator que corresponde ao atraso no início do efeito ( $\gamma$ ), gerando a Equação 3.

$$\frac{dN}{dt} = \left[ k_0 \times \left( \frac{1-N}{N_{m\acute{a}x}} \right) - \left( \frac{k_{m\acute{a}x} \times C}{EC_{50} + C} \right) \right] \times N \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\frac{dN}{dt} = \left[ k_0 \times \left( \frac{1-N}{N_{m\acute{a}x}} \right) - \left( \frac{k_{m\acute{a}x} \times C}{EC_{50} + C} \right) \times (1 - \exp^{-\gamma \times t}) \right] \times N \quad (\text{Eq. 3})$$

Essas equações foram escolhidas já que foram as que melhor descreveram os dados experimentais. Os valores de critério de seleção do modelo (MSC) e a visualização dos perfis modelados foram utilizados para a escolha dos modelos mais adequados para cada bactéria.

As modelagens foram conduzidas no software Scientist® (*Macromath, Salt Lake City, Utah, USA*), utilizando como condição inicial no tempo zero os valores de  $N$  (contagem de bactérias no tempo zero) e a concentração estática do fármaco utilizada para realização de cada *time-kill* curve (múltiplos da CIM). Os valores de  $k_0$  e  $N_{\text{máx}}$  foram obtidos da modelagem das curvas controle (sem fármaco) para cada bactéria e esses foram fixados para a modelagem das curvas com fármaco, possibilitando a determinação do  $k_{\text{máx}}$ ,  $EC_{50}$  e  $\square$ , no caso de *S. aureus*.

#### **4.4.2 Simulação de Monte Carlo**

Usando os valores médios de  $k_{\text{máx}}$  e  $EC_{50}$  obtidos na modelagem das *time-kill curves* e os parâmetros farmacocinéticos teciduais obtidos do modelo populacional desenvolvido por Palma e colaboradores (2018), foram feitas as simulações de Monte Carlo utilizando o software Berkeley Madonna® v.8.3.18 (Berkeley Madonna, CA). Mil indivíduos que teriam recebido as doses de 2 g e 3 g de CFZ foram simulados considerando uma cirurgia bariátrica de tempo médio de 4 h. As simulações tiveram a eficácia profilática prevista frente às CIMs mais prevalentes de *E. coli* e *S. aureus*. Como alvo terapêutico foi estabelecido 100% do tempo médio de cirurgia (4 h) com redução do número de UFC/mL de 2-log (99% ou 100 vezes de redução em relação ao inóculo inicial para cada bactéria avaliada) (JAIN, HOUSMAN & NICOLAU, 2014). Como critério de aceitação estabeleceu-se uma PTA de 90%

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DETERMINAÇÃO DA CIM E TEMPO DE FASE DE LATÊNCIA

A CIM para CFZ obtida para a cepa ATCC 29213 de *S. aureus* foi de 1 µg/mL e para *E. coli* ATCC 25922 foi de 4 µg/mL, estando ambas dentro das faixas estabelecidas pelo CLSI para essas cepas.

A Figura 3 mostra as curvas de crescimento para as duas cepas, investigadas em experimentos *in vitro*. A curva de crescimento demonstra que o tempo que a *E. coli* ATCC 25922 precisa para se adaptar ao meio de cultivo e entrar em fase de crescimento exponencial é de aproximadamente 2 h após a adição do inóculo ao meio de cultura. Esses resultados coincidem com os relatados previamente (ERDOGAN-YILDIRIM *et al.*, 2011; ANSARI *et al.*, 2012). Para *S. aureus* ATCC 29213 foi de aproximadamente 1,5 h, também coincidente com valores da literatura (BAUM *et al.*, 2009; GUO *et al.*, 2016).

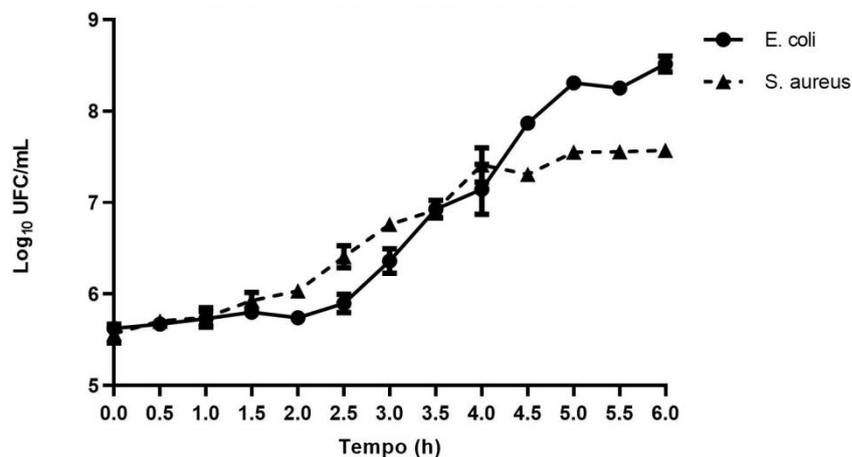


Figura 3. Curvas de crescimento *in vitro* de *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 29213. O tempo de fase de latência é determinado pelo momento em que inicia a fase de crescimento exponencial. Valores representam média ± DP (n = 3/cepa).

## 5.2. TIME-KILL CURVES

A Figura 4 mostra os perfis de morte bacteriana por tempo para as cepas de *E. coli* e *S. aureus* frente a concentrações múltiplas das respectivas CIMs para CFZ. Pode-se observar para *E. coli* que nas concentrações de 32 µg/mL e 64 µg/mL, que correspondem a 8 e 16 vezes a CIM, há erradicação microbiana a partir de 5 horas de experimento (Figura 4 A). Contudo, no caso da *S. aureus*, a contagem de colônias foi decrescendo ao longo do tempo, como o esperado, até a concentração de 4 µg/mL, correspondente a 4 vezes a CIM). Em concentrações superiores, correspondentes a 8 e 16 vezes a CIM, houve uma redução significativa da inibição do crescimento bacteriano, não sendo observada erradicação microbiana (Figura 4 B).

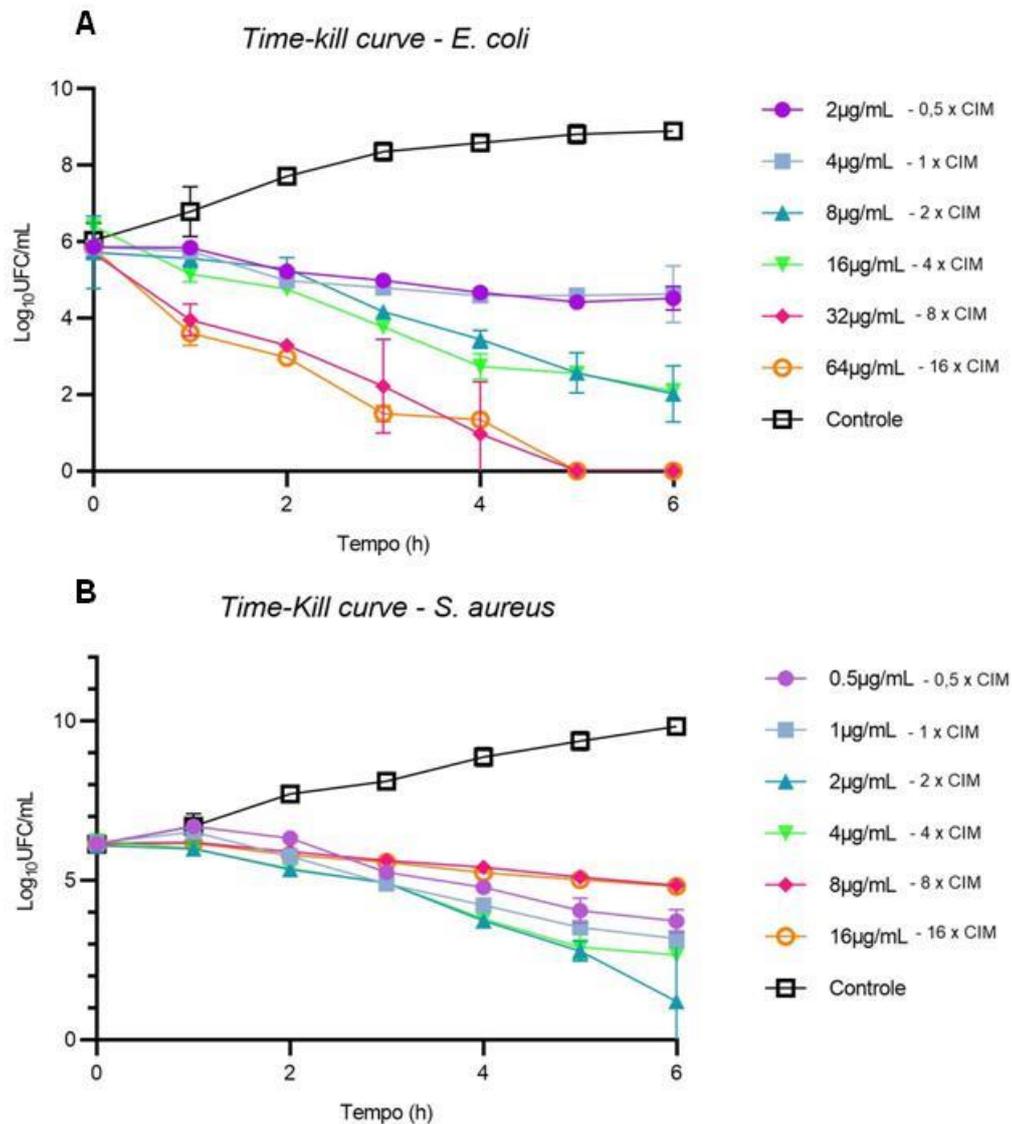


Figura 4. *Time-kill curves* obtidas com diferentes concentrações de CFZ, múltiplos da CIM de (A) *E. coli* e (B) *S. aureus*. Nas concentrações de 8 e 16  $\mu\text{g/mL}$  de CFZ frente a *S. aureus* pode-se observar efeito paradoxal. Valores representam média  $\pm$  DP de curvas realizadas em duplicata para cada cepa/concentração de CFZ.

### 5.3. MODELAGEM DAS *TIME-KILL CURVES*

Diferentes modificações nas equações do modelo de  $E_{\text{máx}}$  foram testadas para melhor adequar as curvas aos dados experimentais. Dentre os modelos testados, os que melhor se ajustaram aos dados foram a equação que leva em consideração o  $N_{\text{máx}}$ , no caso da *E. coli*, e a que possui tanto o  $N_{\text{máx}}$  quanto a correção exponencial elevada ao fator  $\gamma$  que corresponde ao *delay* de efeito, no caso da *S. aureus*. Essa correção foi necessária pois a bactéria ainda não se encontrava em fase exponencial de crescimento bacteriano no início dos experimentos, o que levou a um

no início do efeito do fármaco, já que o mecanismo de ação dos  $\beta$ -lactâmicos depende da multiplicação celular.

Na Tabela 2 estão mostrados os valores dos parâmetros resultantes das modelagens das *time-kill curves* para ambas as bactérias. As Figuras 5 e 6 mostram os perfis modelados para *E. coli* e *S. aureus* frente a diferentes concentrações de CFZ, respectivamente. Pode-se observar que os modelos empregados foram adequados para descrever os perfis experimentais para ambas as bactérias. Devido ao efeito apresentado pela *S. aureus* com concentrações correspondentes a 8 e 16 vezes a CIM da CFZ, o modelo não foi capaz de descrever esses resultados experimentais (modelagens não mostradas).

**Tabela 2. Parâmetros PK/PD resultantes da modelagem das *time-kill curves* da CFZ frente a *E. coli* e *S. aureus*.**

<i>E. coli</i> (CIM = 4 $\mu\text{g/mL}$ )			Parâmetros PK/PD								
$k_0$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$N_{\text{máx}}$ (UFC/mL)	$C_{\text{CFZ}}$ (mg/L)	2	4	8	16	32	64	Média	DP	CV
0,49	9,20	$k_{\text{máx}}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	0,19	0,17	0,25	0,29	0,48	0,53	0,32	0,15	4,69
		$\text{EC}_{50}$ (mg/L)	4,36	3,41	2,53	2,51	3,82	3,67	3,38	0,74	2,18
		$\gamma$									
<i>S. aureus</i> (CIM = 1 $\mu\text{g/mL}$ )			Parâmetros PK/PD								
$k_0$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$N_{\text{máx}}$ (UFC/mL)	$C_{\text{CFZ}}$ (mg/L)	0,5	1	2	4	8	16	Média	DP	CV
0,22	12,17	$k_{\text{máx}}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	0,47	0,45	0,67	0,42	-	-	0,50	0,11	2,18
		$\text{EC}_{50}$ (mg/L)	0,11	0,22	0,68	0,48	-	-	0,37	0,26	6,87
		$\gamma$	0,49	0,67	0,63	0,80	-	-	0,65	0,13	2,00

$K_0$  – constante de crescimento bacteriano,  $N_{\text{máx}}$  – número máximo de bactérias no meio,  $C$  – concentração de fármaco,  $k_{\text{máx}}$  – constante de morte bacteriana máxima,  $\text{EC}_{50}$  – concentração de fármaco necessária para atingir 50% do efeito máximo,  $\gamma$  – atraso no início do efeito, DP – desvio padrão, CV – coeficiente de variação, dado por DP/Média. Para as modelagens os valores de  $k_0$  e  $N_{\text{máx}}$  foram fixados.

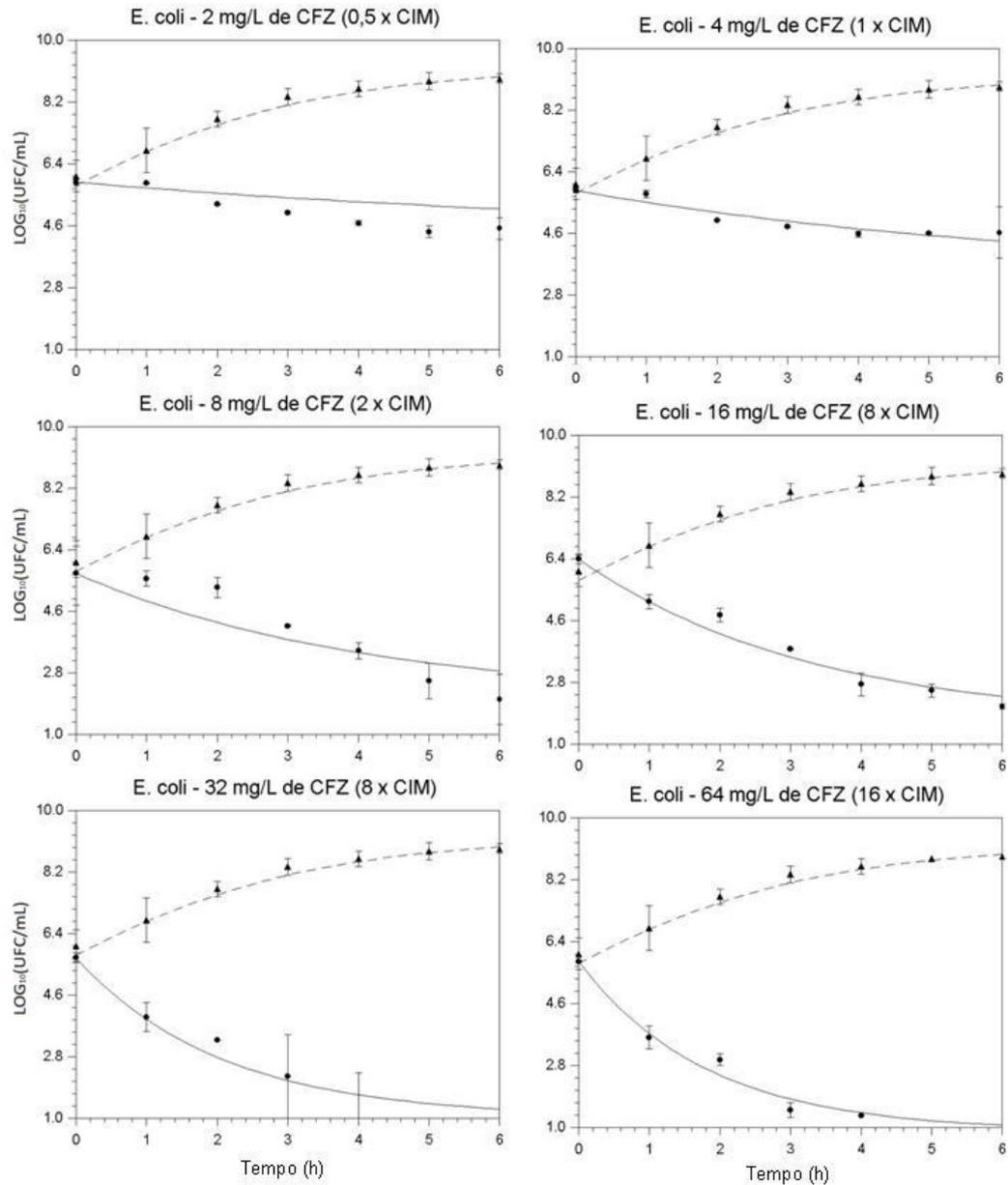


Figura 5. *Time-kill curves* da CFZ frente a *E. coli* ATCC 25922 modeladas pelo modelo de  $E_{\text{máx}}$  modificado (Eq. 2). Os pontos representam os dados experimentais das curvas controle sem fármaco (triângulo e linhas tracejadas) e tratados com CFZ (círculos e linha contínua) em diferentes concentrações, múltiplas da CIM. Média  $\pm$  DP e curvas em duplicata para cada concentração de CFZ.

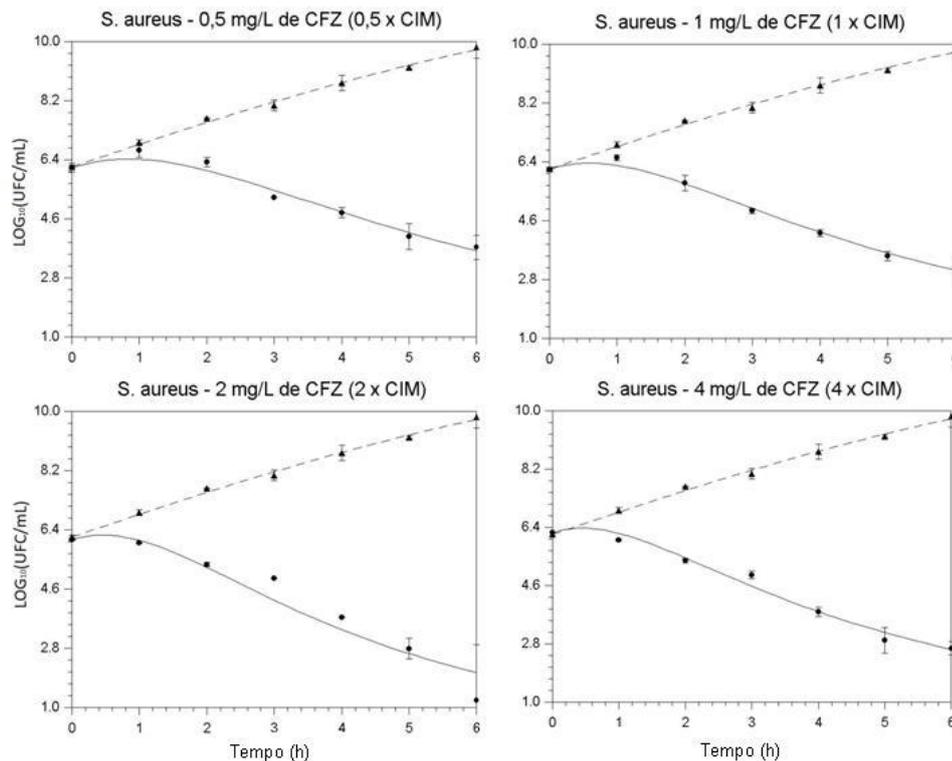


Figura 6. *Time-kill curves* da CFZ frente a *S. aureus* ATCC 29213 modeladas pelo modelo de  $E_{\text{máx}}$  modificado (Eq. 3). Os pontos representam os dados experimentais das curvas controle sem fármaco (triângulo e linhas tracejadas) e tratados com CFZ (círculos e linha contínua) em diferentes concentrações, múltiplas da CIM. Média  $\pm$  DP e curvas em duplicata para cada concentração de CFZ.

#### 5.4. SIMULAÇÕES DE MONTE CARLO

Através da população gerada por simulação de Monte Carlo, foi possível obter as probabilidades de atingir o alvo terapêutico para as doses profiláticas de 2 g e 3 g de CFZ para as CIMs mais frequentes de cada bactéria. O alvo desejado foi de redução de 2-log a partir do inóculo inicial, em 4 h de cirurgia bariátrica. Mas como critério de aceitação foi estabelecido que, para as doses profiláticas de CFZ avaliadas, a probabilidade dos indivíduos simulados de atingirem esse alvo fosse pelo menos 90% (PTA > 90%). Na Figura 7 podem-se observar graficamente as PTAs para ambas as bactérias frente às duas doses de CFZ e a frequência de CIM de cada cepa.

**Tabela 3. Probabilidades de atingir o alvo terapêutico previstas pelo índice PK/PD e pelo modelo PK/PD**

Múltiplo da CIM	<i>E. coli</i>				<i>S. aureus</i>			
	Índice PK/PD <sup>1</sup>		Modelo PK/PD		Índice PK/PD <sup>1</sup>		Modelo PK/PD	
Dose	2 g	3 g	2 g	3 g	2 g	3 g	2 g	3 g
<b>0.5*</b>	100	100	99,8	100	100	100	100	100
<b>1**</b>	99,4	100	98,7	99,9	99,4	100	100	100
<b>2</b>	89,0	97,9	92,0	97,9	89,0	97,9	98,3	98,6
<b>4</b>	56,2	80,1	54,5	86,3	56,2	80,1	83,9	85,1
<b>8</b>	8,7	28,0	9,5	44,8	8,7	28,0	41,7	40,7
<b>16</b>	0	0,7	0	4,6	0	0,7	3,3	3,1

<sup>1</sup>PALMA *et al.*, 2018.

\*CIM de CFZ mais frequente para *S. aureus*; \*\*CIM de CFZ mais frequente para *E. coli*

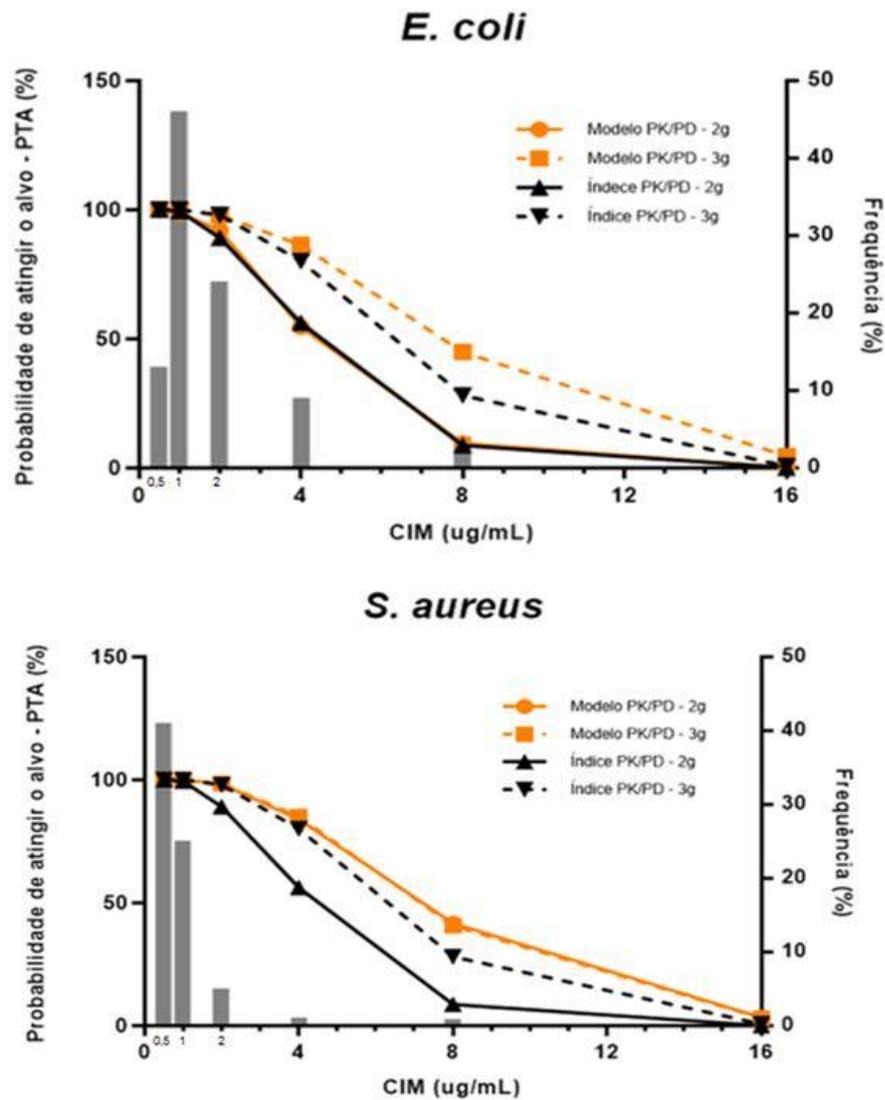


Figura 7. Comparação entre as PTAs previstas pelo índice PK/PD (Palma et al, 2018) com as previstas pelo modelo PK/PD, para as doses de 2 g e 3 g de CFZ frente a *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. A distribuição da frequência de CIM para cada cepa está representada pelas barras verticais.

Como é possível observar na Figura 7 e na Tabela 3, para a CIM mais frequente de *E. coli*, que é 1  $\mu\text{g/mL}$ , a PTA de 90% de certeza de ter concentrações acima da CIM durante as 4 h de cirurgia bariátrica é obtida para as doses de 2 g e 3 g, tanto pelo índice quando pelo modelo PK/PD. Se, no entanto, a CIM for de 2  $\mu\text{g/mL}$ , o índice PK/PD mostra uma probabilidade menor de 90% de atingir o alvo terapêutico. O modelo, no entanto, continua prevendo sucesso no tratamento com ambas as doses até esse valor de CIM. A partir da CIM de 4  $\mu\text{g/mL}$ , a probabilidade

de 90% não é obtida para ambas as doses, de acordo com o índice e com o modelo PK/PD. Assumindo um PTA de 70%, o sucesso terapêutico só não seria alcançado se a infecção fosse estabelecida por uma bactéria com CIM superior a 4 µg/mL, se usada a dose de 2 g de CFZ. Para esse critério, a dose de 3 g seria adequada tanto pelo índice como pelo modelo PK/PD. A dose de 3 g não seria adequada apenas para bactérias com CIM igual ou superior a 8 µg/mL. Para *E. coli*, assumindo PTA de 90%, pode-se concluir que o modelo PK/PD foi menos rígido, prevento alcance do alvo terapêutico para bactérias com CIM até 2 µg/mL e tempo de cirurgia de 4 h.

Os resultados para *S. aureus* demonstram que tanto as doses de 2 g e 3 g de CFZ atingiriam 90% de PTA contra a bactéria com CIM mais prevalente, que nesse caso é 0,5 µg/mL, nas previsões utilizando tanto o índice quanto o modelo PK/PD. Considerando ainda esse critério de aceitação, o sucesso terapêutico é atingido até a CIM de 2 µg/mL para essa bactéria, de acordo com o modelo PK/PD. O índice PK/PD, novamente foi mais rígido, indicado que o alvo pode ser atingido até CIM de 1 mg/mL para 4 h de cirurgia. Para PTA de 70% o modelo PK/PD previu efeito adequado para ambas as doses, mas o índice prevê que apenas a maior dose atingiria o alvo terapêutico. O índice e o modelo PK/PD entram em concordância quanto ao insucesso terapêutico da dose de 2 g frente a *E. coli* com CIM de 4 µg/mL e para ambas as doses a partir da CIM de 8 µg/mL, mesmo considerando esse critério de aceitação mais baixo.

## 6 DISCUSSÃO

Na curva de crescimento bacteriano, a fase de latência de 2 h para *E.coli* coincide com os já obtidos em estudos anteriores para a mesma cepa ATCC 25922 (Ansari, *et al.*, 2012; Erdogan-Yildirim, *et al.*, 2011). A fase de latência de 1,5 h para *S. aureus* também está de acordo com estudos anteriores para essa mesma cepa ATCC 29213 (Baum, *et al.*, 2009; Guo, *et al.*, 2016). No entanto, na modelagem das curvas foi necessário utilizar um termo a mais ( $\gamma$ ) para indicar o atraso no início do efeito de morte, indicando que um tempo maior deveria ter sido esperado para bactéria entrar em fase exponencial de crescimento.

As *time-kill curves* de *E. coli* mostraram aumento de morte bacteriana com aumento das concentrações de CFZ, chegando-se a erradicação microbiana com concentrações correspondentes a 8 e 16 vezes a CIM. As *time-kill curves* da *S. aureus*, no entanto, demonstraram um fenômeno que é conhecido como efeito paradoxal, que corresponde a uma inibição do efeito bactericida dos  $\beta$ -lactâmicos com altas concentrações do fármaco.

O efeito paradoxal foi descrito por Eagle em 1948 para penicilinas frente a bactérias Gram-positivas, entre eles a *S. aureus*. Mais tarde, esses resultados foram corroborados por Nishino e Nakazawa (1975), e por Yourassowsky (1978), sendo que no primeiro foram também investigadas as cefalosporinas, entre elas a CFZ, contra a cepa 209P de *S. aureus*. Nesse estudo de Nishino e Nakazawa, para todos os fármacos  $\beta$ -lactâmicos selecionados, sendo quatro deles cefalosporinas (cefazolina, cefalexina, cefalotina e cefaloridina), houve reversão da inibição do crescimento bacteriano com aumento da concentração do antimicrobiano, como pode ser observado para a cefalotina na Figura 8. Para essa cepa, a CIM para CFZ foi de 0,25  $\mu\text{g/mL}$  e a reversão da inibição ocorreu de 2–5 vezes a CIM no meio.

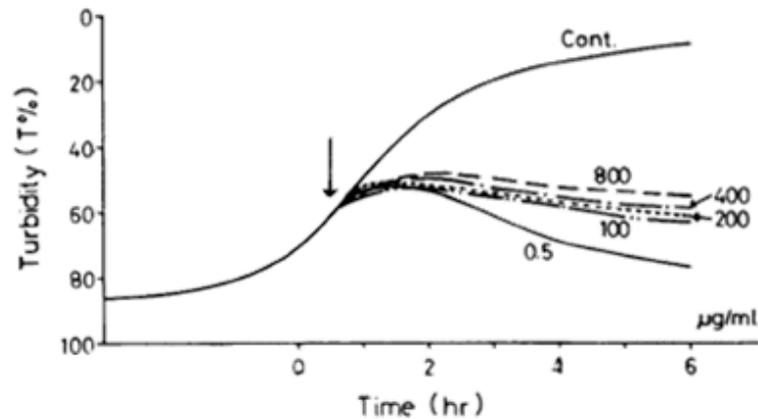


Figura 8. Efeito de diferentes concentrações de cefalotina frente *S. aureus*. Nas curvas é possível observar que o efeito máximo atingido *in vitro* ocorre em 0,5 µg/mL de cefalotina, mas que ao aumentar a concentração, ocorre inibição do efeito. Fonte: NISHINO & NAKASAWA, 1976.

O mecanismo do efeito paradoxal ainda não foi muito bem elucidado. Eagle apontava que talvez o próprio mecanismo de ação dos  $\beta$ -lactâmicos causasse essa inibição quando a concentração de bactérias no meio estava muito elevada, já que a agem durante a proliferação microbiana. Outra hipótese é a indução da produção de  $\beta$ -lactamases pelo microrganismo em altas concentrações do fármaco. Em um estudo de Nishino e colaboradores (1990) com infecção intraperitonial em ratos, provocada por duas cepas de *Proteus vulgaris*, uma produtora de  $\beta$ -lactamases e outra não produtora, foi observado que a taxa de sobrevivência dos ratos após a infecção foi igual para ambas as cepas quando tratadas com cefbuperazona. Já no caso dos ratos tratados com cefmenoxima a taxa de sobrevivência foi menor para os infectados com a cepa produtora de  $\beta$ -lactamases (Figura 9). Esses resultados foram associados ao efeito paradoxal observado *in vitro* para a cefmenoxima frente a bactéria, mostrando que não somente esse efeito pode ser causado pela indução de  $\beta$ -lactamases, como também pode ser observado *in vivo* e interferir no desfecho clínico.

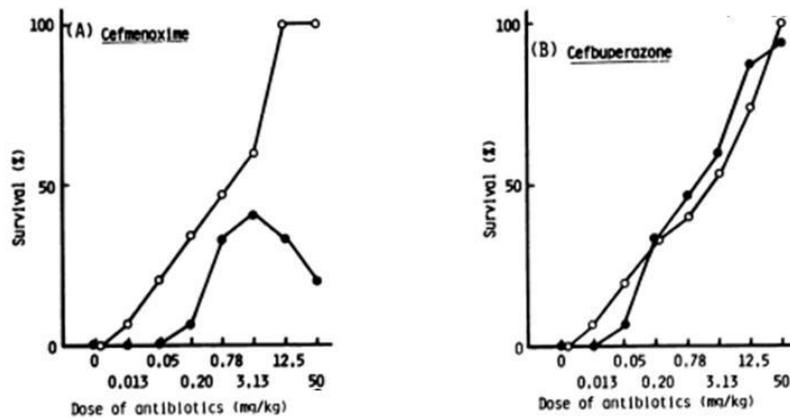


Figura 9. Taxa de sobrevivência (%) em função da concentração (mg/kg) de ratos infectados com *P. vulgaris* de cepa não-produtora (símbolo vazado) e produtora (símbolo preenchido) de  $\beta$ -lactamases, tratados com (A) cefmenoxima e (B) cefbuperazona. É possível observar a redução na taxa de sobrevivência dos ratos infectados com a cepa produtora de  $\beta$ -lactamases a partir da concentração de 3,13 mg/kg de cefmenoxima, que também apresenta efeito paradoxal *in vitro* contra essa bactéria. Fonte: NISHINO *et al.*, 1990.

No presente trabalho, devido ao efeito paradoxal apresentado pela *S. aureus* quando tratada com múltiplos maiores da CIM da CFZ, as curvas foram modeladas até concentrações correspondentes a 4 vezes a CIM. Assumindo que o efeito paradoxal ocorre devido a uma resistência adaptativa, como seria se o mecanismo fosse a produção de  $\beta$ -lactamases induzida por altas concentrações de fármaco, alguns modelos são descritos na literatura para modelar essa resistência adaptativa.

Nielsen e colaboradores (2007) desenvolveram um modelo PK/PD semi-mecanístico para descrever a resistência adaptativa para diferentes antimicrobianos (benzilpenicilina, cefuroxima, eritromicina, moxifloxacino e vancomicina) frente a *Streptococcus pyogenes* usando dados de time-kill curve estáticas. Nesse modelo a farmacocinética é composta por um compartimento central (C), com constante de eliminação de primeira ordem devido a degradação do fármaco ( $k_{deg}$ ), e um compartimento da biofase ( $C_e$ ), cuja constante de passagem do fármaco ( $k_e$ ) do compartimento C para o  $C_e$  explica o atraso no efeito observado. Na farmacodinâmica constava um compartimento S, que representava as bactérias em fase de crescimento e suscetíveis ao fármaco, e um compartimento R onde estão as bactérias em fase estacionária e que não são suscetíveis ao fármaco. As constantes de troca entre esses dois compartimentos ( $k_{SR}$  e  $k_{RS}$ ) representam a conversão das

bactérias de suscetíveis a não suscetíveis ao antimicrobiano e vice-versa. O sistema é descrito por constantes de primeira ordem para a morte bacteriana ( $k_{\text{death}}$ ), em R e S, e de multiplicação bacteriana em S ( $k_{\text{growth}}$ ). Nesse compartimento, a taxa de morte é estimulada pelo antimicrobiano (DRUG), de acordo com um modelo de  $E_{\text{máx}}$  (Figura 10A). Embora alguns dos antimicrobianos tenham sido adequadamente descritos por esse modelo, a degradação da benzilpenicilina e da cefuroxima não por  $\beta$ -lactamases não explicou a redução da taxa de morte bacteriana para maiores concentrações observada para esses dois fármacos. Em 2011, outro artigo de Nielsen e colaboradores, baseado no primeiro, utilizando dados de *time-kill curves* dinâmicas para *E. coli*, incluiu a resistência adaptativa ao modelo. Algumas mudanças foram feitas no modelo original: o compartimento central (C) é influenciado pelos compartimentos periféricos ( $P_1$  e  $P_2$ ); a constante de atraso no efeito foi incluída entre o compartimento C e o compartimento de efeito do fármaco ( $C_E$ ); e nos compartimentos de resistência adaptativa ( $AR_{\text{OFF}}$  e  $AR_{\text{ON}}$ ), usados apenas para a gentamicina, foi introduzida uma constante de desenvolvimento de resistência ( $k_{\text{on}}$ ) estimulada por  $C_E$ , enquanto que  $k_{\text{off}}$  é a constante de retorno a suscetibilidade (Figura 10B).

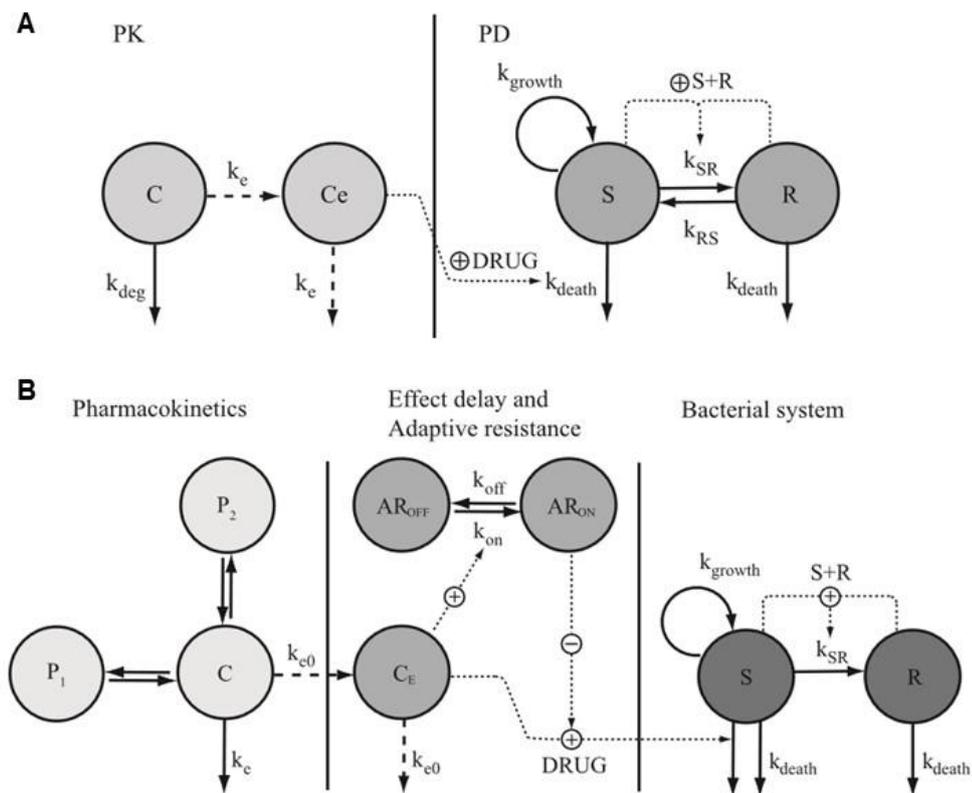


Figura 10. Representação dos modelos PK/PD desenvolvidos por Nielsen e colaboradores em 2007 (A) e 2011 (B). O modelo em B está baseado no modelo A, sendo incluída a resistência adaptativa desenvolvida pelas bactérias. Em A: C, compartimento central; C<sub>e</sub>, compartimento da biofase; k<sub>deg</sub>, degradação do fármaco; k<sub>e</sub>, constante de passagem do fármaco do compartimento C para o C<sub>e</sub>; S, compartimento de bactérias em fase de crescimento suscetíveis ao fármaco; R, bactérias em fase estacionária e não suscetíveis; k<sub>SR</sub> e k<sub>RS</sub>, constantes de troca entre os compartimentos S e R; k<sub>death</sub>, constante de morte bacteriana e k<sub>growth</sub>, constante de crescimento bacteriano. Em B: P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, compartimentos periféricos; C<sub>E</sub>, compartimento de efeito do fármaco; AR<sub>OFF</sub> e AR<sub>ON</sub>, compartimentos de resistência adaptativa; k<sub>on</sub>, constante de desenvolvimento de resistência e k<sub>off</sub>, constante de retorno a suscetibilidade. Fonte: NIELSEN *et al.* 2007 e NIELSEN *et al.*, 2011.

Mohamed e colaboradores (2011), baseando-se no modelo PK/PD desenvolvido por Nielsen e colaboradores de 2011, que inclui o desenvolvimento de resistência adaptativa, fez a predição do desfecho clínico de diferentes regimes terapêuticos de gentamicina em infecções causadas por bactérias Gram-negativas em recém-nascidos, utilizando também dados de *time-kill curves* estáticas e dinâmicas de *E. coli* para diferentes regimes terapêuticos. Esse modelo demonstrou que doses fracionadas do fármaco em 24 horas não mostraram vantagens em relações a maiores doses e, talvez, intervalos de doses estendidos (> 24 horas)

sejam interessantes para esses pacientes. Isso demonstra que o desenvolvimento de modelos que incluem a resistência adaptativa é de grande importância para escolha de posologias pra fármacos que mostram efeito paradoxal.

Também demonstrando a relevância do desenvolvimento desses modelos, Wicha e colaboradores (2017), avaliaram a terapia combinada de diferentes antimicrobianos (linezolida ou vancomicina combinadas com meropenem) para a ampliação do espectro no tratamento de infecções causadas por *S. aureus* suscetível à meticilina (MSSA). Os dados de experimentos *in vitro* foram translacionados com dados *in vivo*, para comparar o poder de predição desse modelo para diferentes tratamentos com a combinação desses fármacos. Simulações de ensaios clínicos foram realizadas e revelaram que a combinação de vancomicina-meropenem pode ser favorável sobre a combinação linezolida-meropenem devido a uma interação antagônica desfavorável entre linezolida e meropenem.

Em 2013, Nielsen e Friberg, elaboraram uma revisão sobre a importância de modelos PK/PD e mostraram os modelos desenvolvidos para antimicrobianos baseados em dados de PD obtidos *in vitro* e dados de PK obtidos em animais e humanos. Dentre esses diversos modelos abordados, foram mencionados os modelos que incluem a resistência adaptativa, obtidos de dados de *time-kill curves in vitro*. Esses modelos estão esquematizados na Figura 11, seguidos das curvas simuladas para cada modelo, tanto para *time-kill curves* com concentrações estáticas quanto com concentrações dinâmicas de fármaco.

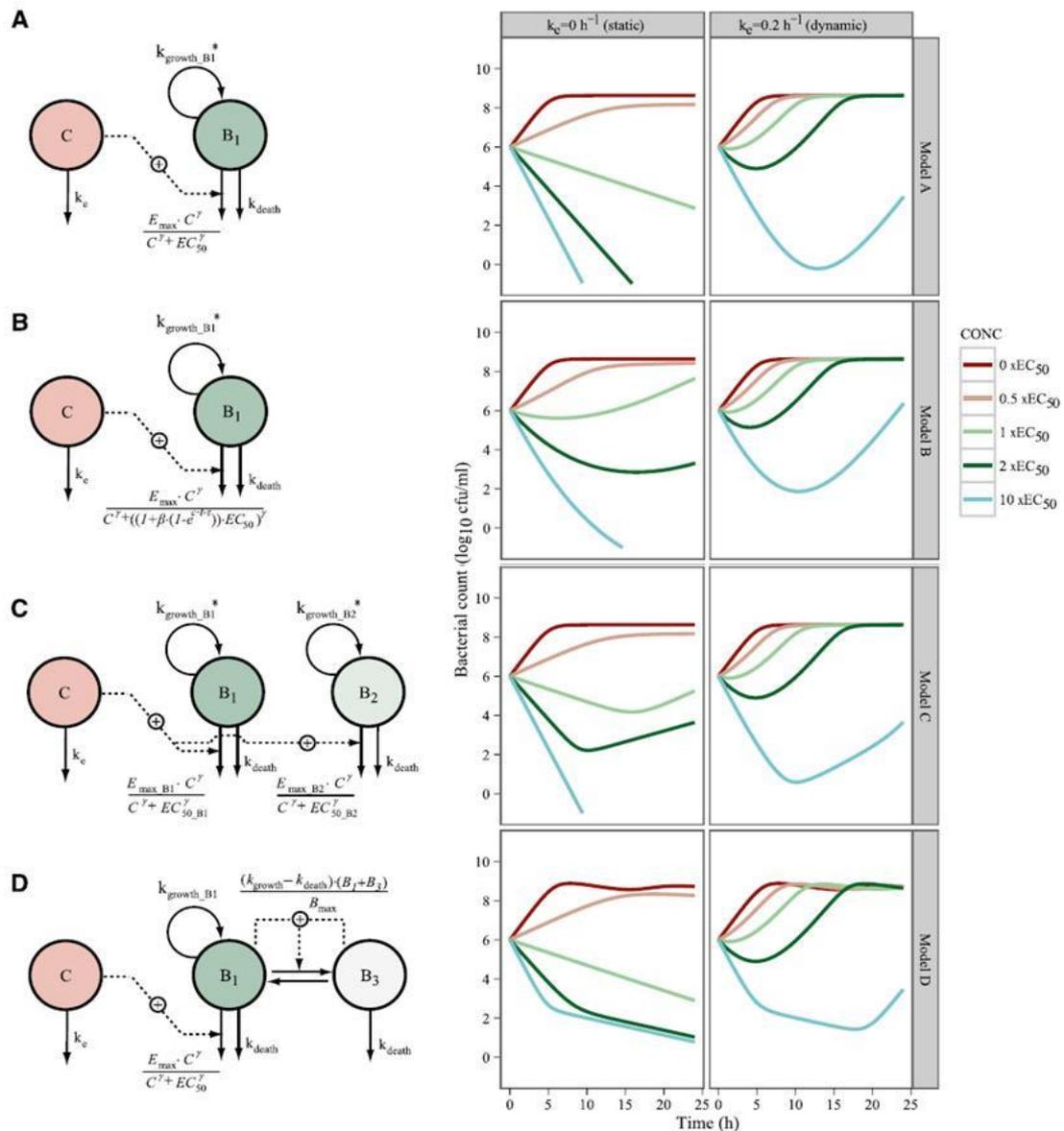


Figura 11. Ilustrações esquemáticas de quatro estruturas diferentes do modelo PK/PD (painel esquerdo) com time-kill curves simuladas após uma exposição a concentração constante do fármaco - estática (painel do meio) ou concentrações flutuante - dinâmica (painel direito). \*O crescimento logístico foi aplicado de acordo com  $k_{\text{growth}} \times (1 - (B_1 + B_2) / B_{\text{max}})$ , sendo  $B_{\text{max}}$  o número de bactérias na fase estacionária dentro do sistema. C, compartimento do fármaco; B1, compartimento com bactérias sensíveis ao fármaco; B2, compartimento com bactérias menos sensíveis ao fármaco; B3, compartimento com bactérias na fase estacionária, resistentes ao fármaco;  $k_c$ , constante de eliminação de primeira ordem;  $\gamma$ , fator de sigmoidicidade. Condições iniciais usadas para simulações: C = 0, 0,5, 1, 2 e 10 x EC<sub>50</sub>, respectivamente; B1 = 1.000.000 UFC/mL; B2 = 10 UFC/mL; B3 = 0 UFC/mL. Parâmetros PK usados para as simulações:  $k_c = 0$  e  $0,2 \text{ h}^{-1}$  para exposição estática (meio) e dinâmica (direita) a fármacos, respectivamente;  $k_{\text{growth}} = 1,4 \text{ h}^{-1}$   $k_{\text{death}} = 0,2 \text{ h}^{-1}$ ;  $E_{\text{max}} = 3 \text{ h}^{-1}$  (B1 e B2); EC<sub>50</sub> = 10 e 100 para B1 e B2, respectivamente;  $\gamma = 1,5$ ;  $B_{\text{max}} = 500,000,000 \text{ CFU/mL}$ ;  $\beta = 100$ ;  $\tau = 0,00005$ .

Esses modelos descrevem a resistência proveniente de uma exposição das bactérias ao fármaco e a consequente seleção natural daquelas com mutações genéticas favoráveis a sua sobrevivência no meio. Por isso, essas curvas apresentam concentrações decrescentes de bactérias até certo momento e um recrescimento proveniente daquelas que adquiriram resistência. No entanto, nenhum dos modelos de resistência adaptativa existentes é capaz de descrever as curvas de efeito paradoxal características dos  $\beta$ -lactâmicos, cujo efeito é inibido pela concentração, já que essas curvas são crescentes desde os primeiros momentos de exposição da bactéria a altas concentrações do fármaco. Nesse contexto, há necessidade de ampliar a avaliação dos perfis de morte bacteriano por tempo obtidos para CFZ frente a *S. aureus* com concentrações maiores que 8  $\mu\text{g/mL}$  (8 e 16 vezes a CIM) visando incluir no modelo parâmetros que descrevem o efeito paradoxal observado. Essa etapa se coloca como perspectiva para o presente trabalho.

Os resultados obtidos até o momento permitiram mostrar que o índice e o modelo PK/PD geraram PTAs concordantes para a maioria das situações utilizado as doses de 2 e 3 g de CFZ frente a *E. coli* e *S. aureus*, apesar de o modelo PK/PD ser uma abordagem mais preditiva. Apenas a dose de 3 g apresenta maior probabilidade de sucesso no tratamento de infecções por *E. coli* com CIM de 2  $\mu\text{g/mL}$ . Em bactérias mais resistentes, com CIM mais elevada, o insucesso no tratamento profilático se torna muito mais provável. No caso da *S. aureus*, apesar dos resultados indicarem que essas doses podem ser eficazes frente a CIM mais frequente, o efeito paradoxal não pode ser esquecido. Quando as concentrações da CFZ na biofase ultrapassarem a concentração que desencadeie o efeito paradoxal haverá inibição da morte bacteriana e concentrações mais elevadas não irão reverter esse efeito.

Sendo assim, a modelagem do efeito paradoxal da CFZ frente a *S. aureus* se faz necessária para melhor descrever o desfecho de diferentes posologias profiláticas desse fármaco.

## 7 CONCLUSÕES

Considerando como critério de aceitação a PTA de 90% em que 100% do tempo de 4 h de cirurgia as concentrações livres sejam superiores a CIM, a dose de 3 g apresenta maior eficácia profilática do que a dose de 2 g, já que PTAs acima de 90% são observadas para essa dose pelo menos até a CIM de 2 µg/mL para ambas bactérias mais prevalentes em ISC. Sendo assim, a dose ideal seria a de 3 g, que já é recomendada para pacientes com peso igual ou superior a 120 kg.

O uso de índices PK/PD para a otimização de doses e predição do desfecho clínico na profilaxia de cirurgia bariátrica tem sido preconizados na literatura. Porém, o desenvolvimento de modelos PK/PD que sejam cada vez mais descritivos e preditivos, pois levam em consideração o efeito antimicrobianos das concentrações livres na biofase em função do tempo, são um avanço na profilaxia cirúrgica para grupos especiais, como os pacientes obesos, pois podem reduzir a ocorrência de ISC e diminuir a emergência de cepas resistentes.

## 8 PERSPECTIVAS

Visando a utilização da modelagem PK/PD para escolha da posologia profilática da CFZ em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica, as próximas etapas desse trabalho são: determinar *in vitro* qual o inóculo mínimo necessário para se estabelecer uma infecção e avaliar, através de *time-kill curves* dinâmicas, o que aconteceria se esse inóculo fosse adicionado ao meio de cultura quando diferentes concentrações do fármaco estão presentes. Essas investigações, associadas a modelagem do efeito paradoxal observado para CFZ frente a *S. aureus* deverão tornar o modelo mais completo, aumentando ainda mais sua capacidade preditiva da eficácia profilática da cefazolina em cirurgia bariátrica.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, p. 80, 2017.

ASÍN, E., *et al.* Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 40, n. 4, p.313-322, out. 2012.

ASÍN-PRÍETO, E.; RODRÍGUEZ-GASCÓN, A.; ISLA, A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. **Journal of Infection and Chemotherapy**, [s.l.], v. 21, n. 5, p.319-329, maio 2015.

BANERJEE, S.; ARGÁEZ, C. Topical Antibiotics for Infection Prevention: A Review of the Clinical Effectiveness and Guidelines. **Cadth Rapid Response Report: summary with critical appraisal**. 2017.

BASSETTI, M., *et al.* Antimicrobial prophylaxis in minor and major surgery. **Minerva Anestesiologica**, v. 81, n. 1, p. 76–91, 2015.

BAUM, E. Z., *et al.* MurF Inhibitors with Antibacterial Activity: Effect on Muropeptide Levels. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 53, n. 8, p.3240-3247, 26 maio 2009.

BAUM, M. L., *et al.* A survey of clinical trials of antibiotic prophylaxis in colon surgery: evidence against further use of no-treatment controls. **The New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 14, p.795–799, 1981.

BERRÍOS-TORRES, S. I., *et al.* Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. **Jama Surgery**, [s.l.], v. 152, n. 8, p.784-791, 1 ago. 2017.

BHAVNANI, S. M., *et al.* Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis for Efficacy of Ceftaroline Fosamil in Patients with Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 59, n. 1, p.372-380, 3 nov. 2014.

BLUM, S.; CUNHA, C. B.; CUNHA, B. A.. Lack of Pharmacokinetic Basis of Weight-Based Dosing and Intra-Operative Re-Dosing with Cefazolin Surgical Prophylaxis in Obese Patients: Implications for Antibiotic Stewardship. **Surgical Infections**, [s.l.], v. 20, n. 6, p.439-443, set. 2019.

BOSWELL, F. J. Bactericidal properties of moxifloxacin and post-antibiotic effect. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 43, n. 90002, p.43-49, 1 maio 1999.

BRATZLER, D. W., *et al.* Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. **American Journal Of Health-system Pharmacy**, [s.l.], v. 70, n. 3, p.195-283, 17 jan. 2013.

BRATZLER, D. W.; HOUCK, P. M. Antimicrobial Prophylaxis for Surgery: An Advisory Statement from the National Surgical Infection Prevention Project. **Antimicrobial Prophylaxis for Surgery**, v. 38, n. 12, p. 1706–1715, 2004.

BRILL, M. J. E.; HOUWINK, A. P. I.; SCHIMIDT, S.; DONGEN, E. P. A. V.; HAZEBOEK, E. J.; RAMSHORST, B. Reduced subcutaneous tissue distribution of cefazolin in morbidly obese versus non-obese patients determined using clinical microdialysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 69, p. 715–723, 2014.

CDC. **Surgical Site Infection (SSI) Event**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/9pscSSIcurrent.pdf>>. Acesso em 17 nov. 2019.

CHEN, X., *et al.* Optimal Cefazolin Prophylactic Dosing for Bariatric Surgery: No Need for Higher Doses or Intraoperative Redosing. **Obesity Surgery**, v. 27, n. 3, p.

626–629, 2017.

CHOPRA, T., *et al.* Preventing surgical site infections after bariatric surgery: value of perioperative antibiotic regimens. **Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research**, v. 10, n. 3, p. 317–28, 2010.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9 (ISBN 1-56238-783-9 [Print]; ISBN 1-56238-784-7 [Electronic]). **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

DALLA COSTA, T., *et al.* Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the in vitro antiinfective effect of piperacillin-tazobactam combinations. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, n. 10, p. 426–33, 1997.

DE LA PEÑA, A., *et al.* PK – PD modelling of the effect of cefaclor on four different bacterial strains. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, p. 218–225, 2004.

DELLINGER, E. P. **Surgical Site Infections**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/surgical-site-infection>>. Acesso em: 2 abr. 2018.

DERENDORF, H. Pharmacokinetic evaluation of  $\beta$ -lactam antibiotics. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 24, p. 407-13, 1989.

DERENDORF, H. A.; MEIBOHM, B. Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: Concepts and Perspectives. **Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 2, p. 176–185, 1999.

DUMONT, G. M.; RONCHI, R.; WOILLARD, L.; ATTHAR, J. B.; LETESSIER, V.; DAILLY, E. Prophylactic cefazolin concentrations in morbidly obese patients

undergoing sleeve gastrectomy: do we achieve targets? **International Journal of Antimicrobial Agents**, 52(1), 28–34. 2018.

EAGLE, M. D. H.; MUSSELMAN, A. D. The rate of bactericidal action of penicillin in vitro as a function of its concentration, and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. **Journal Of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 88, n. 1, p.99-131, 1 jul. 1948.

EDMISTON, C. E.; KREPEL, C.; KELLY, H.; LARSON, J.; ANDRIS, D.; HENNEN, C. Perioperative antibiotic prophylaxis in the gastric bypass patient: do we achieve therapeutic levels? **Surgery**. v. 36, p. 738–747, 2004.

ERDOGAN-YILDIRIM, Z., *et al.* Impact of pH on bacterial growth and activity of recent fluoroquinolones in pooled urine. **Research In Microbiology**, [s.l.], v. 162, n. 3, p.249-252, abr. 2011.

EUCAST. **EUCAST MIC distributions**. Disponível em: <[http://www.eucast.org/mic\\_distributions/](http://www.eucast.org/mic_distributions/)>. Acesso em: 1 mar. 2017.

FIRSOV, A. A., *et al.* Net Effect of Inoculum Size on Antimicrobial Action of Ampicillin-Sulbactam: Studies Using an In Vitro Dynamic Model. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 50, n. 9, p.3230-3230, 28 ago. 2006.

FISCHER, M. I., *et al.* Antibiotic prophylaxis in obese patients submitted to bariatric surgery. A systematic review. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 209–217, 2014.

FOERSTER, S., *et al.* Time-kill curve analysis and pharmacodynamic modelling for in vitro evaluation of antimicrobials against *Neisseria gonorrhoeae*. **Bmc Microbiology**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.16-216, 17 set. 2016.

FORSE, R. A.; KARAN, B.; MACLEAN, L. D. Antibiotic prophylaxis for surgery in morbidly obese patients. **Surgery** 106:750–756. 1989.

GUO, J., *et al.* The anti-Staphylococcus aureus activity of the phenanthrene fraction from fibrous roots of *Bletilla striata*. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.16-491, 29 nov. 2016.

HAMMARLUND-UDENAES, M. Microdialysis as an Important Technique in Systems Pharmacology—a Historical and Methodological Review. **The Aaps Journal**, [s.l.], v. 19, n. 5, p.1294-1303, 31 jul. 2017.

JAIN, J. G.; HOUSMAN, S. T.; NICOLAU, D. P. Humanized tissue pharmacodynamics of cefazolin against commonly isolated pathogens in skin and skin structure infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 69, p. 2443-2447, 2014.

KAYE, K. S.; ANDERSON, D. J. Inoculum Effect with Cefazolin among Clinical Isolates of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*: Frequency and Possible Cause of Cefazolin Treatment Failure. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 23, p. 53-72, 2009.

KITAMURA, Y.; YOSHIDA, K.; KUSAMA, M.; SUGIYAMA, Y. A proposal of a pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) index map for selecting an optimal PK/PD index from conventional indices (AUC/MIC, C<sub>max</sub>/MIC, and TAM) for antibiotics. **Japanese Society for the Study of Xenobiotics**, v. 29, n. 6, p. 455-462, 2014.

LIU, P.; MULLER, M.; DERENDORF, H. Rational dosing of antibiotics : the use of plasma concentrations v ersus tissue concentrations. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 19, p. 285–290, 2002.

LIU, P., *et al.* Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of antibacterial activity of cefpodoxime and cefixime in in vitro kinetic models. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.120-129, 2005.

LIU, Q.; RAND, K.; DERENDORF, H. Impact of tazobactam pharmacokinetics on the antimicrobial effect of piperacillin – tazobactam combinations. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, p. 494–497, 2004.

MEIBOHM, B. & DERENDORF, H. Basic concepts of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modelling. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 35, n. 10: p. 401-413, 1997.

MOHAMED, A. F., *et al.* Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model for Gentamicin and Its Adaptive Resistance with Predictions of Dosing Schedules in Newborn Infants. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.179-188, 28 out. 2011.

MOINE, P.; FISH, D. N. Pharmacodynamic modelling of intravenous antibiotic prophylaxis in elective colorectal surgery. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 41, n. 2, p. 167–173, 2013.

MOINE, P.; MUELLER, S. W.; SCHOEN, J. A.; ROTHCHILD, K. B.; FISH, D. N. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of a Weight-Based Dosing Regimen of Cefoxitin for Perioperative Surgical Prophylaxis in Obese and Morbidly Obese Patients. **Antimicrobial Agents and Chemoterapy**. v. 60, n. 10, 2016.

MONTES, C. V.; VILLAR-COMPTE, D.; VALAZQUEZ, C.; GOLZARRI, M. F.; CORNEJO-JUAREZ, P.; LARSON, E. L. Risk Factors for Extended Spectrum b-Lactamase-Producing *Escherichia coli* versus Susceptible *E. coli* in Surgical Site Infections among Cancer Patients in Mexico. **Surgical Infections**. v. 15, n. 5, 2014.

MOORE, R. D.; LIETMAN, P. S.; SMITH, C. R., Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimal inhibitory concentration. **Journal Of Infection**. v. 155, n. 1, p. 93-99, jan. 1987.

MOUTON, J. W.; VINKS, A. A. Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Modelling of Antibacterials In Vitro and In Vivo Using Bacterial Growth and Kill Kinetics The Minimum Inhibitory Concentration versus Stationary Concentration. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 2, p. 201–210, 2005.

MUELLER, M.; DE LA PEÑA, A.; DERENDORF, H. Issues in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-Infective Agents : Kill Curves versus MIC. **Antimicrobial**

**Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 2, p. 369–377, 2004.

MULLER, A. E., *et al.* Optimal exposures of ceftazidime predict the probability of microbiological and clinical outcome in the treatment of nosocomial pneumonia. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 68, n. 4, p.900-906, 28 nov. 2012.

MURAKAWA, T., *et al.* Pharmacokinetics of ceftizoxime in animals after parenteral dosing. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 17, n. 2, p.157-164, 1 fev. 1980.

NICASIO, A. M., *et al.* Population Pharmacokinetics of High-Dose, Prolonged-Infusion Cefepime in Adult Critically Ill Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.1476-1481, 2 fev. 2009.

NIELSEN, E. I., *et al.* Semimechanistic Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model for Assessment of Activity of Antibacterial Agents from Time-Kill Curve Experiments. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 51, n. 1, p.128-136, 23 out. 2007.

NIELSEN, E. I.; CARS, O.; FRIBERG, L. E. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) Indices of Antibiotics Predicted by a Semimechanistic PKPD Model: a Step toward Model-Based Dose Optimization. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 55, n. 10, p.4619-4630, 1 ago. 2011.

NIELSEN, Elisabet I. & FRIBERG, L. E. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Antibacterial Drugs. **Pharmacological Reviews**, [s.l.], v. 65, n. 3, p.1053-1090, 26 jun. 2013.

NISHINO, T. & NAKASAWA, S. Bacteriological study on effects of beta-lactam group antibiotics in high concentrations. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. v. 9, n. 6, p. 1033-1042, 1975.

NISHINO, T.; YASUDA, T.; MOTOMURA, K.; FUKUOKA, Y.; IKEDA, Y. Paradoxical activity of 1-lactam antibiotics against *Proteus vulgaris* in experimental infection in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 1, p. 94-97, 1990.

NOLTING, A.; DALLA COSTA, T.; RAND, K. H.; DERENDORF, H. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modeling of the antibiotic effect of piperacillin in vitro. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 1, p. 91–96, 1996.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Disponível em: <<https://www.who.int/eportuguese/copyright/pt/>> Acesso em: 20 nov. 2019.

PAI, M. P.; BEARDEN, D. T. Antimicrobial dosing considerations in obese adult patients. **Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. Pharmacotherapy**. v. 27, n. 8, p. 1081–1091, 2007.

PAJOT, O., *et al.* Impact of imipenem and amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters on microbiological outcome of Gram-negative bacilli ventilator-associated pneumonia. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 70, n. 5, p.1487-1494, 27 jan. 2015.

PALMA, E., *et al.* Efficacious Cefazolin Prophylactic Dose for Morbidly Obese Women Undergoing Bariatric Surgery Based on Evidence from Subcutaneous Microdialysis and Populational Pharmacokinetic Modeling. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 35, n. 6, p.35-116, 11 abr. 2018.

PEGLER, S.; HEALY, B. In patients allergic to penicillin, consider second and third generation cephalosporins for life threatening infections. **The British Medical Journal**. V. 335, n. 7627, p. 991, 2007.

PEVNER, L.; SWANK, M.; KELPER C.; WING, D. A.; CHAN, K.; EDMINSON, C. E. Effects of maternal obesity on tissue concentrations of prophylactic cefazolin during cesarean delivery. **Obstetrics & Gynecology**, v. 117, p. 877–82, 2011.

REGOES, R. R., *et al.* Pharmacodynamic Functions: a Multiparameter Approach to the Design of Antibiotic Treatment Regimens. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 48, n. 10, p.3670-3676, 23 set. 2004.

ROBERTS, J. A.; KIRKPATRICK, C. M. J.; LIPMAN, J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**; v. 66, p. 227–231, 2011.

RODRIGUES, A. L.; SIMÕES, M. DE L. P. B. Incidência de infecção do sítio cirúrgico com o preparo pré-operatório utilizando iodopolividona 10% hidroalcoólica e clorexidina alcoólica 0,5%. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 40, n. 6, p. 443–448, 2013.

SANTOS, W. B.; ARAÚJO, M. G. S.; SILVA, J. C.; BERNARDO, T. H. L.; BASTOS, M. L. A; VERÍSSIMO, R. C. S. S. Microbiota infectante de feridas cirúrgicas: análise da produção científica nacional e internacional. **Revista Sobecc**. v. 21, n. 1, p. 46-51, 2016.

SCHENTAG, J. J. Clinical Pharmacology of the Fluoroquinolones: Studies in Human Dynamic/Kinetic Models. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.40-44, 1 ago. 2000.

SCHMIDT, S., *et al.* PK/PD: new insights for antibacterial and antiviral applications. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 8, n. 5, p. 549–556, 2008.

TAM, V. H., *et al.* Comparative Pharmacodynamics of Gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* †. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 8, p. 2626–2631, 2006.

TASSO, L.; ANDRADE, C. DE; DALLA COSTA, T. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of the bactericidal activity of free lung concentrations of levofloxacin and gatifloxacin against *Streptococcus pneumoniae*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 38, n. 4, p. 307–313, 2011.

TREYAPRASERT, W., *et al.* Pharmacokinetic / pharmacodynamic modeling of in vitro activity of azithromycin against four different bacterial strains. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 29, p. 263–270, 2007.

VAN KRALINGEN, S.; TAKS, M.; DIEPSTRATEN, J.; VAN DE GARDE, E. M.; VAN DONGEN, E. P.; WIEZER, M. J. Pharmacokinetics and protein binding of cefazolin in morbidly obese patients. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 67, p. 985–992, 2011.

VIJAYALAKSHMI, P. Incidence of Staphylococcus aureus in Surgical Site Infections in a Teaching Hospital. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, v. 4, n. 4, p. 32-34, 2015.

WICHA, Sg; HUISINGA, W; KLOFT, C. Translational Pharmacometric Evaluation of Typical Antibiotic Broad-Spectrum Combination Therapies Against Staphylococcus Aureus Exploiting In Vitro Information. **Cpt: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, [s.l.], v. 6, n. 8, p.512-522, 13 jul. 2017.

YOURASSOWSKY, E.; LINDEN, M. P. V.; LISMONT, M. J.; SCHOUTENS, E. Qualitative study of the paradoxical zone phenomenon of penicillins against seventeen bacterial species of clinical importance. **Chemotherapy**. v. 24. p. 92-96. 1978.

ZHOU, Q. T., *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Meropenem in Elderly Chinese with Lower Respiratory Tract Infections. **Drugs & Aging**, [s.l.], v. 28, n. 11, p.903-912, nov. 2011.