

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

ANA MARIA SANDRI

FARMACOCINETICA DA POLIMIXINA B INTRAVENOSA EM PACIENTES EM
UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

FARMACOCINETICA DA POLIMIXINA B INTRAVENOSA EM PACIENTES EM
UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

ANA MARIA SANDRI

Orientador: Alexandre Prehn Zavascki

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como
requisito para obtenção do título de Doutor

Porto Alegre, dezembro de 2013

CIP - Catalogação na Publicação

Sandri, Ana Maria
Farmacocinética da Polimixina B Intravenosa em
Pacientes em Unidade de Terapia Intensiva / Ana
Maria Sandri. -- 2013.
102 f.

Orientador: Alexandre Prehn Zavascki.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2013.

1. Polimixinas. 2. Colistina. 3. Farmacocinética.
4. Seleção de Doses. 5. Recuperação Urinária. I.
Zavascki, Alexandre Prehn, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Abrilino Sandri (*in memoriam*), pelo exemplo de caráter, honestidade e incentivo ao conhecimento e à minha mãe, Angelina Pazini Sandri, pelo exemplo de dedicação irrestrita à família, de alegria e de amor à vida.

AGRADECIMENTOS

Às enfermeiras Micheline G. Dalarosa e Rosaura C. Bourdinhão e ao Dr. Diego Falci do Hospital Nossa Senhora da Conceição, à residente Tainá F. Behle e ao Dr. Marcio M. Boniatti do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio na coleta de dados.

Aos Laboratórios de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial à bioquímica Vanessa B. Ribeiro, e do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul pelo suporte na manipulação das amostras.

Ao Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial ao funcionário Everaldo, pelo auxílio no processamento e armazenamento das amostras.

À equipe do Serviço de Controle de Infecção do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul, em especial à secretária Maria Heloísa da Rosa Urbano, pelo auxílio com os prontuários.

Ao Serviço de Infectologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul, Dr. Gabriel Narvaez, Dra. Cândida Neves, Dr. Fabiano Ramos, Dra. Letícia G. Lobo e Dra. Maria Helena Rigatto por todo o apoio proporcionado para a realização desta tese.

Aos colegas da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Dra. Marília Severo e, especialmente, ao Dr. Paulo Behar, pelo apoio e incentivo para a condução desta tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, pelo acolhimento, desde o meu Mestrado e pela atenção dispensada; parabênzico pela organização e seriedade do trabalho.

À Dra. Cornelia B. Landersdorfer, do *Disposition and Dynamics, Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Monash University*, Austrália, pela análise farmacocinética, modelagem populacional e Simulações de Monte Carlo.

Ao Dr. Jian Li e Dr. Roger L., do *Nation do Centre for Medicine Use and Safety, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Monash University*, Austrália, pela participação na análise dos dados e redação dos artigos.

Ao Dr. Alan Forrest, pelo acolhimento na *SUNY-Buffalo School of Pharmacy and School of Public Health*, Buffalo/NY/USA, pelos conhecimentos transmitidos e pela participação na análise dos dados.

À Dra. Gauri Rao, pelo acolhimento na *SUNY-Buffalo School of Pharmacy and School of Public Health*, Buffalo/NY/USA e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Fernando C. Ferverza, pelo incentivo e exemplo de dedicação à ciência.

Ao Dr. Gley Costa, pelo apoio constante e por me ensinar a acreditar.

A toda minha família, pelo apoio, incentivo e compreensão nas minhas ausências e, em especial, à minha irmã Vera Maria S. Jost, pelo estímulo à pesquisa científica.

Ao Regis Fontana, pelo companheirismo e apoio.

À minha irmã Maria Inês Sandri, uma dedicação muito especial, pelo estímulo, envolvimento e apoio irrestrito em todas as etapas desta tese.

Ao meu orientador, Professor Alexandre P. Zavascki, um agradecimento profundo pela confiança depositada, oportunidades oferecidas, estímulo e pela seriedade e brilhantismo na condução de todo o doutorado.

A todos que acreditaram em mim e desejaram sucesso!

*"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende."*

Leonardo da Vinci

(1452-1519)

RESUMO

Foi realizado um estudo de farmacocinética da polimixina B em pacientes críticos com desenvolvimento de um modelo populacional. Os critérios de inclusão foram pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva, com idade igual ou superior a 18 anos e em uso de polimixina B intravenosa por um período mínimo de 48 horas. Amostras de sangue, urina e dialisato foram coletadas durante um intervalo de doses no estado de equilíbrio. A concentração de polimixina B no plasma foi medida por meio de cromatografia líquida de alta performance associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas, sua ligação às proteínas plasmáticas foi determinada por meio de diálise de equilíbrio rápido e a fração livre foi calculada. Foram realizadas análise farmacocinética populacional e Simulações de Monte Carlo.

Foram incluídos 24 pacientes, dos quais dois estavam em hemodiálise contínua; 54,2% eram do sexo masculino e as medianas da idade, do escore APACHE e do peso corporal total foram de 61,5 anos, 21,5 e 62,5kg, respectivamente. As doses de polimixina B, conforme prescrição do médico assistente, variaram entre 0,45-3,38mg/kg/dia. O *clearance* estimado da creatinina nos 22 pacientes sem hemodiálise variou entre 10-143mL/min.

A mediana da fração livre plasmática da polimixina B foi de 0,42 e a média (\pm desvio padrão) da fração livre da área sob a curva ao longo de um dia ($fAUC_{0-24h}$) da polimixina B foi de $29,2 \pm 12,0 \text{mg} \cdot \text{h/L}$, incluindo os pacientes em hemodiálise. A polimixina B foi excretada predominantemente por vias não renais e as medianas de sua recuperação urinária de forma inalterada foi de 4,04% e do seu *clearance* renal foi de 0,061L/hora. Nos pacientes 1 e 2 em hemodiálise foram identificados, respectivamente, *clearance* corporal total de 0,043 e 0,027L/h/kg, *clearance* da hemodiálise de 0,0052 e 0,0015L/h/kg; no dialisato foram recuperados 12,2% e 5,62% da dose como polimixina B não modificada. O *clearance* corporal total da polimixina B não mostrou nenhuma relação com o *clearance* da creatinina, escore APACHE II ou idade.

A disposição da polimixina B no tempo foi adequadamente descrita pelo modelo de dois compartimentos com eliminação linear. O modelo farmacocinético populacional proporcionou ajustes excelentes para os perfis observados de concentração-tempo para pacientes individuais e as concentrações individuais e populacionais ajustadas foram precisas. O ajuste dos *clearances* e dos volumes de distribuição para o peso corporal total reduziu a variabilidade intersujeitos em 3,4% para o *clearance* e 41,7% para o volume de distribuição central; nos

pacientes em diálise, após esse ajuste, os parâmetros estimados se assemelharam aos dos demais pacientes.

As Simulações de Monte Carlo foram feitas com seis diferentes regimes de doses clinicamente relevantes escalonados pelo peso corporal total. O regime de doses de 1,5mg/kg 12/12h forneceu uma AUC_{0-24h} de polimixina B no dia 4 de 90.4mg•hora/L para 50% dos pacientes, adequada para erradicação bacteriana em infecções graves por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* com concentração inibitória mínima para a polimixina B ≤ 2 mg/L. Nas Simulações de Monte Carlo também foi possível identificar que uma melhor área sob a curva só foi atingida no dia 4 de tratamento.

Este estudo mostrou que a dose de polimixina B intravenosa deve ser ajustada ao peso corporal total, que o melhor regime de doses é o de 1,5mg/kg 12/12h precedido de dose de ataque de 2,5mg/kg e que não há indicação de ajuste para a função renal, mesmo em pacientes em hemodiálise contínua.

Palavras Chave: polimixinas; colistina; farmacocinética; seleção de doses; ligação proteica plasmática; recuperação urinária; *clearance* da creatinina; seleção de doses; terapia de substituição renal contínua; insuficiência renal.

ABSTRACT

A polymyxin B pharmacokinetics study in critically ill patients was conducted with the development of a population modeling. The inclusion criteria were patients from Intensive Care Unit, aged ≥ 18 years who received intravenous polymyxin B for ≥ 48 hours. Blood, urine and dialysate samples were collected over a dosing interval at steady state. Polymyxin B concentrations was measured by liquid chromatography- tandem mass spectrometry, its plasma protein binding was determined by rapid equilibrium dialysis and unbound fraction was calculated. Population pharmacokinetic analysis and Monte Carlo Simulations were conducted.

Twenty four patients were enrolled, two of whom on continuous hemodialysis; 54.2% were male; the median of age, APACHE II score and total body weight were 61.5 years, 21.5 and 62.5 kg, respectively. The physician-selected dose of polymyxin B was 0.45- 3.38 mg/kg/day. The creatinine clearance of the 22 patients without hemodialysis ranged from 10 to 143 mL/min.

The median unbound fraction in plasma of polymyxin B was 0.42 and the mean (\pm standard deviation) of the area under the curve over a day for unbound ($fAUC_{0-24h}$) polymyxin B was 29.2 ± 12.0 mg•hour/L, including hemodialysis patients. Polymyxin B was predominantly nonrenally cleared with median unchanged urinary recovered of 4.04%; the median renal clearance was 0.061 L/hour. Patients 1 and 2 in hemodialysis presented, respectively, total body clearance of 0.043 and 0.027 L/h/kg, hemodialysis clearance of 0.0052 and 0.0015 L/h/kg; 12.2% and 5.62% of the polymyxin dose were recovered intact in the dialysate. Polymyxin B total body clearance did not show any relationship with creatinine clearance, APACHE II score, or age.

The time course of polymyxin B concentrations was well described by a 2-compartment disposition model with linear elimination. The population pharmacokinetics model provided excellent fits to the observed concentration-time profiles for individual patients and the individual-fitted and population-fitted concentrations were adequately precise. Linear scaling of clearances and volumes of distribution by total body weight reduced the between subject variability in 3.4% for clearance and 41.7% for the central volume of distribution; after this

scaling, the estimated parameters in hemodialysis patients were within the range of estimates from the other patients. The population mean of the total body clearance of polymyxin B when scaled by total body weight (0.0276L/hour/kg) showed remarkably low interindividual variability.

The Monte Carlo Simulations were performed for six different clinically relevant dosage regimens scaled by total body weight. The regimen of 1.5mg/kg/12 hours provided an AUC_{0-24h} of polymyxin B of 90.4 mg•h/L in day 4 for 50% of patients which is appropriate considering severe infections by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii* with minimal inhibitory concentration for polymyxin B ≤ 2 mg/L. In Monte Carlo Simulations we also identified that the best area under the curve was attained only in the day 4 of the treatment.

This study showed that doses of intravenous polymyxin B are best scaled by total body weight, that the best regimen of doses is 3mg/kg/day with a loading dose of 2.5mg/kg and that its dosage selection should not be based on renal function, even in patients in continuous hemodialysis.

Key words: polymyxins; colistin; pharmacokinetics; dosing selection; plasma protein binding; urinary recovery; creatinine clearance; selection of doses; continuous renal replacement therapy, renal insufficiency.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. CURVA DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA-TEMPO DECORRIDO APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE UM FÁRMACO.....	21
FIGURA 2 - CORRELAÇÃO ENTRE OS PROCESSOS DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DE UM FÁRMACO E SUA CONCENTRAÇÃO NOS SÍTIOS DE AÇÃO.....	27
FIGURA 3 - PADRÕES FARMACOCINÉTICOS/FARMACODINÂMICOS DE AÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS.	37
FIGURA 4 - ESTRUTURA DA POLIMIXINA B.....	45
FIGURA 5 - ESTRUTURAS DA COLISTINA E DO COLISTIMESTATO.....	46
FIGURA 6 - TEORIA DA AUTOABSORÇÃO.....	47
FIGURA 7 - CURVAS DE TKS PARA A COLISTINA.....	61
FIGURA 8 - RESPOSTA MICROBIOLÓGICA OBSERVADA EM UM MODELO PK/PD <i>IN VITRO</i> SIMULANDO A FARMACOCINÉTICA DA COLISTINA	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ADME: Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção

APACHE: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*, escore de gravidade

ASC (ou AUC, sigla utilizada em inglês): área sob a curva de concentração plasmática de um fármaco no decorrer do tempo (ou *area under the curve*)

ATCC: *American Type Culture Collection*

AUC_{0-24 horas}: área sob a curva no decorrer de 24 horas

C: concentração

CBA: colistina básica ativa

C_{ee} (ou C_{ss}, sigla utilizada em inglês): concentração no estado de equilíbrio (ou *steady state*)

CE₅₀ (ou EC₅₀, sigla utilizada em inglês): concentração de fármaco necessária para produzir 50% do efeito máximo

CIM (ou MIC, sigla utilizada em inglês): concentração inibitória mínima (ou *minimal inhibitory concentration*)

CL: *clearance* total; depuração é o termo em português correspondente

CL_{FG}: *clearance* da filtração glomerular

CL_{HDVVC}: *clearance* da hemodiálise venovenosa lenta contínua

CL_R: *clearance* renal

CL_S: *clearance* de secreção

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

C_{máx}: concentração plasmática máxima durante um intervalo de dose

C_{min}: concentração plasmática mínima durante um intervalo de dose

CMS: colistimestato sódico ou metanosulfonato de colistina

DCE: depuração da creatinina endógena

DE₅₀: dose efetiva média

DL₅₀: dose letal média

DT₅₀: dose tóxica média

E_{max}: efeito máximo produzido pelo fármaco

EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

F: biodisponibilidade, ou seja, fração de um fármaco que alcança a circulação sistêmica de forma intacta

f ou *fu*: *fraction unbound*, ou seja, fração livre do fármaco, não ligada às proteínas

*f*AUC: fração livre da área sob a curva de concentração plasmática no decorrer do tempo

*f*AUC/MIC: fração livre da AUC sobre a concentração inibitória mínima

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDVVC: hemodiálise venovenosa lenta contínua

HNSC: Hospital Nossa Senhora da Conceição

HPLC: *high-performance liquid chromatography* ou, em português, cromatografia líquida de alta performance

HSL/PUCRS: Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

I: índice terapêutico

K_d: constante de dissociação

LC/MS/MS: *liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry* ou, em português, cromatografia líquida de alta performance associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas

LPS: lipopolissacarídeos

MC: membrana citoplasmática

ME: membrana externa

MIC: concentração inibitória mínima

NONMEM: *NONlinear Mixed-Effect Modeling*, método utilizado para realizar a análise populacional

OR: *odds ratio* (aOR: *adjusted OR*)

PCT: peso corporal total

PD: *pharmacodynamics* ou, o termo em português, farmacodinâmica

PK: *pharmacokinetics* ou, o termo em português, farmacocinética

S-ADAPT: programa de computador utilizado para a modelagem farmacocinética populacional

SMC: Simulações de Monte Carlo

T: tempo

$T_{1/2}$: meia-vida

TFG: taxa de filtração glomerular

TGI: trato gastrointestinal

$T_{m\acute{a}x}$: tempo para alcançar a concentração máxima no plasma

TKS: *time kill studies*, ou, em português, estudos estáticos *in vitro* de tempo-morte

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

V: volume de distribuição; esta é a sigla mais utilizada, mas também pode ser expresso por V_d , V_z , V_c , V_{ss} , V_1 , V_2 .

V_1 , V_2 : volume de distribuição nos compartimentos 1 e 2, respectivamente

V_{ss} : volume de distribuição no *steady state*

WinNonlinTM : programa de computador utilizado para realizar a análise farmacocinética não compartimental

[•] : símbolo que corresponde ao sinal de multiplicação

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	Farmacocinética (Pharmacokinetics - PK).....	18
2.1.1	Processos de Disposição dos Fármacos	18
2.1.2	Parâmetros Farmacocinéticos	27
2.1.3	Modelagem Farmacocinética	32
2.2	Farmacodinâmica (Pharmacodynamics, PD).....	34
2.2.1	Padrões de Ação dos Antimicrobianos.....	36
2.3	Modelagem Farmacocinética/Farmacodinâmica	37
2.3.1	Modelagem Farmacocinética Populacional.....	37
2.4	Simulações de Monte Carlo (SMC)	40
2.5	Polimixinas	41
2.5.1	Histórico	41
2.5.2	Estrutura Química.....	43
2.5.3	Mecanismos de Ação	46
2.5.4	Mecanismos de Resistência	49
2.5.5	Perfil de Sensibilidade	50
2.5.6	Toxicidade das Polimixinas.....	52
2.5.7	Uso Atual das Polimixinas.....	53
2.6	Farmacocinética das Polimixinas.....	55
2.6.1	Estudos com a Colistina	55
2.6.2	Estudos com a Polimixina B.....	58
2.7	Farmacodinâmica das Polimixinas.....	60
2.7.1	Estudos com a Colistina	60
2.7.2	Estudos com a Polimixina B.....	64
3	JUSTIFICATIVA	66
4	OBJETIVOS	67
4.1	Objetivo principal	67

4.2	Objetivos secundários	67
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO	68
6	PRIMEIRO ARTIGO	83
7	SEGUNDO ARTIGO	95
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	119
9	ANEXO	120

1 INTRODUÇÃO

O rápido aumento da prevalência de bactérias Gram-negativas resistentes a praticamente todos antibióticos disponíveis e a ausência de novos fármacos capazes de fazer frente a essa situação têm se constituído em um grande desafio para pesquisadores do mundo inteiro (1-3). Tal condição é especialmente importante em relação a três bactérias Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e bactérias da família *Enterobacteriaceae*, principalmente *Klebsiella pneumoniae*, resistentes a praticamente todos antibióticos comercialmente disponíveis, exceto polimixinas (2,4,5). Mais recentemente, as *Enterobacteriaceae* produtoras da *New Delhi* metalo-beta-lactamase (6), multirresistentes e com rápida disseminação global, passaram a fazer parte desse cenário. Na busca de uma solução, as "antigas" polimixinas voltaram a fazer parte do arsenal terapêutico como última opção para os germes descritos.

São duas as polimixinas disponíveis para uso clínico, polimixina B e colistina (7, 8). A primeira é utilizada em alguns países, incluindo o Brasil, e a segunda tem uso universal. Em função da sua demanda crescente, várias situações têm gerado questionamentos, principalmente pelos desfechos clínicos desfavoráveis (9-11). Suas bulas ainda são baseadas em estudos da década de 50, período em que foram descobertas (12), os quais, além de raros, utilizavam metodologia inadequada como ensaios microbiológicos para a determinação da concentração dos fármacos (8).

Estudos sobre a farmacocinética das polimixinas, agora com metodologia adequada para as atuais exigências para a liberação de novos medicamentos, vêm sendo feitos porém com ênfase na colistina pela sua maior utilização (8). Os resultados dessas pesquisas, no entanto, não podem ser extrapolados diretamente para a polimixina B devido às diferenças nas suas cinéticas (8,13).

Considerando a alta prevalência de infecções por bacilos Gram-negativos multirresistentes em pacientes críticos (3), a falta de perspectiva de desenvolvimento de novos fármacos capazes de fazer frente a essas bactérias e de inúmeras lacunas a serem preenchidas no que se refere à correta utilização das polimixinas (8), este estudo de farmacocinética da polimixina B intravenosa em uma população de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva, visa elucidar questões relacionadas ao seu regime de doses e à sua eliminação, de forma a otimizar seu uso e minimizar sua toxicidade.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Farmacocinética e Farmacodinâmica

Indivíduos, populações e grupos étnicos variam consideravelmente na sua resposta aos fármacos e, portanto, requerem individualização do seu regime terapêutico. A ação de um fármaco, de uma forma geral, compreende duas etapas: a farmacocinética, que envolve todas as etapas pelas quais o corpo manipula um fármaco ("o que o corpo faz com o fármaco") e a farmacodinâmica, que descreve os efeitos bioquímicos e fisiológicos de um fármaco e seu mecanismo de ação ("o que o fármaco faz com o corpo", no caso dos antimicrobianos, "o que o fármaco faz com o patógeno") (14). O período de ação terapêutica do fármaco no organismo pode ser entendido por sua farmacocinética e farmacodinâmica (15).

2.1 Farmacocinética (Pharmacokinetics - PK)

A farmacocinética corresponde ao estudo da cinética do fármaco e metabólitos nos fluidos biológicos, tecidos e excreções após a sua administração e à construção de modelos apropriados para a interpretação desses dados (16). Descreve como as concentrações plasmáticas de um fármaco mudam no decorrer do tempo com o pressuposto que o plasma irá se equilibrar com um compartimento de efeito para produzir atividades farmacodinâmicas (17). São utilizadas normalmente as concentrações plasmáticas (ou séricas) para determinar os índices farmacocinéticos (18,19).

A farmacocinética abrange os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) (15). Por meio da farmacocinética tais processos, responsáveis por variações contínuas das concentrações dos fármacos no decorrer do tempo, são quantificados (20). Para uma infusão intravenosa as concentrações plasmáticas são influenciadas pela distribuição, redistribuição, metabolismo e excreção; para as demais vias de administração, a absorção também deve ser considerada (17).

2.1.1 Processos de Disposição dos Fármacos

Os processos de disposição dos fármacos incluem a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação.

2.1.1.1 Absorção

A absorção corresponde ao movimento de aproximação do fármaco do seu sítio de ação e tem por finalidade transferir o fármaco do local onde é administrado para o compartimento central (fluidos circulantes, especialmente o sangue) (15,20).

A absorção deve ser considerada em todas as vias de administração, exceto a infusão intravenosa. A escolha da via de administração, parenteral ou enteral, é feita em função do tipo de ação desejada, rapidez de ação e natureza do fármaco (17). A absorção influencia o início e a magnitude do efeito farmacológico (20).

A absorção dos fármacos é influenciada por muitos fatores biológicos e físico-químicos. Para alcançar o local de ação o fármaco é obrigado, na maioria dos casos, a atravessar as membranas biológicas como o epitélio gástrico e intestinal, o endotélio vascular ou, ainda, as membranas plasmáticas celulares (15). Os dois fatores físico-químicos que mais afetam tanto a extensão quanto a taxa de absorção são a lipofilicidade e a solubilidade (21). Os fármacos, em geral, passam através das células e não dos espaços intercelulares; assim, a sua passagem transcelular depende das suas características de permeabilidade para penetrar na dupla camada lipídica das células da membrana, o que é, por sua vez, dependente da sua lipofilicidade (21). As membranas celulares são mais permeáveis às substâncias lipossolúveis, pela sua dissolução na fase lipídica das membranas, comparativamente às substâncias polares, hidrossolúveis. Além da permeabilidade transmembrana, a lipofilicidade de um fármaco também afeta a atividade metabólica (21). Em geral, quanto maior for a lipofilicidade, maior será a permeabilidade e o *clearance* metabólico.

Biodisponibilidade (F)

A principal medida que descreve a extensão da absorção é a biodisponibilidade. Refere-se à fração da dose de um fármaco que alcança a circulação sistêmica de forma intacta (21). É expressa pela letra F e em porcentagem. A biodisponibilidade descreve proporção e velocidade de aparecimento na corrente sanguínea de determinada dose administrada. É avaliada por meio de curvas de concentração do fármaco relacionadas ao tempo e obtidas em tecidos ou líquidos orgânicos (20). Quando 100% da dose atinge a corrente circulatória, diz-se que a biodisponibilidade equivale a 1 (20). Nos estudos de biodisponibilidade, sempre que possível, é feita referência aos níveis plasmáticos resultantes da administração intravenosa do fármaco, já que essa via apresenta biodisponibilidade de 100% (18).

A biodisponibilidade depende da absorção e da parcela que não é removida pelo fígado antes de atingir a circulação sistêmica (21). Um fármaco administrado por via oral, por exemplo, é absorvido primeiro pelo trato gastrointestinal e, em seguida, passa pelo fígado, onde pode ocorrer metabolismo e excreção biliar antes que ele chegue à circulação sistêmica (15). Se a capacidade metabólica ou excretora do fígado e do intestino for grande para o fármaco, a biodisponibilidade será reduzida significativamente, o que é chamado "efeito de primeira passagem" (15).

A biodisponibilidade pode ser afetada por diversos fatores como doenças hepáticas, baixo fluxo sanguíneo hepático (na insuficiência cardíaca, por exemplo), administração do fármaco junto com certos alimentos (por exemplo, tetraciclina e leite), presença de alimentos no intestino, tamanho da molécula (neomicina é lentamente absorvida devido ao seu alto peso molecular, superior a 700kDa) e solubilidade das formas farmacêuticas nos fluidos orgânicos (um mesmo princípio ativo pode ter biodisponibilidade variável em diferentes formulações terapêuticas provenientes de fabricantes diversos ou até entre lotes de um mesmo fabricante) (20). Também pode ser influenciada pela lipofilicidade na permeabilidade trans-membranas e no metabolismo de primeira passagem que, a princípio, a afetariam negativamente (quanto maior a lipofilicidade, menor a biodisponibilidade) (21). A biodisponibilidade influencia a resposta clínica e a escolha de doses e vias de administração (20).

Nos estudos de biodisponibilidade são considerados importantes três parâmetros que descrevem a curva de nível sanguíneo (18):

A. Concentração plasmática máxima (C_{max})

Corresponde à maior concentração sanguínea alcançada pelo fármaco após sua administração, durante um intervalo de doses. Depende da extensão e velocidade de absorção, se o fármaco não for administrado diretamente na corrente sanguínea, bem como da velocidade de eliminação, uma vez que esta se inicia assim que o fármaco é introduzido no organismo. É expressa em quantidade dividida pelo volume (mg/L).

B. Tempo para alcançar a concentração máxima no plasma (T_{max})

Este parâmetro tem íntima relação com a velocidade de absorção do fármaco e pode ser usado como simples medida da mesma.

C. Área sob a curva de concentração plasmática no decorrer do tempo (ASC ou AUC, *area under the curve*, como é normalmente utilizado)

Representa a quantidade total de fármaco absorvido. É o principal parâmetro na avaliação da biodisponibilidade, sendo expresso em quantidade multiplicada pelo tempo dividido pelo volume ($\text{mg}\cdot\text{h/L}$) e pode ser considerado representativo da quantidade total de fármaco absorvido após administração de uma só dose desta substância ativa.

A AUC é proporcional à quantidade de fármaco que entra na circulação sistêmica e independe da velocidade. Matematicamente pode ser obtida por cálculo por meio do método da regra trapezoidal.

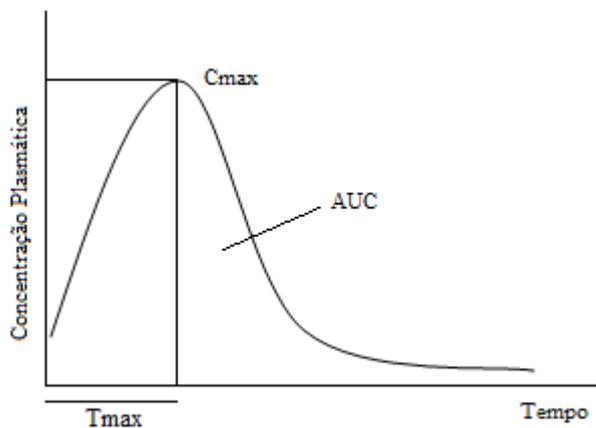


Figura 1. Curva de concentração plasmática-tempo decorrido após a administração de um fármaco. C_{max} , concentração plasmática máxima; AUC, *area under the curve*; T_{max} , tempo necessário para o fármaco atingir sua concentração máxima.

Bioequivalência

É uma definição clínica que se refere a duas formulações de um fármaco. Duas formulações de um mesmo fármaco são consideradas bioequivalentes se a extensão e as taxas de absorção das mesmas forem semelhantes a ponto de não haver diferenças clinicamente importantes entre seus efeitos, terapêuticos ou adversos (18). Dois produtos farmacêuticamente equivalentes são considerados bioequivalentes quando as taxas de biodisponibilidade dos ingredientes ativos nos dois produtos não diferirem significativamente nas condições de testagem (20).

2.1.1.2 Distribuição

Distribuição corresponde ao transporte pela corrente circulatória aos vários tecidos e compartimentos orgânicos. A taxa de distribuição para um sítio de ação ou a partir do mesmo pode determinar o início ou o término dos efeitos de um fármaco.

O fármaco penetra na circulação sistêmica por administração direta ou após a absorção, a partir do sítio de aplicação. A partir do sangue ele se distribui a diferentes tecidos do organismo, classificados funcionalmente como suscetíveis (que sofrem a ação farmacológica), ativos (que metabolizam o fármaco), indiferentes (que servem como reservatório temporário) e emunctórios (encarregados da eliminação do fármaco) (20). A distribuição depende de alguns fatores fisiológicos e das propriedades físico-químicas específicas de cada fármaco. Inicialmente os tecidos bem irrigados como cérebro, coração, fígado e rins recebem a maior parte do fármaco, e, em uma segunda fase, mais lenta, dá-se a liberação para a maior fração da massa corporal que inclui pele, maioria das vísceras, tecido adiposo e músculos (15). Ou seja, a distribuição tecidual é determinada pelo fracionamento do fármaco entre o sangue e os tecidos específicos (15). Como a velocidade de distribuição de um fármaco costuma ser maior que a de metabolização e excreção, um pseudoequilíbrio entre plasma e tecido é atingido ao se completar a distribuição, mas a concentração plasmática continua a diminuir graças à eliminação (18).

Ligação Proteica

Após alcançarem a circulação sanguínea os fármacos podem se ligar às proteínas plasmáticas em diferentes proporções. A ligação é não específica, reversível e um equilíbrio dinâmico se estabelece entre a fração ligada e a não ligada (15). Considerando que as proteínas não passam através das paredes capilares, a ligação do fármaco às proteínas pode retê-lo no espaço vascular por certo tempo. A fração do fármaco que não se encontra ligada às proteínas, ou seja a fração livre (f ou $f_u = \text{fraction unbound}$) é a responsável pela eficácia do fármaco bem como pelo seu potencial de toxicidade. Já a fração ligada é considerada inerte. O complexo fármaco-proteína age como reservatório temporário na corrente sanguínea, retardando a chegada de fármacos a órgãos-alvo e sítios de eliminação (20).

A extensão da fração livre de um medicamento no plasma é representada pela equação (18):

$$\text{Fração livre } (f_u) = \frac{\text{Concentração do fármaco livre}}{\text{Concentração total do fármaco}}$$

A fração livre é determinada pelos seguintes fatores/situações:

Afinidade do fármaco às proteínas de ligação. A ligação depende da afinidade do fármaco pelas proteínas plasmáticas, especialmente pela albumina, alfa-1-glicoproteína ácida e lipoproteínas. A albumina e a alfa-1-glicoproteína ácida têm estruturalmente sítios de ligação seletivos para os fármacos. Cada molécula de albumina tem no mínimo seis sítios de ligação distintos para fármacos e compostos endógenos, sendo que dois grandes sítios, chamados sítios I e II, ligam principalmente fármacos ácidos. A alfa-1-glicoproteína ácida é um reagente de fase aguda o qual apresenta um sítio de ligação seletiva para fármacos básicos. A ligação dos fármacos às lipoproteínas, proteínas das membranas dos eritrócitos, leucócitos, plaquetas e às transportadoras específicas, como a globulina, transportadora de tiroxina e transferrina, representa mais uma dissolução do fármaco nos lipídios das membranas que uma verdadeira ligação. Quanto mais forte for a ligação, menor é a fração livre; os fármacos competem entre si pelos sítios de ligação proteica, sendo deslocado o que tem menor afinidade, ficando, conseqüentemente, com a fração livre aumentada no plasma. (18)

Concentração das proteínas ligadoras. A concentração da albumina pode estar diminuída em doenças hepáticas, renais ou desnutrição grave, por exemplo, resultando em diminuição da ligação e aumento da fração livre; a alfa-1-glicoproteína ácida é um reagente de fase aguda e suas concentrações aumentam na artrite reumatóide, no câncer e pós-infarto do miocárdio, resultando em aumento da ligação e, conseqüentemente, diminuição da fração livre (18).

Concentração do fármaco relativamente às proteínas de ligação. A ligação de um fármaco a um sítio de ligação proteica é um processo saturável, ou seja, à medida que aumenta a concentração do fármaco, também aumenta sua forma livre, porque a capacidade da ligação pode estar saturada. Em uma ampla margem de concentrações, a fração livre não se altera porque há abundância de sítios de ligação; a saturação na verdade só ocorre em concentrações muito altas, clinicamente irrelevantes. No entanto, as concentrações da alfa-1-glicoproteína ácida são relativamente baixas (9-22 μ M) e a saturação dos sítios de ligação pode ocorrer mesmo em níveis terapêuticos; a albumina, por outro lado, apresenta-se em altas concentrações (500 a 700 μ M) e a saturação raramente ocorre (22). De uma forma geral, considera-se que a fração livre do fármaco no plasma não é afetada pela sua concentração (18).

2.1.1.3 Metabolismo (ou Biotransformação)

Os fármacos são reconhecidos como substâncias estranhas ao organismo, devendo ser eliminados após exercer seus efeitos terapêuticos (20).

Sua biotransformação em metabólitos inativos mais hidrofílicos (polares) é essencial para que isso ocorra (15,20). Excluindo-se os pulmões, os órgãos excretores eliminam os compostos polarizados mais eficientemente que as substâncias com alta lipossolubilidade; assim, os fármacos lipossolúveis não são prontamente eliminados até serem biotransformados em compostos mais polarizados (20). Os sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo dos fármacos estão localizados principalmente no fígado, embora os pulmões, os rins e o trato gastrointestinal (TGI) também apresentem atividade metabólica expressiva; basicamente, todos os tecidos examinados apresentam alguma atividade metabólica (15).

Após a administração oral de um fármaco, um percentual significativo da sua dose pode ser metabolizado pelo fígado e parede intestinal durante a primeira passagem da sua absorção (metabolismo de primeira passagem), uma vez que todo o suprimento sanguíneo do TGI alto passa através do fígado antes de atingir a circulação sistêmica (21). Em geral, quanto maior a lipofilicidade de um fármaco, maior é a sua permeabilidade, seu *clearance* metabólico e, portanto, seu metabolismo de primeira passagem, resultando em uma baixa biodisponibilidade (15,21, 22).

O fármaco é submetido a reações químicas, geralmente mediada por enzimas, que o convertem em um composto diferente do originalmente administrado. Consiste em carregá-lo eletricamente para que, ao passar pelos túbulos renais, não seja reabsorvido, ou, ainda, torná-lo polar, hidrossolúvel, capaz de ser excretado (20). Esse processo resulta, na maioria das vezes, em perda da atividade farmacológica e, em casos raros, na alteração da atividade farmacológica (15). Os pró-fármacos são compostos farmacologicamente inativos produzidos com a finalidade de maximizar a quantidade de substância ativa que chega ao sítio desejado; são transformados em metabólitos ativos em geral por hidrólise de uma ligação éster ou amida (15).

Quando ocorre metabolismo do fármaco o original é eliminado, mesmo que o metabólito possa persistir no corpo; ocorrendo inativação do fármaco, a biotransformação é sinônimo de eliminação [Birkett]. Um fármaco pode sofrer uma ou mais transformações até que seja produzido um derivado com real possibilidade de excreção (20).

2.1.1.4 Eliminação

A eliminação corresponde à excreção do fármaco inalterado na urina, fezes, ar expirado, suor etc., e à sua conversão metabólica em um componente químico diferente, predominantemente no fígado, mas também em outros órgãos (18).

A eliminação é um termo não específico que descreve qualquer processo que remove o fármaco do plasma. Existem muitos processos que contribuem para a eliminação: a distribuição que descreve a eliminação atribuível a um fármaco temporariamente absorvido pelos tecidos (exceto plasma); a redistribuição que corresponde à liberação desses estoques temporários de volta para o plasma e a excreção, que permanentemente remove o fármaco do plasma (17).

Os órgãos de excreção são denominados vias de excreção ou emunctorios e incluem basicamente os rins, mas também os pulmões para os fármacos gasosos ou voláteis e o tubo digestivo (fezes e secreção biliar), glândulas lacrimais e salivares e mamas (leite materno) (20).

Os fármacos hidrossolúveis, ionicamente carregados, são filtrados nos glomérulos ou secretados nos túbulos renais não sofrendo reabsorção tubular, pois têm dificuldade de atravessar membranas (20). São excretados, portanto, na sua forma ativa; tal excreção do fármaco, de forma inalterada, constitui-se em um dos principais mecanismos de eliminação de 25 a 30% dos fármacos administrados aos seres humanos (15, 20).

Substâncias ativas excretadas nas fezes são ingeridas por via oral e em grande parte não é absorvida pelo TGI ou são metabólitos excretados ativamente pelo fígado através da bile e não reabsorvidos pelo circuito êntero-hepático; a reintrodução da substância ativa na circulação sistêmica por este circuito pode prolongar seus efeitos (15,20). Pela via biliar normalmente são excretados fármacos de alto peso molecular, os muito polares e aqueles que são ativamente englobados em micelas de sais biliares, colesterol e fosfolipídios (15).

Os rins excretam os fármacos intactos, na sua forma ativa, ou seus metabólitos, ativos ou inativos (15,20). Inicialmente ocorre a filtração do fármaco ou sua secreção para a luz tubular. Nesse ponto pode ocorrer a eliminação com a urina ou sua reabsorção, ativa ou passivamente, pelo epitélio tubular.

Os mecanismos responsáveis pela excreção renal dos fármacos incluem a filtração glomerular, a secreção tubular ativa e a reabsorção tubular passiva.

Filtração Glomerular

A velocidade do processo de filtração bem como a quantidade de fármaco que entra na luz tubular por esse meio depende da fração livre do fármaco (apenas os fármacos não ligados a proteínas plasmáticas são filtrados), taxa de filtração glomerular (TFG) e fluxo plasmático renal (18,20). À medida que o sangue passa através dos glomérulos (1.200mL/min), aproximadamente 10% são filtrados como água plasmática nos túbulos renais, ou seja, a TFG gira em torno de 120mL/min, e a fração livre do fármaco na água plasmática vai junto (18). A creatinina e a inulina não são ligadas às proteínas plasmáticas, não sofrem secreção e tampouco são reabsorvidas; isto permite que seus *clearances* renais sejam usados como medidores da TFG.

Secreção Tubular Ativa

Esse componente do *clearance* renal, *clearance* de secreção, é designado CL_S .

A secreção tubular ativa não é afetada pelo teor de ligação a proteínas plasmáticas, é um transporte mediado por carreadores que apresenta alta velocidade, podendo ser saturável (15).

Os túbulos proximais contêm no mínimo dois mecanismos (bombas) de transporte ativo para mover o fármaco do sangue para o túbulo renal. Um para bases fracas (positivamente carregadas) e outro para ácidos fracos (negativamente carregados). Pode haver competição pelo transporte ativo entre os ácidos e entre as bases pelo sítio de ligação do seu carreador. Como já mencionado, o transporte ativo pode ser saturável, assim o *clearance* pode ser não linear em altas doses (18).

Reabsorção Tubular Passiva

A reabsorção tubular renal de ácidos e bases fracas em suas formas não ionizadas (lipossolúveis) processa-se por difusão passiva em nível dos túbulos proximal e distal, sendo potencialmente bidirecional. A maior parte dos 120mL/min de água plasmática filtrada nos glomérulos é reabsorvida durante sua passagem através dos túbulos renais, de forma que apenas 1-2mL/min finalmente aparece como urina (18). À medida que a água plasmática vai sendo reabsorvida, cria-se um gradiente de concentração entre o fármaco no fluido tubular e o

fármaco livre no sangue. Assim, como o fármaco consegue passar através das membranas das células tubulares ele, então, movimenta-se de volta sendo reabsorvido da luz tubular para o sangue. Este mecanismo é influenciado pela magnitude do gradiente de concentração, o qual depende da extensão da reabsorção da água (se a urina está diluída, o gradiente de concentração é menor e menos droga é reabsorvida) e pelas propriedades físico-químicas do fármaco, pois apenas fármacos não ionizados podem se movimentar através das membranas das células tubulares renais (18).

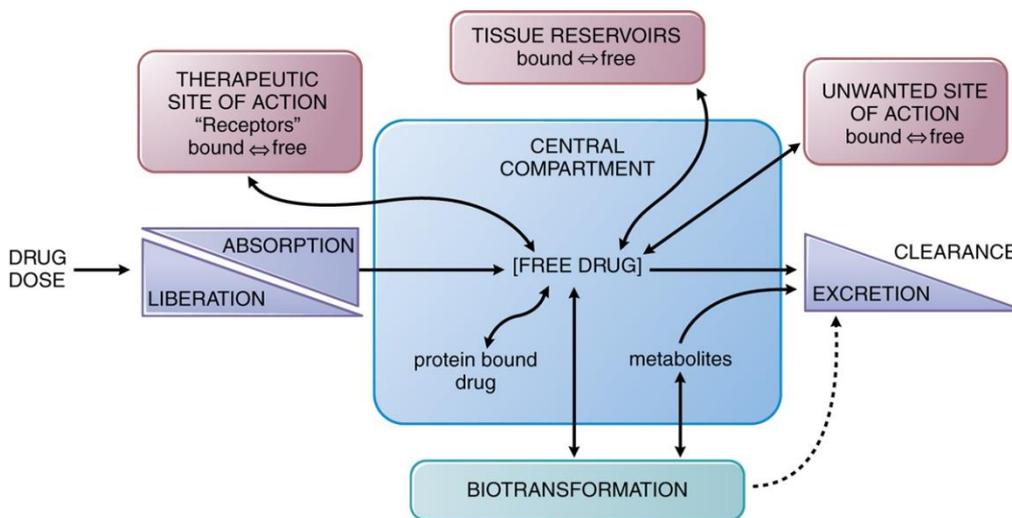


Figura 2 - Correlação entre os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de um fármaco e sua concentração nos sítios de ação (15).

2.1.2 Parâmetros Farmacocinéticos

Os dois primeiros parâmetros, *clearance* e volume de distribuição, são considerados parâmetros fundamentais na farmacocinética, pois estão na dependência apenas das propriedades fisiológicas do corpo e das propriedades físico-químicas do fármaco (18). O terceiro parâmetro farmacocinético descrito, meia-vida, não é fundamental porque depende do *clearance* e do volume de distribuição do fármaco para ser definido (18).

2.1.2.1 Depuração (*Clearance* - *CL*)

Clearance é o termo inglês, usado universalmente; depuração é o termo em português correspondente. É um parâmetro fundamental da farmacocinética que descreve a eficiência da eliminação irreversível do fármaco da circulação sistêmica.

Clearance é definido como o volume do líquido biológico, como sangue ou plasma, do qual o fármaco foi totalmente removido, depurado, por unidade de tempo; usualmente mililitros por minuto (mL/min) ou litros por hora (L/h). O *clearance* pode se referir a um órgão específico

(*clearance* hepático ou renal, por exemplo), a uma determinada rota metabólica ou a todo corpo (*clearance* corporal total). Se um fármaco é depurado por um órgão, a concentração desse fármaco na entrada desse órgão deverá ser maior que sua concentração na saída. O mínimo *clearance* de um órgão é zero e o máximo é o fluxo de sangue que passa por esse órgão. O *clearance* total de um fármaco corresponde à soma de todos os *clearances*, ou seja, dos processos que ocorrem nos rins, fígado ou, ainda, por outras vias de eliminação. O *clearance* é o parâmetro que determina a taxa de dose de manutenção requerida para alcançar a concentração plasmática desejada de um fármaco (e, portanto, sua ação) no estado de equilíbrio (18).

O *clearance* renal (CL_R) de um fármaco corresponde à soma da fração livre do *clearance* de filtração glomerular (ou TFG) e do CL_s multiplicado pela fração do fármaco que escapa da reabsorção do túbulo renal (1- FR) (18).

$$\text{Clearance renal} = \text{filtração} + \text{secreção} - \text{reabsorção}$$

ou

$$CL_R = fu (TFG + CL_s) (1-FR)$$

Onde, CL_R = *clearance* renal do fármaco, fu = fração livre, TFG= taxa de filtração glomerular, CL_s = *clearance* de secreção, FR= fração do fármaco que sofre reabsorção nos túbulos renais.

Para sabermos se um fármaco sofre secreção e/ou reabsorção, temos que considerar:

$$fu \cdot TFG > \text{clearance renal atual do fármaco} = \text{presença de reabsorção tubular}$$

Também pode ocorrer secreção, mas em um menor nível que sua reabsorção

$$fu \cdot TFG < \text{clearance renal atual do fármaco} = \text{presença de secreção tubular}$$

Também pode ocorrer reabsorção, mas em um menor nível que sua secreção

Onde, fu = fração livre do fármaco, TGF= taxa de filtração glomerular. (18)

O cálculo do *clearance* pode ser feito por meio de diferentes fórmulas, entre as quais:

$$CL (L/h) = \frac{\text{Dose (mg)}}{\text{AUC (mg x h/L)}}$$

Onde, CL= *clearance* do fármaco, L/h= litros por hora, Dose= dose do fármaco administrada, mg= miligramas, AUC= área sob a curva de concentração do fármaco, mg•h/L= miligramas vezes hora por litro. (18)

O *clearance* da hemodiálise venovenosa contínua (HDVVC) pode ser calculado mediante a seguinte fórmula:

$$CL_{HDVVC} = \frac{C_{\text{dialisato}}}{\text{AUC}}$$

Onde, CL_{HDVVC}= *clearance* da hemodiálise venovenosa contínua, C_{dialisato}= concentração do fármaco no dialisato, AUC= área sob a curva de concentração do fármaco (no período desejado). (18)

2.1.2.2 Volume de Distribuição (V)

O volume de distribuição tem várias abreviaturas: V (mais utilizada), V_d, V_z, V_{ss}, V_c, V₁, V₂.

É o parâmetro que descreve a extensão da distribuição do fármaco no organismo, corresponde ao volume no qual o fármaco deve dissolver-se para que sua concentração se iguale à do plasma (20). O volume de distribuição não é um volume real, um valor fisiológico, mas, sim, um fator de proporcionalidade que relaciona a quantidade do fármaco no corpo em relação à quantidade medida em um fluido biológico acessível, usualmente plasma. O volume de distribuição é, na realidade, um conceito matemático e não anatômico. Seus limites vão do volume plasmático ao infinito (18).

O fármaco distribui-se a partir do sangue para vários tecidos em uma taxa e extensão variadas, sendo seu maior determinante a força relativa da ligação aos componentes teciduais comparativamente às proteínas plasmáticas. Fármacos com alta ligação às proteínas plasmáticas e baixa ligação aos tecidos ficam restritos, principalmente, ao compartimento intravascular e seu volume de distribuição assemelha-se ao do plasma. Já aqueles fortemente ligados aos tecidos e fracamente às proteínas plasmáticas se encontram, basicamente, nos

tecidos e muito pouco no plasma, parecendo estarem diluídos em um grande volume e seu volume de distribuição, portanto, será grande, maior que o volume plasmático (por exemplo, a warfarina tem um volume de distribuição de 8L e a digoxina de 420L) (18).

Outros determinantes dessa distribuição incluem o tamanho e o fluxo de sangue dos tecidos, facilidade com que o fármaco consegue passar através das membranas lipídicas das células e peso molecular. Alguns tecidos como o cérebro, por exemplo, são altamente perfundidos, facilitando a distribuição de alguns fármacos a partir do sangue; por outro lado, em tecidos com menor perfusão como o músculo esquelético e a gordura, a distribuição se faz mais lentamente. Em geral os fármacos mais lipossolúveis e de menor peso molecular têm maior volume de distribuição, devido à sua maior facilidade em atravessar membranas (20). Quando as características do fármaco propiciam sua fácil passagem através da membrana endotelial, a velocidade de distribuição depende da taxa de perfusão. Por outro lado, se as características do fármaco, como polaridade e grande peso molecular, dificultam seu transporte através da membrana celular, a velocidade de distribuição é limitada pela taxa de difusão (20).

Os fármacos também se movimentam entre os compartimentos, sofrendo distribuição e redistribuição, e isso ocorre em função do gradiente de concentração e do *clearance* intercompartimental (18). O *clearance* de distribuição reflete o movimento do fármaco entre o plasma e os espaços teciduais; seus determinantes primários são o fluxo sanguíneo para os tecidos e a permeabilidade tecidual dos fármacos (18).

O volume de distribuição é o parâmetro farmacocinético utilizado para calcular a dose de ataque necessária para que a concentração do estado de equilíbrio (C_{ee} ou C_{ss} , onde *ss* corresponde ao termo em inglês amplamente utilizado, *steady state*) seja atingida mais rapidamente (18). Para melhor compreensão, estado de equilíbrio é definido como a situação na qual a taxa de administração do fármaco é igual à sua taxa de eliminação, de forma que sua concentração no corpo e, conseqüentemente no plasma, permaneça constante.

Conhecendo-se a concentração sanguínea do fármaco e a quantidade total (dose) administrada, pode-se calcular o volume em que ele se distribuiu.

Fórmula para cálculo do Volume de Distribuição (20)

$$\text{Volume de Distribuição} = \frac{\text{Quantidade Total do Fármaco no Corpo (Dose) (mg)}}{\text{Concentração Plasmática (mg/L)}}$$

Onde, mg=miligramas, mg/L=miligramas por litro.

2.1.2.3 Meia-Vida ($T_{1/2}$)

A meia-vida é um conceito cronológico e indica o tempo necessário para que a quantidade original do fármaco no organismo reduza-se à metade. A cada intervalo de tempo correspondente a uma meia-vida, a concentração do fármaco decresce em 50% do valor que tinha no início do período (15). Para a maioria dos fármacos a meia-vida é constante em uma larga faixa de concentrações. Essa situação é denominada *farmacocinética de primeira ordem* (20). Outros fármacos, no entanto, não são eliminados em proporção constante, mas em quantidade constante. Dessa forma, quanto maior a concentração no plasma, maior a meia-vida, que é, pois, proporcional à dose. Nesses casos, diz-se *farmacocinética de ordem zero* (20).

Teoricamente nunca se elimina 100% do fármaco, mas, para fins práticos, o processo se completa após quatro meias-vidas. Diz-se que a concentração do estado de equilíbrio (C_{ss}) é alcançada após quatro a seis intervalos de meia-vida. Ou seja, o paciente alcançará 50% de equilíbrio dinâmico após uma meia-vida do fármaco, 75% de equilíbrio dinâmico após duas meias-vidas, 87,5% após três meias-vidas e 94% após quatro meias-vidas (18).

A meia-vida aumenta com o aumento do volume de distribuição e com a diminuição do *clearance* e vice-versa (18). Em algumas situações como falência renal e hepática o *clearance* e o volume de distribuição dos fármacos podem se alterar na mesma direção, exercendo efeitos opostos na meia-vida a qual pode, em consequência disso, não sofrer alteração. Dessa forma, a meia-vida não é considerada uma boa medida para avaliar as modificações na eficiência de eliminação dos fármacos (18).

A meia-vida é o principal determinante da duração da ação após uma dose única (dobrando a dose de um fármaco, aumenta a duração da ação em uma meia-vida), do tempo necessário para atingir o estado de equilíbrio com administração constante (o acúmulo do fármaco até atingir o estado de equilíbrio é uma imagem em espelho de sua eliminação quando a administração é suspensa) e para definir a frequência de doses necessária para evitar grandes flutuações na concentração plasmática durante o intervalo de doses (18).

2.1.3 Modelagem Farmacocinética

O conhecimento dos processos e dos parâmetros farmacocinéticos permitiu que o destino dos fármacos no organismo pudesse ser descrito por modelos matemáticos os quais têm maior aplicabilidade clínica para os fármacos com cinética de primeira ordem (23).

Os dados farmacocinéticos podem ser analisados por modelos compartimentais e não compartimentais. Os modelos farmacocinéticos tentam descrever matematicamente o sistema subjacente; são uma hipótese, uma suposição simplificada. O organismo é representado como um sistema de compartimentos cujo número é determinado arbitrariamente, já que o corpo pode ser dividido por número de órgãos, sistemas ou tecidos (23).

O conceito de compartimento é fundamental em farmacocinética. Ele representa uma maneira simplificada para a compreensão dos processos de distribuição dos medicamentos no organismo humano. O corpo pode ser representado como uma série, ou sistemas, de compartimentos que se comunicam reversivelmente entre si. Um compartimento não é uma região anatômica ou fisiológica real, mas é considerada como um tecido ou grupo de tecidos que devem possuir fluxo sanguíneo e afinidade pelo fármaco similares (17).

Nos compartimentos os fármacos movem-se para dentro e para fora e são utilizadas velocidades constantes para representar a velocidade total do processo de entrada e saída do fármaco do compartimento. Os processos estudados ou o fluxo dos fármacos até o compartimento desenvolvem-se segundo cinética de primeira ordem, ou seja, mediante eliminação em proporção constante (23). Dessa forma pode-se dizer que os processos farmacocinéticos correspondem a uma cinética linear. Em consequência dessa linearidade, a AUC em função do tempo decorrido após injeção intravenosa é uma função linear da dose administrada (23).

Os modelos compartimentais consistem de um ou mais compartimentos periféricos conectados a um compartimento central. O compartimento central é representado pelo plasma e pelos tecidos altamente perfundidos.

2.1.3.1 Modelos de Um Compartimento

É a simplificação extrema na qual o organismo é considerado único e homogêneo. Neste modelo, o fármaco administrado é instantaneamente distribuído, sem levar em conta a

realidade anatômica ou fisiológica; o fim da ação dá-se por eliminação (23). Este modelo descreve, muitas vezes adequadamente, as alterações sofridas ao longo do tempo na concentração plasmática ou na excreção urinária de fármacos que após a administração se distribuem rapidamente entre o plasma e os tecidos.

2.1.3.2 Modelos de Dois Compartimentos

Divide o organismo em compartimentos central e periférico, entre os quais o fármaco se move livremente. No compartimento central, composto por sangue e tecidos de alta perfusão (cérebro, coração, rins, pulmões, fígado e glândulas endócrinas), as concentrações dos fármacos são altas logo após a sua administração (23). No compartimento periférico (tecido adiposo, pele e músculo estriado) os fármacos chegam mais lentamente. A atividade dos fármacos no compartimento central pode cessar por eliminação e/ou por distribuição aos tecidos periféricos.

A cinética de dois compartimentos baseia-se na correlação entre concentrações plasmáticas e tempo após administração intravenosa única e rápida (injeção em bolo) de um fármaco. Inicialmente, existe alta concentração no compartimento central (sangue) e, após, uma queda abrupta em função da distribuição do fármaco para o compartimento periférico. A fase de distribuição é chamada fase alfa e é medida pela meia-vida alfa ($t_{1/2}$ de distribuição). Após os compartimentos central e periférico se equilibrarem, a diminuição da concentração plasmática dependerá da eliminação do fármaco por biotransformação ou excreção. Essa fase é chamada fase beta ou de eliminação e é medida pela $t_{1/2}$ beta ($t_{1/2}$ de eliminação) (23).

2.1.3.3 Modelos Multicompartimentais

Estes modelos são necessários para explicar a observação de que após uma rápida administração intravenosa a curva de nível plasmático-tempo decorrido não declina linearmente como uma única velocidade de primeira ordem. Em um modelo multicompartimental o fármaco distribui-se a várias velocidades dentro de diferentes grupos de tecidos. Aqueles que apresentam elevado fluxo sanguíneo podem se equilibrar com o compartimento plasmático e, assim somado ao sangue, compõem o compartimento central. Enquanto esta distribuição inicial do fármaco é efetuada, ele é liberado para um ou mais compartimentos periféricos compostos de grupos de tecidos com menor fluxo sanguíneo e afinidade pelo fármaco. Esta diferença é que leva à aparência não linear da curva de concentração sanguínea do fármaco-tempo decorrido. Após o equilíbrio do fármaco nestes

tecidos periféricos a curva reflete, então, eliminação de primeira ordem do fármaco para fora do organismo (15, 23).

2.1.3.4 Modelos Não Compartimentais

A análise não compartimental não leva em consideração a distribuição fisiológica ou a eliminação do fármaco; simplesmente serve como uma descrição do comportamento do fármaco nos fluidos biológicos. Os parâmetros farmacocinéticos são sumarizados sem preencher um modelo compartimental. Os modelos não compartimentais fornecem um quadro inicial para introduzir e utilizar a análise estatística com a finalidade de estimar os parâmetros farmacocinéticos. A partir deles são definidos os modelos compartimentais que melhor descrevem o sistema em avaliação (14, 24, 25).

2.2 Farmacodinâmica (Pharmacodynamics, PD)

"O que o fármaco faz com o corpo", no caso dos antimicrobianos, "o que o fármaco faz com o patógeno" (14).

A farmacodinâmica descreve o relacionamento entre a concentração do fármaco e os efeitos resultantes (19). Para produzir efeitos terapêuticos ou tóxicos os fármacos interagem com receptores no corpo, esta é a fase farmacodinâmica da sua ação. O fármaco nos tecidos, onde as interações com os receptores usualmente ocorrem, encontra-se em equilíbrio com a sua fração livre no plasma (18, 19, 26).

Considerando a antibioticoterapia, o efeito esperado é sua atividade farmacológica contra o microrganismo e os efeitos deletérios são aqueles exercidos contra o organismo, resultando na ocorrência dos efeitos adversos.

Um princípio fundamental da farmacodinâmica relaciona o efeito de um fármaco com a dose administrada, definida como a quantidade necessária para a produção de uma determinada resposta em um tempo estabelecido (27). Quando a concentração nos sítios de ação é alcançada, expressa pelo efeito esperado, considera-se satisfatória a dose utilizada. Essa concentração também é dependente do tempo que o fármaco leva para chegar ou sair do sítio referido (27). Logo, há inter-relação entre dose, efeito e tempo.

Um fármaco é considerado agonista quando tem afinidade pelo sítio de ligação de um receptor, conseguindo ativar o domínio efetor. Os agonistas de um determinado receptor

podem ser classificados em plenos ou totais (conseguem evocar resposta máxima) e parciais (não conseguem evocar resposta máxima mesmo com incremento de doses) (18,27). Por outro lado, os fármacos que apresentam alta afinidade, mas não produzem resposta consequente à interação, são chamados de antagonistas (ou bloqueadores) (18, 27). Os antagonistas apenas conseguem produzir seus efeitos bloqueando o acesso dos agonistas aos receptores. Colocados juntos a agonistas, diminuem ou anulam suas respostas devido à competição pelos receptores, ocupando alguns deles ou a maioria, respectivamente. Só há reversão desse processo quando se aumenta a concentração do agonista, superando a do antagonista (27). Também existem os antagonistas não competitivos que são fármacos que impedem a resposta do agonista sem a competição pelos receptores, provocando nessas modificações estruturais ou de função que os inativam de maneira estável. Fármacos que antagonizam efeitos de outros, atuando em receptores diversos, são antagonistas de efeito ou fisiológicos.

Determinados fármacos têm sua ação independente de receptor. Sua simples presença na biofase propicia reações com constituintes orgânicos resultando em efeito farmacológico (27). Certos fármacos são análogos estruturais de substâncias biológicas normais podendo se incorporar a elas e alterar sua função, outros não têm atividade farmacológica na forma molecular em que foram administrados, são profármacos, e necessitam ser metabolizados para serem ativados. Outros fármacos podem atuar por inibição de enzimas catabólicas e por interferência nos processos de transporte (27).

Os compostos que produzem resposta mediante interação fármaco-receptor apresentam uma curva de dose-efeito ou dose-resposta cuja intensidade de efeito é diretamente proporcional à porcentagem de receptores ocupados pelo fármaco; tal porcentagem é função da concentração do fármaco e de sua habilidade em se ligar aos receptores. A curva dose-efeito de um agonista mostra o aumento do efeito até chegar a um platô, quando os receptores estão todos saturados, que corresponde ao efeito máximo ou E_{max} ; daí decorre a CE_{50} (ou EC_{50} , em inglês) que é a concentração do fármaco necessária para produzir 50% do efeito máximo (o que corresponde à ocupação da metade dos receptores responsáveis pelo E_{max}) (18, 27). Nesse nível de concentração pode-se presumir que a outra metade dos receptores está livre, o que corresponde a K_d (constante de dissociação). Logo, o valor numérico de $K_d=CE_{50}$. A intensidade máxima de efeito produzida por dois agonistas é expressa pela eficácia; à relação da eficácia e possíveis desvantagens do tratamento (efeitos adversos, principalmente), denomina-se efetividade. A relação dose-efeito também é explorada para estabelecer quantos indivíduos de uma população respondem como uma determinada intensidade de efeito a uma

dada dose de fármaco; a dose efetiva média ou DE_{50} significa que 50% dos indivíduos testados mostraram resposta. Quando se avaliam efeitos indesejáveis fala-se em dose letal média (DL_{50}) ou dose tóxica média (DT_{50}) se o efeito não é morte. Todos os fármacos produzem respostas terapêuticas e reações adversas. Uma forma aproximada de se estabelecer sua segurança relativa é comparar DT_{50} ou DL_{50} com DE_{50} . A razão entre as duas doses é denominada índice terapêutico (I); quanto maior for a diferença entre a dose terapêutica média e a que pode intoxicar ($I = DT_{50}/DE_{50}$), maiores serão o índice terapêutico e a segurança do fármaco (27).

2.2.1 Padrões de Ação dos Antimicrobianos

Os antimicrobianos encontram-se classificados em três diferentes padrões quanto à sua forma de ação.

2.2.1.1 *Fármacos Concentração-Dependentes*

São fármacos que eliminam os microrganismos quando suas concentrações encontram-se bem acima da concentração inibitória mínima (CIM ou MIC, *minimal inhibitory concentration*, termo em inglês extensamente utilizado) do microrganismo. Aumentando a razão da concentração no sítio de infecção em relação à MIC, maximiza a erradicação bacteriana. A inibição do crescimento continua por um período variável após a concentração do fármaco no sítio bacteriano ficar abaixo da MIC para o agente antimicrobiano. O parâmetro farmacodinâmico para avaliar o desfecho com fármacos concentração-dependentes é a concentração sérica livre máxima do fármaco dividida pela MIC (fC_{max}/MIC). Os aminoglicosídeos e os antifúngicos poliênicos são exemplos de fármacos concentração-dependentes (14, 28).

2.2.1.2 *Fármacos Tempo-Dependentes (Concentração-Independentes)*

São assim denominados porque a extensão da ação antimicrobiana é primariamente dependente da duração da exposição. O parâmetro farmacodinâmico para predizer a eficácia dos fármacos tempo-dependentes é o tempo durante o qual a concentração sérica livre do fármaco permanece acima da MIC ($T > MIC$). Exemplos de fármacos tempo-dependentes incluem cefalosporinas, aztreonam, carbapenêmicos, linezolida e clindamicina (14, 28).

2.2.1.3 Fármacos Área Sob a Curva/Concentração Inibitória Mínima (ASC/CIM ou AUC/MIC)

A razão da área sob a curva de concentração sérica do fármaco em relação ao tempo decorrido sobre a concentração inibitória mínima para o referido fármaco corresponde à medida da exposição total da bactéria para um determinado agente antimicrobiano. A AUC/MIC engloba o pico da concentração e a exposição prolongada, a qual pode ser vital para fármacos com meia-vida longa. Para diferentes microrganismos existem diferentes valores de área de concentração da fração livre do fármaco em relação à MIC, $fAUC/MIC$. Exemplos incluem fluorquinolonas, vancomicina, linezolida, tigeciclina, azitromicina (14, 28).

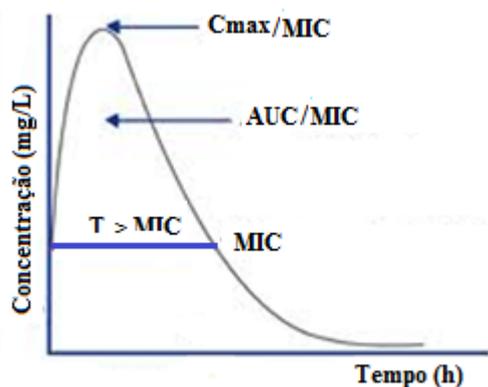


Figura 3 -Padrões Farmacocinéticos/Farmacodinâmicos de Ação dos Antimicrobianos. Cmax, concentração plasmática máxima; MIC, *minimal inhibitory concentration*; AUC, *area under the curve*; T, tempo em horas.

2.3 Modelagem Farmacocinética/Farmacodinâmica

Modelos PK/PD podem ser combinados para fornecer uma representação no tempo da resposta ao fármaco. A farmacologia clínica aplica princípios da farmacocinética e da farmacodinâmica para o paciente individualizado de forma a prescrever a dose correta, otimizando o efeito terapêutico e minimizando os efeitos colaterais.

A principal etapa do projeto de modelagem PK/PD consiste em definir e discutir os objetivos a serem atingidos com o modelo e, em uma etapa secundária, selecionar o tipo de modelo e as ferramentas de *software* a serem utilizadas (29).

2.3.1 Modelagem Farmacocinética Populacional

Na última década, a modelagem farmacocinética populacional tornou-se o método de escolha para analisar os estudos farmacocinéticos; nela, a unidade de análise é a população ao invés

do indivíduo (18). A farmacocinética populacional pode estimar a variabilidade interindividual, a qual é usualmente significativa em pacientes criticamente enfermos, e levá-la em consideração para otimizar o regime de doses (29).

A abordagem populacional é um método baseado em modelo de análise de observações em indivíduos que contribuem para e descrevem como os indivíduos diferem uns dos outros, bem como descreve o comportamento da população (ou subpopulações); "população" significa que a variabilidade interindividual está explicitamente incluída no Modelo (29).

Farmacocinética e farmacodinâmica populacional constituem uma aplicação específica da abordagem populacional para descrever a relação entre as doses do fármaco e a concentração (PK) e o efeito e a concentração (PD) (18, 29). A análise populacional envolve o uso combinado de dados de vários indivíduos para estimar os parâmetros de PK e PD da população em estudo. Além disso, fornece estimativas da variabilidade entre indivíduos (18,29).

Muitas perspectivas clínicas quanto ao uso de medicamentos não são respondidas ou não são completamente respondidas pelas autoridades reguladoras uma vez que os clínicos trabalham em nível individual e as agências reguladoras trabalham com população. Os dados farmacocinéticos submetidos às autoridades regulatórias são frequentemente obtidos de populações muito restritas como voluntários saudáveis ou de um número limitado de pacientes com certa doença (30, 31). Determinados grupos como crianças prematuras, crianças, idosos, pacientes com HIV, pessoas com doenças raras, pacientes com risco de interações medicamentosas, muitas vezes não se beneficiam do processo principal. Conseqüentemente, uso não indicado na bula (*off-label*) de medicamentos nessas populações é muito comum. Estudos populacionais farmacocinéticos e farmacodinâmicos estão em uma posição única com vistas a preencher a lacuna entre submissões estritamente baseadas em evidências de marketing e as necessidades diárias da prática clínica (18, 30, 31).

A abordagem de PK/PD populacional tem muito a oferecer para o registro de novos fármacos bem como para identificar novos grupos de pacientes nos quais fármacos antigos já registrados podem ser usados de forma eficaz e segura (18, 29). Estudos farmacocinéticos tradicionais requerem, muitas vezes, coleta de várias amostras de sangue de pequenos grupos de voluntários. Tais investigações são relativamente fáceis e rápidas de serem feitas, fornecem dados de referência úteis, possibilitam a caracterização plena do perfil concentração no

decorrer do tempo, podendo ser ampliados para investigar subgrupos específicos ou potenciais interações medicamentosas. Esses estudos, no entanto, têm pouca capacidade para determinar a variabilidade no manuseio dos fármacos e a resposta em uma população mais ampla de pacientes. O método populacional, por sua vez, pode analisar dados esparsos, integrar dados de diferentes fontes permitindo superar barreiras éticas e práticas que impedem estudos tradicionais PKPD (18, 29, 31).

A análise populacional destina-se a complementar e não a suplantiar estudos de PK/PD tradicionais, os quais usam dados valiosos de relativamente poucos sujeitos. Para algumas questões uma análise populacional será o único método capaz de fornecer as respostas (uso de um fármaco específico, por exemplo, em prematuros criticamente doentes); porém, um estudo com desenho tradicional ainda é a abordagem com maior poder, e, sempre que possível, deve ser utilizado. Em qualquer situação, uma análise populacional nunca poderá encobrir dados pobres ou malcoletados (29).

Na análise populacional são utilizadas equações matemáticas para descrever a relação entre dose, concentração e tempo. O perfil da concentração-tempo do fármaco é analisado por um dos inúmeros programas de computador existentes, de acordo com o modelo não linear de efeitos mistos abordado (18). Modelo de "efeitos mistos" significa a descrição dos dados com os dois tipos de efeitos, fixos e randômicos, misturados. Os parâmetros de efeito fixo incluem aqueles que podem interferir nos parâmetros farmacocinéticos como idade, peso, gênero e uso concomitante de outros fármacos, entre outros. Os parâmetros de efeito randômico incluem a variabilidade residual intersujeitos, devido a condições não incluídas ou não conhecidas, e a variabilidade residual intrasujeitos e outras fontes de variabilidade, incluindo flutuações ao acaso em valores de parâmetros individuais no decorrer do tempo, erros de medição e todas as fontes de erros não consideradas (18).

O mais conhecido, entre todos os métodos populacionais, é o NONMEM (*NONlinear Mixed-Effect Modeling*), no qual foi implementada a análise não linear de efeitos mistos (31). Apesar de existir um grande número de programas de computador para realizar a sofisticada análise estatística necessária para estimar os parâmetros dos modelos populacionais os mais utilizados são o MC-PEM, o ADAPT, o S-ADAPT e o S-ADAPT-TRAN (31, 32).

2.4 *Simulações de Monte Carlo (SMC)*

O Método de Monte Carlo constitui-se em um método estatístico de análise quantitativa, utilizado para gerar e analisar alternativas antes de sua implementação. Trata-se de um modelo de simulação probabilística, ou seja, tem como foco simulações de fenômenos aleatórios, introduzindo a análise de riscos, incorporando as variáveis ambientais e, conseqüentemente, os elementos de incerteza inerentes (33, 34). É utilizado em diversas áreas como a física, matemática e biologia. Foi introduzido na farmacologia de antimicrobianos por Drusano e Ambrose (35, 36).

As Simulações de Monte Carlo receberam esta denominação devido à famosa roleta de Monte Carlo, no Principado de Mônaco (34). Seu nome e o desenvolvimento sistemático do método foram introduzidos por Ulam e Von Neumann em 1944, durante a Segunda Guerra Mundial, na sua pesquisa para o desenvolvimento da bomba atômica (34).

As SMCs são feitas por meio de um programa de computador com plataformas de simulação que permitem a expansão do tamanho da amostragem fornecendo predições do provável desfecho com diferentes abordagens terapêuticas (37). Por meio dessas simulações é possível prever qual será o desfecho de um tratamento ou se determinado alvo terapêutico conseguirá ser atingido mediante a alteração da dose de um fármaco ou de sua frequência (37). Quando um determinado alvo PK/PD (AUC/MIC, por exemplo) é desejado para cada indivíduo de uma população, isto deve ser verdadeiro tanto para a média populacional quanto, também, para parte da população com características diferenciadas, como, por exemplo, com uma alta taxa de eliminação do fármaco e a conseqüente menor exposição que a média (38). Para essa finalidade foi sugerida uma abordagem integrada da farmacocinética populacional e dos perfis de sensibilidade microbiológica disponíveis por meio da aplicação das SMC. Este método leva em consideração a variabilidade das variáveis de entrada e gera valores ligeiramente diferentes dos parâmetros farmacocinéticos de acordo com a variação na população (38). Assim, os valores dos índices PK/PD são gerados tanto para a média populacional quanto para cada indivíduo possível na população. A distribuição populacional dos valores desses índices é, então, utilizada para estimar as doses necessárias para determinar exposições ótimas na população, incluindo aqueles indivíduos com altas ou baixas taxas de eliminação (38).

Considerando esquemas posológicos de antimicrobianos, os principais requisitos para fazer uma SMC são: (i) um modelo farmacocinético robusto com distribuição e covariância dos parâmetros farmacocinéticos definidos, (ii) um modelo de covariável que forneça informações

sobre como os parâmetros farmacocinéticos variam de acordo com sinais/sintomas e dados demográficos do paciente (exemplo, como o *clearance* do fármaco altera-se com a função renal) e (iii) um modelo farmacodinâmico com inter-relações PK e PD definidas (37).

As SMCs geram um conjunto de valores para os parâmetros farmacocinéticos (exemplo, *clearance*, volume de distribuição) a partir da análise farmacocinética populacional dos dados do paciente, pela amostragem randomizada da distribuição predefinida dos parâmetros farmacocinéticos para cada paciente simulado. A partir desses parâmetros farmacocinéticos é gerado um perfil completo de concentração-tempo do antibiótico para cada paciente simulado, os quais, então, podem ser avaliados contra os dados de sensibilidade, sob a luz da farmacodinâmica do antibiótico (37).

As SMCs podem ser muito úteis em situações nas quais a obtenção de amostras pode ser difícil como, por exemplo, em terapia intensiva e em unidades de neonatologia. Nessa população de pacientes, uma vez que os parâmetros farmacocinéticos de um antibiótico sejam descritos, tais dados podem ser utilizados para prever outros perfis de concentração-tempo desconhecidos (37).

Os potenciais de erro desse método recaem sobre os dados iniciais, como, por exemplo, no tamanho da amostra ou quando o modelo é baseado na concentração total do fármaco e não na sua fração livre. Um estudo com uma amostragem muito pequena pode não ter um número de pacientes suficiente para descrever toda a provável variabilidade farmacocinética em uma população de pacientes e, portanto, ter uma distribuição e covariância subótima dos parâmetros de PK (37).

2.5 Polimixinas

As polimixinas fazem parte dos primeiros antibióticos com atividade significativa contra bactérias Gram-negativas, incluindo *P. aeruginosa*.

2.5.1 Histórico

As polimixinas constituem um grupo de antibióticos que foi isolado pela primeira vez em 1947 na *Chemotherapy Division, Stamford Research Laboratories, Stamford/Connecticut/Estados Unidos*, de diferentes espécies de um bacilo esporulado encontrado no solo, *Bacillus polymyxa* (39-41). Este bacilo foi isolado do solo no decurso de um programa designado para encontrar novos antibióticos para o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas (42). Rapidamente ficou demonstrado que várias polimixinas

quimicamente diferentes poderiam ser obtidas de diferentes cepas do mesmo bacilo, sendo denominadas polimixinas A, B, C, D, E (43). Inicialmente apenas a polimixina B na sua forma de sulfato foi disponibilizada comercialmente (43).

A colistina foi isolada em 1949, no Japão, a partir do *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* (44). Inicialmente foi considerada um novo antibiótico, mas logo ficou demonstrado ser idêntica à polimixina E (45, 46). Em 1959, teve início sua comercialização, sendo disponibilizada em uma nova forma, como um derivado sulfometila (metanosulfonato) da polimixina E, também conhecida como colistimestato sódico (CMS). As outras polimixinas, A, C, e D, foram consideradas excessivamente tóxicas para o uso clínico.

Nos primeiros artigos após seu lançamento as polimixinas foram comparadas com novos antibióticos descritos na mesma época, aureomicina e cloromicetina, sendo consideradas de eficácia superior (47, 48). Também foram comparadas com a estreptomicina e sua efetividade *in vitro* contra certas bactérias Gram-negativas foi notadamente melhor (42, 48). Seu espectro de ação compreendia, além da *P. aeruginosa*, as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus pertussis*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhosa*, *K. pneumoniae*, *Pasteurella multocida* e *Shigella flexner*, e as Gram-positivas *Streptococcus gallinarum* e *Streptococcus pullorum* (48). Sua ação terapêutica em pacientes com infecções localizadas e sistêmicas por bacilos Gram-negativos foi considerada excelente, incluindo resgate de casos sem resposta a outros antimicrobianos (48).

Por outro lado, foi identificada toxicidade renal com descrição de vários graus de disfunção tubular, sendo contraindicado seu uso mais extensivo; porém, em casos de maior gravidade, sua utilização foi encorajada e considerada "salvadora de vidas" (48). Nos anos 60 seu uso em aerossol, evitando absorção sistêmica, foi estimulado quando as secreções broncopulmonares contivessem organismos resistentes aos antibióticos usuais (49).

As polimixinas foram extensamente usadas por aproximadamente duas décadas e substituídas pelos aminoglicosídeos nos anos 70 devido aos relatos de toxicidade, principalmente renal e neurológica, com seu uso parenteral (50). Na prática clínica elas permaneceram com uso eventual, para manejo de infecções respiratórias por *Pseudomonas* spp em pacientes com fibrose cística e em soluções tópicas com outros antibióticos para o tratamento de infecções oculares e otológicas (51).

Nos anos 90 as polimixinas, relegadas a agentes de reserva, foram retomadas pela total falta de alternativa frente a infecções por bacilos Gram-negativos multirresistentes. Suas bulas, no entanto, ainda baseadas em estudos antigos, não apresentam os critérios atualmente exigidos para o desenvolvimento de novos fármacos e, como suas patentes já caíram há muitos anos, torna-se muito difícil obter apoio financeiro das companhias farmacêuticas para submetê-las a novos estudos de forma a redefinir seus parâmetros de uso (12).

2.5.2 Estrutura Química

As polimixinas são metabólitos secundários de peptídeos não ribossômicos produzidos pelo *Bacillus polymyxa* (52). São peptídeos não ribossômicos porque são sintetizados em complexos multienzimáticos ao invés de serem pelo método normal das proteínas nos ribossomos (53). São positivamente carregados em pH fisiológico devido aos resíduos do ácido 5 L- α , γ -diaminobutírico (Dab) (12). A síntese completa das polimixinas foi obtida pela primeira vez por Vogler et al., em 1966 (52, 54).

Estruturalmente as polimixinas são polipeptídeos cíclicos ligados a uma cauda de ácidos graxos; consistem de sete aminoácidos dispostos em um anel cíclico e uma cadeia lateral tripeptídica que se liga à parte lipídica da molécula (51). A estrutura das polimixinas possui elementos atípicos dos peptídeos em geral como a cadeia de ácido graxo N^a e múltiplos aminoácidos não proteogênicos L-Dab (52). O anel heptapeptídico é igual para as duas polimixinas, diferindo apenas na posição 6, a qual é ocupada pela D-fenilalanina na polimixina B e pela D-leucina na colistina (52).

Os dois maiores componentes da polimixina B e da colistina são, respectivamente, polimixina B₁ e B₂ e colistina A (polimixina E₁) e B (polimixina E₂), que se diferenciam pelos seus resíduos de ácidos graxos e podem apresentar diferenças nas suas proporções mediante o laboratório fornecedor e o lote (7, 55, 56). Foi encontrada pequena variabilidade entre os componentes da polimixina B na avaliação de 10 lotes de três fabricantes farmacêuticos, tendo uma média de 73,5% de polimixina B₁, 13,7% de polimixina B₂, 4,2% de polimixina B₃ e 8,6% de iso-polimixina B₁ (variante da polimixina B₁ com uma isoleucina no lugar da leucina); não foi identificada diferença substancial das concentrações inibitórias mínimas entre os componentes (57). Em relação aos componentes A e B da colistina foram identificadas diferentes razões entre seis diferentes marcas, variando entre 4,27 a 0,87 (58).

A polimixina B₁ é acetilada pelo ácido (S)-6-metiloctanóico e a B₂, pelo ácido (S)-6-metilheptanóico; de forma semelhante, a colistina A é acilada pelo ácido (S)-6-metiloctanóico e a B, pelo ácido (S)-6-metilheptanóico (52).

Os elementos fixos da estrutura química das polimixinas consistem da cadeia de ácidos graxos *N*-terminal e do segmento _D-Phe-_L-Leu, que são domínios hidrofóbicos, separados por segmentos de resíduos polares (Thr) e catiônicos (Dab) (52). As polimixinas são, portanto, anfipáticas com hidrofobicidade atribuída principalmente ao radical de ácidos graxos e hidrofiliabilidade devido aos grupos 5 _L-Dab γ -amino (12). A importância do segmento *N*-terminal dos ácidos graxos para a ação antimicrobiana das polimixinas tornou-se evidente pela primeira vez quando os nonapeptídeos das polimixinas foram caracterizados (52). Os nonapeptídeos das polimixinas são compostos dos heptapeptídeos cíclicos e dos componentes dipeptídicos Thr²-Dab³*N*-terminal. A polimixina B nonapeptídeo e a colistina nonapeptídeo são geradas por uma liberação proteolítica do segmento de ácido graxo-Dab¹*N*-terminal. Apesar de a polimixina B nonapeptídeo e de a colistina nonapeptídeo não terem nenhuma atividade antimicrobiana direta, elas mantêm a habilidade de se ligar aos lipopolissacarídeos (LPS) com alta especificidade comprometendo a membrana externa (ME) de forma a sensibilizar os Gram-negativos aos antibióticos hidrofóbicos, para os quais a ME é normalmente impermeável (52, 59). De forma mais importante, a polimixina B nonapeptídeo e a colistina nonapeptídeo tem uma diminuição significativa da toxicidade. Assim, a toxicidade da polimixina B, ao menos em parte, pode ser atribuída ao segmento *N*-terminal dos ácidos graxos que é, também, sua parte mais potente (59).

A polimixina B é utilizada comercialmente como seu sulfato de sódio, o qual é microbiologicamente ativo, enquanto que as preparações comerciais da colistina são compostas de CMS, o qual é uma pró-droga inativa da colistina (12, 60).

O CMS, um derivado sulfometila, foi desenvolvido devido ao relativamente alto nível de toxicidade associado com a administração parenteral da colistina (sulfato) relatado nos estudos iniciais, ou seja, a principal razão para modificação química do lipopeptídeo natural foi para reduzir sua toxicidade sistêmica (53, 61). O CMS é produzido a partir da colistina através de uma reação dos grupos livres γ -amino dos resíduos Dab com formaldeído seguidos por bissulfato de sódio, causando adição de um grupo de sulfametila aos aminos primários da colistina (62). Com tal sulfometilação, a toxicidade fica significativamente reduzida mas, também, a potência antibacteriana *in vitro* fica diminuída (63, 64). O CMS não é, portanto,

um sal da colistina mas, sim, uma entidade química diferente (12). O CMS, não é estável e se transforma em colistina no sangue/plasma e na urina *in vivo* e em soluções-tampão, água e meios microbiológicos *in vitro* (60, 65, 66). A colistina é muito estável na água a 4°C e 37°C, mas não é estável no plasma a 37°C, diminuindo após atingir um pico máximo em torno de 12-24h (66). Esta conversão forma uma mistura complexa com intermediários sulfometilados e colistina, resultando em uma interação farmacocinética complexa entre CMS e colistina, porção antibacteriana ativa (7). A instabilidade do CMS tem implicações significativas na coleta das amostras tanto nos estudos pré-clínicos quanto nos clínicos, pois, havendo uma conversão significativa do CMS em colistina após a coleta das amostras, as concentrações de colistina podem ser superestimadas (12). Há necessidade, portanto, de ensaios específicos, cuidado no manuseio das amostras (em estudos de PK/PD, por exemplo) e nos testes de MIC, os quais são baseados no sulfato de colistina (60, 66).

A atividade e a dosagem da polimixina B são usualmente medidas em unidades, onde 10.000 unidades é equivalente a, aproximadamente, um miligrama (mg) de polimixina B pura (43). Para a colistina, a situação é ainda mais complexa, pois o fármaco é administrado como pró-droga e não há uma normatização da terminologia utilizada para expressar sua atividade antibacteriana. Duas convenções primárias são utilizadas em diferentes regiões do mundo para descrever os conteúdos dos frascos parenterais e as doses correspondentes de CMS. Em alguns países é apresentada em unidades internacionais, enquanto em outros, em miligramas de colistina básica ativa (*colistin base activity- CBA*). Existe uma equivalência aproximada entre 1 milhão UI e 30mg de CBA, o que corresponde a, aproximadamente, 80mg de CMS (67).

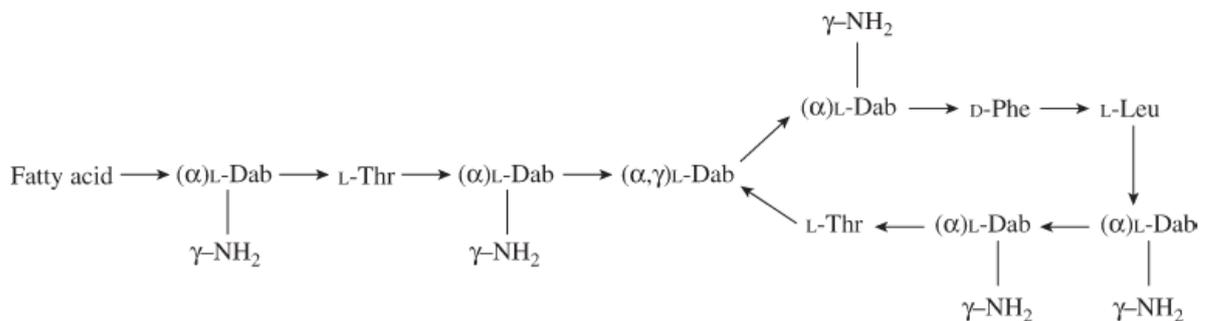


Figura 4 - Estrutura da polimixina B. Ácido graxo: 6-metiloctanóico para a POB₁, 6-metilheptanóico para a POB₂, octanóico para a POB₃ e heptanóico para a POB₄. Thr, treonina; Leu, leucina; Dab, ácido α,γ -diaminobutírico; Phe, fenilalanina; onde estiver α e γ indica o respectivo grupo amino envolvido no peptídeo de ligação. (13)

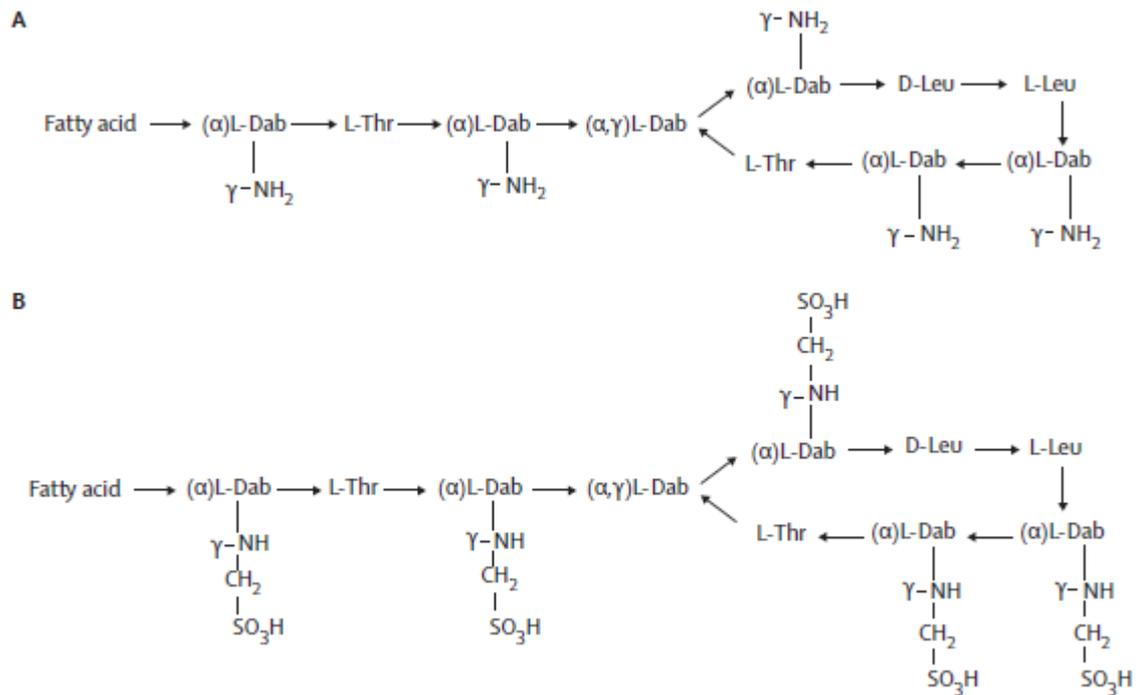


Figura 5 - Estruturas da colistina e do colistimestato. (A) Estruturas da colistina A e B; (B) estruturas do colistimestato A e B. Ácido graxo: 6-metiloctanóico para a colistina A e 6-metilheptanóico para a colistina B. Thr, treonina; Leu, leucina; Dab, ácido α,γ -diaminobutírico; Leu, leucina; onde estiver α e γ indica o respectivo grupo amino envolvido no peptídeo. (8)

As estratégias químicas para o desenvolvimento de análogos da polimixina com melhor atividade e menor toxicidade consideram, entre outras, modificações no comprimento e tamanho do *N*-terminal da porção de cadeia de ácidos graxos, substituições das cadeias laterais Dab e aminoácidos, a questão hidrofóbica D -Phe- L -Leu, o tamanho do anel peptídeo cíclico e o comprimento do segmento linear tripeptídeo *N*-terminal (52).

2.5.3 Mecanismos de Ação

As polimixinas são antibióticos bactericidas que exercem sua ação de forma extremamente rápida, concentração-dependente, sendo esse processo independente da atividade metabólica bacteriana (8).

As polimixinas atuam como um detergente catiônico, comprometendo a integridade da membrana celular bacteriana de forma a causar vazamento do conteúdo intracelular e morte da célula (52, 68). Em contraste com a maioria dos outros peptídeos catiônicos, têm ação restrita às bactérias Gram-negativas, sendo seu foco inicial o lipídio A dos lipopolissacarídeos das bactérias Gram-negativas (69).

Os LPS são componentes estruturais da membrana externa bacteriana compostos por três regiões distintas que são o lipídeo A, o polissacarídeo central e a cadeia polissacarídica lateral O, ou Antígeno O. Conferem estabilidade e integridade à ME e são negativamente carregados (70). O lipídeo A corresponde à porção mais interna da molécula, ancorando os LPS à porção hidrofóbica da membrana externa de forma a auxiliar na estabilização de toda sua estrutura (52).

O mecanismo de ação detalhado das polimixinas não é claro e a teoria da “autoabsorção” é largamente aceita (53).

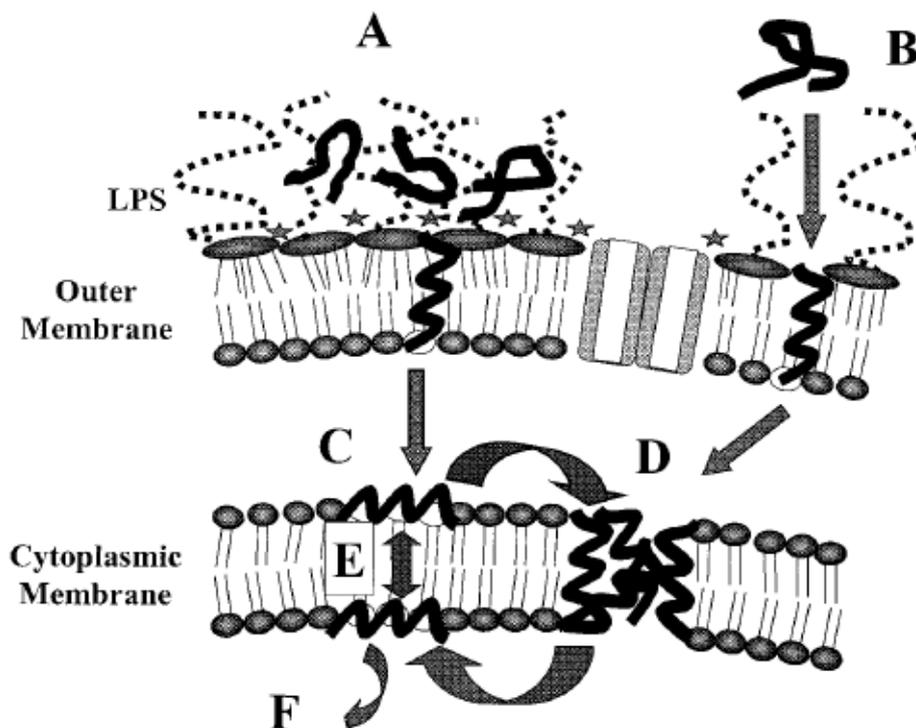


Figura 6 - Teoria da Autoabsorção. Mecanismo proposto de interação dos peptídeos antimicrobianos catiônicos com o envelope celular das bactérias Gram-negativas. (53)

Conforme a figura acima, a ação dos peptídeos antimicrobianos catiônicos ocorreria de acordo com as etapas abaixo descritas (53):

Interação com a Membrana Externa

A) Neutralização: os peptídeos catiônicos abertos interagem com a superfície da membrana externa, negativamente carregada, para neutralizar e deslocar competitivamente as pontes de cálcio e magnésio, ocasionando “rachaduras”.

B) Ligação aos LPS: também é considerada a possibilidade de ligação direta dos peptídeos com os sítios de cátions divalentes nos LPS causando ruptura da membrana

Interação com a Membrana Citoplasmática (MC)

C) Ligação à MC: após atravessar a ME os peptídeos se ligam à superfície da membrana citoplasmática, negativamente carregada em função do grupo de fosfolipídios terminal, inserindo-se nela. Não é conhecido exatamente em que parte desse processo o peptídeo se dobra sobre ele mesmo assumindo sua estrutura anfipática (se durante sua passagem através da ME ou sua inserção na MC).

D) Formação de micélio: muitas moléculas do peptídeo vão se inserir na interface da MC e se agregar constituindo um complexo semelhante a um micélio o qual atravessa a membrana.

E) "*Flip Flop*": ao contrário da etapa anterior, o peptídeo se manteria em movimento atravessando a membrana citoplasmática sob a influência do grande gradiente de potencial elétrico transmembrana.

F) Canais e extravazamento: os agregados de micélios teriam água associada a eles, o que ocasionaria canais para o movimento de íons através da membrana e possivelmente ruptura com extravazamento de grandes moléculas hidrossolúveis. Ocorre aumento da permeabilidade celular.

Em relação às polimixinas, mais especificamente, acredita-se que ocorra uma interação elétrica entre os seus resíduos Dab carregados positivamente e os fosfatos do lipídio A carregados negativamente, deslocando cátions divalentes (Ca^{++} e Mg^{++}) que normalmente funcionam para ligar e estabilizar a camada única de LPS da ME das bactérias Gram-negativas (52). Essa interação eletrostática inicial temporariamente estabiliza o complexo e aproxima a cadeia de ácidos graxos *N*-terminal da molécula de polimixina da ME. A inserção da cadeia de ácidos graxos e D-Phe-L-Leu (polimixina B) ou D-Leu-L-Leu (colistina), que são domínios hidrofóbicos, atuam enfraquecendo a vedação das cadeias de ácido graxo do lipídio A causando distensão da camada única da ME (52). O fato da polimixina B nonapeptídeo (ou seja, a polimixina B menos a cadeia de ácido graxo *N*-terminal e o resíduo Dab) não ter atividade antibacteriana, ressalta a importância de ambas as interações eletrostáticas e hidrofóbicas para o mecanismo de ação das polimixinas. Após a inserção, as polimixinas

parecem atravessar a ME através do mecanismo de autoabsorção. Subsequentemente a molécula de polimixina se insere e rompe a integridade física da camada dupla de fosfolípidios da membrana interna por meio do seu adelgaçamento (52). Estudos da molécula de polimixina ligada aos LPS mostraram que a cauda lipídica fica dobrada de tal forma que os domínios polares e hidrofóbicos formam duas faces distintas conferindo sua estrutura anfipática. Este modelo, embora parcialmente especulativo, está de acordo com dados da literatura (53, 70).

2.5.4 Mecanismos de Resistência

As bactérias Gram-negativas podem desenvolver mecanismos de resistência que são comuns à polimixina B e à colistina, havendo, portanto, resistência cruzada (71). Apesar dos mecanismos de resistência às polimixinas não terem sido completamente esclarecidos, modificações na membrana externa causam resistência à colistina na *P. aeruginosa* e *E. coli* (8). A maioria dos mecanismos de resistência envolve modificações dos LPS da ME bacteriana onde ocorrem as interações eletrostáticas iniciais de forma a reduzir ou mesmo impedir essa interação (70). Diferentes mecanismos para modificação do lipídeo A dos LPS com diminuição de sua carga elétrica negativa foram desenvolvidos por numerosas espécies bacterianas (13).

A modificação dos LPS ocorre com a adição de 4-amino-4-deoxi-L-arabinose (L-Ara4N) no grupo fosfato do lipídeo A, com conseqüente redução da carga negativa do lipídeo A e diminuição ou mesmo abolição de sua interação polar inicial com a polimixina carregada positivamente (70, 72, 73). Esse mecanismo pode ser encontrado na *E. coli*, *Salmonella enterica* sorotipo *typhimurium*, e *P. aeruginosa* (70, 72, 73). Em infecções por *K. pneumoniae* podem ocorrer outras mudanças da membrana externa bacteriana como aumento da produção da cápsula de polissacarídeos, o que limita a interação das polimixinas com seu sítio de ação (74). Outros mecanismos incluem o desenvolvimento de uma bomba de efluxo encontrado na *Yersinia* spp. (70).

Quando são estudados isolados de *P. aeruginosa* resistentes às polimixinas, dois mecanismos distintos de resistência são identificados. Um dos mecanismos, chamado de adaptativo, que corresponde ao desenvolvimento de resistência em função da exposição ao fármaco e reversão ao fenótipo sensível na sua ausência, ocorre em função de modificações na composição lipídica ou lipopolissacarídica da ME com conseqüente diminuição da ligação das polimixinas (75, 76). Um segundo mecanismo, geneticamente estável, envolve a produção aumentada da

proteína H1 da membrana externa consequente à exposição a várias situações de estresse, como baixos níveis de Mg^{++} no envelope celular (7, 77). Essa resistência é regulada, na maioria das vezes, pelas proteínas homólogas PhoP-PhoQ e PmrA-PmrB, dos sistemas regulatórios de dois componentes (70, 77-79).

Resistência do *Acinetobacter* spp. às polimixinas é rara em todo o mundo e os mecanismos de resistência envolvidos não estão completamente esclarecidos (70). Dois fenótipos de resistência, ainda não completamente esclarecidos, resistência adaptativa e heterorresistência têm sido descritos (80, 81). A resistência adaptativa parece ter relação com perda dos LPSs e presença de cápsula (80, 81). Heterorresistência à colistina tem sido descrita, especialmente em hospitais da região do Oeste-Pacífico, e corresponde à presença de subpopulações bacterianas que podem crescer em concentrações mais elevadas de antibiótico que as previstas pela MIC para a maioria das células; seu significado clínico para o *A.baumannii* ainda não está bem definido (82, 83). Em um estudo recente onde foram avaliadas a resistência adaptativa e a heterorresistência à polimixina B de isolados de *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos, foi identificada resistência adaptativa em 55% de 22 isolados testados, todos mostrando altos níveis de resistência à polimixina B (MIC= 64mg/L) (84). Nesse mesmo estudo não foi identificado heterorresistência real para a polimixina B considerando o critério do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) de 2mg/L (84).

2.5.5 Perfil de Sensibilidade

As polimixinas são ativas apenas contra bacilos Gram-negativos, não tendo ação contra Gram-positivos nem anaeróbios. Apresentam atividade antimicrobiana contra *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Klebsiella* spp., *E. coli* e outras enterobactérias (8, 85). Alguns germes apresentam resistência intrínseca como *Providencia* spp., *Neisseria* spp., *Proteus* spp., *Serratia marcescens* e *Burkholderia cepacia* (70).

Os testes de sensibilidade às polimixinas podem ser feitos utilizando difusão em disco, E-test, diluição em ágar e diluição em caldo, embora a acurácia da difusão em disco venha sendo questionada (12). Diferentes pontos de corte têm sido empregados pelas várias organizações (CLSI; EUCAST, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*; BSAC, *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* e CA-SFM, *Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*) (12). Como as informações sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica da polimixina B e da colistina tornaram-se disponíveis apenas recentemente, é muito provável que alguns pontos de corte atualmente em uso possam não ser adequados

(12). Os testes devem ser interpretados com cuidado, pois variações nas concentrações do meio catiônico podem levar a modificações nos MICs para polimixina (76). Além disso, a diluição em ágar e o E-test[®] usualmente mostram MICs maiores quando comparados com os resultados da microdiluição em caldo (76, 86).

As taxas de resistência às polimixinas ainda são baixas, apesar de seu uso crescente, mas vêm sendo descritas em diferentes partes do mundo (5). Dados do Programa de Vigilância aos Antimicrobianos SENTRY, que monitora regularmente os padrões de resistência bacteriana em várias partes do mundo, de janeiro de 2006 a dezembro de 2009, mostraram o perfil de resistência de 40.625 isolados Gram-negativos provenientes de 43 centros nos Estados Unidos, 30 na Europa, 10 na América Latina e 74 na região da Ásia-Pacífico (APAC). Os critérios de sensibilidade utilizados nesse estudo foram interpretados de acordo com o CLSI utilizando microdiluição em caldo, exceto para as enterobactérias onde foram adotados os critérios do EUCAST. Foram identificados os seguintes níveis de resistência para polimixina B e colistina, respectivamente: *P. aeruginosa*, 9.130 isolados, <0,1% e 0,4% (MIC₉₀= 1mg/L), *E. coli*, 17.035 isolados, 0,1% e 0,2% (MIC₉₀≤ 0,5mg/L); *Acinetobacter* spp., 4.686 isolados, 0,8% e 0,9% (MIC₉₀ ≤ 0,5mg/L para a polimixina B e 1mg/L para a colistina); *Klebsiella* spp., 9.774 isolados, 1,4% e 1,5% (MIC₉₀≤ 0,5mg/L). Os níveis de resistência à polimixina B e à colistina no período de 2006 a 2009 permaneceram estáveis entre os isolados clínicos examinados, exceto para *K. pneumoniae* da América Latina e da Ásia-Pacífico onde se observa uma ligeira tendência a aumento da resistência. (5)

No mesmo estudo SENTRY, entre 4.866 isolados não sensíveis ao imipenem, a *Klebsiella* spp. (n=399) mostrou a maior resistência à polimixina B, com 12% dos isolados, comparativamente a 1,4% do total; em relação ao *Acinetobacter* spp., apenas nos Estados Unidos foi verificada diferença na resistência à polimixina B entre os isolados não sensíveis e sensíveis ao imipenem (2,1% e 0,8%, respectivamente); a *P. aeruginosa* não mostrou diferença (5).

Na África os trabalhos são raros e os índices variaram de menos 10% para *P. aeruginosa* e *A. baumannii* na Nigéria, até 53% para *P. aeruginosa* no Zimbábue (70).

Considerando os índices de resistência da *P. aeruginosa* nos pacientes com fibrose cística, estudos europeus, de onde vêm a maior parte dos trabalhos, mostram taxas variadas (70). A Escócia relatou índices de 16 a 40% embora no restante do Reino Unido as taxas foram de

3,1%; trabalhos da Alemanha apresentaram taxas de 6,7% a 58,7% (70). Um estudo da Austrália mostrou níveis de resistência em condições de aerobiose, anaerobiose e com biofilme de 0%, 25% e 75%, respectivamente (70).

Em um estudo feito na Grécia, foi avaliado a frequência de uso da colistina comparando os períodos 2009-2010 e 2010-2011 e sua resistência; foi identificado aumento do uso na ordem de 230% e resistência à colistina de 35,3% na *K. pneumoniae*, 10% no *A. baumannii* e 7,6% na *P. aeruginosa* (87). Em estudo italiano, de 77 infecções da corrente sanguínea por *K. pneumoniae* resistentes à carbapenêmicos, 28,6% (22 casos) também apresentaram resistência à colistina (88).

2.5.6 Toxicidade das Polimixinas

A toxicidade, basicamente nefro e neurotoxicidade, são fatores que historicamente limitaram o uso das polimixinas. A definição de nefrotoxicidade adotada pelos estudos, no entanto, não é padronizada, o que remete a uma avaliação mais crítica dos relatos, principalmente dos mais antigos, nos quais as doses de colistina utilizadas costumavam ser mais elevadas (89, 90). A princípio, a definição de nefrotoxicidade corresponde a um aumento da creatinina sérica (>2mg/dL) e/ou diminuição de 50% na depuração da creatinina calculada comparada com os valores iniciais e/ou necessidade de terapia de substituição renal. A categorização da real situação existente em risco, dano, falência, perda ou estágio final da doença renal (critérios RIFLE) permite identificar de forma mais precisa o quadro (91).

A toxicidade renal já foi descrita em vários estudos, variando de zero a 56% (média de 23%) para a colistina e de 4 a 60% (média de 36%) para a polimixina B, conforme revisão feita por Pogue et al com 2.602 pacientes no grupo da colistina e 723 no grupo da polimixina B (92). Nesse estudo de Pogue et al., os fatores de risco identificados para a nefrotoxicidade associada ao uso de colistina foram doses ou exposição cumulativa elevadas de colistina, uso associado de outros fármacos nefrotóxicos e idade avançada e, para a polimixina B, apenas quatro análises foram encontradas, sendo os fatores de risco, índice de massa corporal, idade, dose, regime de administração, comprometimento da função renal no início do tratamento e uso associado de vancomicina e de vasopressores (92).

Falagas et al., em estudo publicado em 2005 avaliaram a toxicidade relacionada ao uso prolongado (≥ 4 semanas) de colistina intravenosa em 18 pacientes e não identificaram alteração importante na função renal, embora tenha ocorrido elevação nos valores de

creatinina que atingiram significância estatística (mediana dos valores iniciais de creatinina de 0,6mg/dL comparativamente à mediana dos valores máximos absolutos observados de 0,85mg/dL, $p < 0,001$); em relação à neurotoxicidade, em apenas um paciente a polineuropatia, que já estava em andamento quando do início da colistina, teve sua piora associada ao uso desse fármaco (89).

Em 2010, Falagas et al. encontraram um percentual de nefrotoxicidade decorrente do uso de colistina de 10% e não foram observados fatores preditores independentes associados (70, 51). Florescu et al. em um estudo publicado em 2012, não encontraram nefrotoxicidade aumentada relacionada ao uso de colistina (93).

Em um estudo realizado por Elias et al. em pacientes com uso de polimixina B intravenosa, o uso de doses ≥ 200 mg/dia apresentou risco aumentado de nefrotoxicidade (94).

2.5.7 Uso Atual das Polimixinas

As polimixinas representam uma importante opção terapêutica em infecções por *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes a carbapenêmicos, *K. pneumoniae* produtora de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) e, mais recentemente, outras espécies da família *Enterobacteriaceae* produtoras de NDM-1 (5, 6, 95, 96).

A polimixina B é utilizada clinicamente como sulfato de polimixina B e pode ser administrada por via parenteral, tópica (uso oftalmológico e otológico), inalatória e intratecal; o sulfato de colistina tem uso primariamente tópico e oral para descontaminação intestinal e o CMS, parenteral e inalatório (97, 98). Uso intratecal de colistina tem sido descrito associado ou não à administração intravenosa, com ou sem outro antimicrobiano, em casos de meningite/ventriculite, com taxas de cura superiores a 90% (99, 100).

As polimixinas são utilizadas em monoterapia ou em associação, em infecções com etiologia definida ou empiricamente em unidades onde sua prevalência é elevada. Os tratamentos apresentam resultados variados nos diversos estudos publicados.

Na coorte retrospectiva feita por Falagas et al. na qual foi avaliado desfecho relacionado ao tratamento com colistina em infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes em um total de 258 pacientes, a cura da infecção ocorreu em 79% dos casos e a sobrevida hospitalar foi de 65,1% (51).

Em uma revisão sistemática e metanálise comparando o uso de colistina (437 pacientes) e de outros antibióticos (359 pacientes) para tratamento de pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes sem fibrose cística, Florescu et al. não identificaram diferença significativa na mortalidade hospitalar entre os grupos com uso de colistina e com uso de outros antibióticos (OR [Odds Ratio] 0,92; IC 95%, 0,50-1,67; P=0,78) (93).

Paul et al., em um estudo de coorte prospectiva com o objetivo de avaliar a efetividade e segurança da colistina, incluíram 495 pacientes dos quais 200 com uso de colistina e 295 com uso de comparadores (imipenem, meropenem, ampicilina/sulbactam). Os critérios de inclusão foram infecções microbiologicamente comprovadas (pneumonia, infecção do trato urinário, infecção do sítio cirúrgico, meningite e bacteremia) e com tratamento apropriado pelos antibióticos citados. A mortalidade em 30 dias foi de 39% para a colistina *versus* 28,8% para os comparadores (P=0,018); no subgrupo de pacientes com bacteremia, o tratamento com colistina foi significativamente associado à mortalidade em 30 dias (aOR [adjusted OR] 1,99, IC 95%, 1,06-3,77). A conclusão dos autores foi que o uso da colistina esteve associado a uma menor sobrevida, sendo sugerido ser menos efetiva e mais tóxica que os β -lactâmicos (11).

Vicari et al. realizaram um estudo retrospectivo com inclusão de 76 pacientes com bacteremia por Gram-negativos tratados com colistina por um período mínimo de 72h, com o objetivo primário de identificar se a dose da colistina independentemente predizia sucesso microbiológico em 7 dias. Nesse trabalho foi constatado que doses maiores de colistina independentemente se correlacionaram com sucesso microbiológico em 7 dias (aOR 1,74; IC 95%, 1,11-2,71; P=0,015) e que a mediana da dose da colistina também foi significativamente maior entre sobreviventes no dia 7; no entanto, na avaliação de sobrevida em 28 dias, esse dado não se repetiu (95).

Na coorte retrospectiva feita por Kvitko et al., comparando a eficácia de polimixina B com outros antibióticos (maioria beta-lactâmicos) no tratamento de bacteremia hospitalar por *P. aeruginosa*, com inclusão de 133 pacientes, a mortalidade hospitalar foi maior no grupo com uso de polimixina B (66,7%) em relação ao grupo com uso de outros antimicrobianos (28,4%) (aOR 1,91; IC 95%) (9). Rigatto et al., em estudo de coorte prospectiva comparando a eficácia da polimixina B em relação a outros antibióticos para o tratamento de pneumonia associada à ventilação mecânica e traqueobronquite por *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, identificaram, na análise multivariada, que o tratamento com a polimixina B foi fator de risco independente

para uma maior mortalidade encontrada nesse grupo (10). No estudo de Elias et al., envolvendo 276 pacientes com uso de polimixina B, foi identificada uma mortalidade intra-hospitalar geral de 60,5%, sendo que o uso de doses de polimixina $\geq 200\text{mg}/\text{dia}$ foi identificado como fator independente para diminuição do risco de mortalidade no modelo de regressão logística (aOR 0,43; IC 95%, 0,23–0,79) (94).

As associações que vêm sendo estudadas incluem, entre outras, rifampicina, carbapenêmicos, tigeciclina e fosfomicina, com resultados promissores, principalmente nas infecções envolvendo MICs mais altos (102).

A polimixina B é utilizada basicamente no Brasil, Estados Unidos, Singapura e Índia, enquanto o CMS tem utilização universal, incluindo Américas do Norte e do Sul, Ásia, Europa, Austrália e África do Sul (103).

2.6 Farmacocinética das Polimixinas

O conhecimento da farmacocinética das polimixinas é essencial para sua correta utilização. Inúmeros estudos vêm sendo publicados nos últimos anos, basicamente sobre a colistina, por ser a mais utilizada mundialmente. Mais recentemente alguns estudos sobre polimixina B vêm sendo feitos, mas ainda de forma incipiente.

2.6.1 Estudos com a Colistina

Apesar de a colistina estar disponível para uso desde a década de 50, foi apenas a partir de 2001/2002, com o desenvolvimento dos métodos analíticos de cromatografia líquida de alta performance (*high-performance liquid chromatography* - HPLC) e de cromatografia líquida associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas (*liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry*-LC/MS/MS) para dosagem de colistina e do metanosulfonato de colistina, separadamente, que foi possível uma avaliação farmacocinética precisa do CMS e da colistina (64,104, 105). Anteriormente a esses trabalhos, os parâmetros de farmacocinética eram estudados de forma conjunta para esses dois compostos, por meio de ensaios microbiológicos, o que comprometia toda a sua análise (60). Cabe ressaltar que a farmacocinética e as informações de prescrição existentes nos produtos parenterais em uso corrente foram obtidas dessa forma (106).

2.6.1.1 Pré-Clínicos

Em 2003 e 2004, Li et al., utilizando modelo animal de ratos com administração intravenosa de colistina e de CMS, constataram várias diferenças na farmacocinética da colistina e do CMS (107, 108), conforme descrito a seguir.

Seguindo a administração intravenosa em *bolus* da colistina (sulfato, mg/kg), o *clearance* corporal total da colistina foi de $5,2 \pm 0,4 \text{ mL}/(\text{min kg})$, com um *clearance* renal de $0,010 \pm 0,008 \text{ mL}/(\text{min kg})$, valor esse muito inferior ao *clearance* pela filtração glomerular de $2,3 \text{ mL}/(\text{min kg})$, com apenas $0,18 \pm 0,14\%$ da dose total de colistina recuperada na urina nas 24h (107). Este resultado indicou haver uma grande reabsorção tubular renal de colistina e que seu *clearance* ocorria por via extrarrenal. Um estudo de perfusão renal em ratos corroborou o achado de extensa reabsorção tubular (109).

Após a administração endovenosa de CMS ocorreu conversão sistêmica à colistina apenas de uma pequena fração (em torno de 7%) (108). Foi identificado que o CL_R do CMS é alto, em torno de 60% da dose, superior à sua filtração glomerular. Considerando essa desproporção entre a taxa de filtração glomerular e o CL_R , foi concluído que existe secreção tubular renal de CMS na urina. Nas primeiras 24h de monitorização também foi visto que do total de CMS encontrado na urina, 50% aproximadamente, era como colistina. Considerando esses três fatores, baixa conversão sistêmica do CMS à colistina, alta reabsorção tubular da colistina e conversão do CMS à colistina em meio aquoso, incluindo a urina (66), a conclusão foi de que a alta recuperação de colistina na urina após a administração de CMS se deve, muito provavelmente, à sua conversão dentro das células tubulares renais a 37°C , dentro da bexiga e/ou à temperatura ambiente nos tubos de coleta (108). A meia-vida terminal da colistina formada foi aproximadamente duas vezes a do CMS administrado, sendo similar a $t_{1/2}$ da colistina administrada diretamente. Esses achados foram corroborados por um novo estudo publicado em 2010 por Marchand et al. (110).

Em 2006 Bergen et al. demonstraram que a formação da colistina *in vivo*, seguindo a administração de CMS, é um pré-requisito para que haja atividade antibacteriana, ou seja, o CMS é uma pró-droga inativa da colistina, como já mencionado (60).

Em 2008, Wallace et al. realizaram um estudo para avaliar a estabilidade do metanosulfonato de colistina em produtos farmacêuticos e soluções para administração em pacientes, tendo

demonstrado que a hidrólise do CMS é dependente da concentração e da temperatura de armazenamento (111).

Em 2010, Dudhani et al. publicaram dois trabalhos identificando, pela primeira vez, o índice farmacocinético/farmacodinâmico de atividade da colistina contra *P. aeruginosa* e *A. baumannii in vivo*. A *fAUC/MIC* foi o melhor índice PK/PD a prever a atividade da colistina contra essas duas bactérias. Foi utilizado modelo animal de infecção de músculo (coxa) e pulmões (112, 113). No mesmo ano, Bergen et al. publicaram o primeiro estudo com modelo *in vitro*, corroborando a *fAUC/MIC* como o melhor parâmetro PK/PD a prever a atividade da colistina contra *P. aeruginosa* (114).

2.6.1.2 Clínicos

Em 2003, Li et al. descreveram, pela primeira vez, os padrões de farmacocinética do CMS, medindo separadamente no plasma as concentrações da colistina e do CMS, por meio de dois métodos de HPLC (115). Foram avaliados 12 pacientes com fibrose cística. A meia-vida da colistina foi significativamente maior que a do CMS, variando de 139 a 385min e de 82 a 268min, respectivamente. Os dados encontrados nesse estudo não foram comparáveis a estudos prévios devido, basicamente, a diferenças nas metodologias e dosagem empregadas (116). O cálculo da concentração sérica máxima e mínima no estado de equilíbrio (C_{\max}^{ss} e C_{\min}^{ss}) do CMS, considerando o término da infusão e imediatamente antes da próxima dose, variou de 3,6 a 13,2mg/L e de 0,18 a 2,0mg/L, respectivamente (117). Nesse estudo foi chamada a atenção para a comparação das MICs com a concentração dos dois agentes no plasma após a administração de CMS, bem como revisão das doses em uso (necessárias doses mais altas que as encontradas no estudo).

Em 2005, Li et al. publicaram um estudo de farmacocinética do CMS e colistina em um paciente criticamente enfermo com pneumonia por *P. aeruginosa* multirresistente em hemodiálise contínua (118). Foram analisados através da HPLC os níveis séricos e do fluido dialisado 20 dias após o início do tratamento. As C_{\max} de CMS e colistina foram de 23,3mg/L e 1,84mg/L, respectivamente, e o percentual de recuperação da dose no dialisato foi de 20,3% como CMS e 6,88% como colistina. Foi discutido sobre a subdose recebida pelo paciente, considerando as MICs do CMS e da colistina contra os isolados de *P. aeruginosa*, devendo ser feito um ajuste mais moderado da dose para pacientes em hemodiálise contínua do que o preconizado nas informações do produto.

Em um estudo populacional de farmacocinética, conduzido por Garonzik et al. em 2011, com uma amostra de 108 pacientes, foi identificada pela primeira vez a importância da depuração da creatina (DCE) para a depuração total de CMS (primariamente renal) e para a depuração aparente da colistina (primariamente não renal) (119). À medida que a função renal diminui, aumenta a conversão de CMS em colistina; esse achado explica a diminuição observada da depuração aparente da colistina formada à medida que a depuração da creatinina diminui.

Muitos estudos de farmacocinética envolvendo a colistina vêm sendo levados a efeito nos últimos anos (65, 120-122). Segundo os dados encontrados nesses estudos, os pacientes ficam expostos a uma concentração plasmática subótima nos primeiros dois a três dias de tratamento, antes de atingir o estado de equilíbrio. Baseado nesses achados foi sugerida uma dose de ataque e uma revisão da estratégia de dose de colistina atualmente utilizada

Mohamed et al., em 2012, publicaram um estudo para avaliação da farmacocinética populacional, da ligação proteica e da curva de morte bacteriana com a administração de uma dose de ataque de CMS em 10 pacientes criticamente enfermos (122). Os resultados sugeriram que o tempo para morte bacteriana de 3 log com uma dose de ataque de 480mg fica reduzido à metade, comparativamente à dose de 240mg. Também foi identificado que o componente A da colistina, mas não a colistina B, tem uma ligação proteica concentração dependente não linear, ou seja, baixas concentrações de colistina tiveram uma f_u mais baixa e altas concentrações de colistina tiveram uma f_u mais alta. Assim, com uma dose inicial dobrada (de 240 para 480mg), a concentração de colistina livre é maior que o dobro, levando a uma erradicação bacteriana ainda mais efetiva. Não foram observados sinais de toxicidade, embora o número pequeno de pacientes possa ter limitado esse achado.

Também em 2012, Imberti et al. publicaram um estudo de farmacocinética da colistina no líquido após administração intraventricular de CMS em nove pacientes com infecção do sistema nervoso central por bactéria Gram-negativa pan-resistente (123). Foi administrado CMS na dose de 2,61 a 10,44mg/24h. Foi identificado que quando a dose do CMS era $\geq 5,22$ mg/24h, as medidas de concentração da colistina no líquido ficaram continuamente acima da MIC de 2 μ g/mL. A cura microbiológica ocorreu em oito/nove pacientes. Foi concluído que uma dose $\geq 5,22$ mg/24h foi adequada nos pacientes estudados.

2.6.2 Estudos com a Polimixina B

São estudos de início mais recente e em número ainda reduzido.

2.6.2.1 Pré-Clínicos

Não existem estudos experimentais com polimixina B. Em 2008 Cao et al. desenvolveram e validaram um ensaio de cromatografia líquida de alta performance de fase-reversa para mensuração da polimixina B no plasma humano (55).

2.6.2.2 Clínicos

Apesar do progresso significativo que têm ocorrido nos últimos anos em relação à otimização do uso de CMS/colistina, esses dados não podem ser extrapolados para a polimixina B, a qual não é administrada como uma pró-droga e, por consequência, apresenta uma farmacocinética menos complexa. A administração de uma dose de ataque de CMS, por exemplo, apenas garante que não sejam utilizadas doses subótimas nos dois primeiros dias de tratamento, uma vez que a transformação para sua forma ativa, colistina, dá-se lentamente; em relação à polimixina B, como já é administrada na sua forma ativa, uma dose de ataque já representaria uma maior exposição.

Como a polimixina B é muito menos utilizada que o CMS, existem poucos estudos de farmacocinética clínicos e com um pequeno número de pacientes.

Em 2004, Sarria et al. relataram o primeiro caso de um paciente tratado com polimixina B intravenosa durante hemodiálise contínua com monitorização dos níveis séricos e do fluido dialisado (124). O quadro era de uma sepse por *A. baumannii* e houve sucesso no tratamento com polimixina B. As concentrações séricas de polimixina variaram de 6,25 a 50mg/L e testes repetidos não a detectaram no fluido dialisado. O achado sugeriu que a polimixina B não era dialisável pela hemodiálise contínua, não havendo necessidade de doses suplementares como até então sugerido na hemodiálise intermitente ou na diálise peritoneal. A credibilidade desses dados, no entanto, ficou comprometida, uma vez que para a quantificação das amostras foi utilizado um ensaio microbiológico não especificado sem informação da acurácia, reprodutibilidade ou sensibilidade.

Kwa et al., em 2008, examinaram a disposição da polimixina B1 em nove pacientes adultos com infecção documentada por bacilo Gram- negativo sensível apenas à polimixina e aminoglicosídeos, não críticos e com função renal normal (125). As concentrações séricas de polimixina B1 foram obtidas através de cromatografia líquida com espectrometria de massa. O volume médio de distribuição e a $t_{1/2}$ de eliminação foram de 47,2L e 13,6h,

respectivamente, maiores do que previamente relatado em um estudo de revisão, citando estudos antigos que também utilizaram metodologia menos acurada (71).

Zavascki et al., em 2008, publicaram um estudo de farmacocinética da polimixina B intravenosa em pacientes críticos (126). Foram avaliados oito pacientes com função renal variada. A C_{max} variou de 2,38 a 13,9mg/L e apenas 0,04-0,86% da dose foi recuperada de forma não modificada na urina (de quatro pacientes nos quais foi possível fazer a coleta). Também foi observada uma alta ligação proteica, 78,5% a 92,4%, determinando que sua fração livre ficasse muito próxima ou até abaixo da concentração inibitória mínima de patógenos importantes (*P.aeruginosa*, *A.baumannii*). Os achados desse estudo indicaram que a polimixina B é eliminada predominantemente por via não renal e que seu *clearance* corporal total é relativamente insensível à função renal, dado esse que se assemelha à colistina em estudos pré-clínicos com ratos (106).

Kwa et al. apresentaram um relato de caso de um paciente de 50 anos com infecção de sítio cirúrgico e intra-abdominal por *A.baumannii* só sensível à polimixina e com perda de função renal (*clearance* de creatinina de 18mL/min). Foi feita uma infusão intravenosa inicial de 50mg de polimixina B seguida de 75mg a cada 24h (127). O paciente foi a óbito no quarto dia de tratamento. O pico antecipado de concentração e a concentração mínima foram menores que a concentração inibitória mínima (2µg/mL) durante todo intervalo de dose. A meia-vida de eliminação foi de 11,5h, semelhante às previamente observadas em pacientes com função renal normal (125, 126). Este trabalho acrescentou evidências quanto à eliminação não renal da polimixina B, sendo desnecessário, portanto, ajuste para a função renal.

2.7 Farmacodinâmica das Polimixinas

Estudos de farmacodinâmica das polimixinas vêm sendo publicados, novamente com ênfase na colistina, os quais têm possibilitado um melhor entendimento de sua ação sobre patógenos epidemiologicamente relevantes.

2.7.1 Estudos com a Colistina

Os trabalhos de farmacodinâmica da colistina envolvem estudos pré-clínicos estáticos e dinâmicos e estudos clínicos.

2.7.1.1 Pré-Clínicos

Estudos estáticos *in vitro* de tempo-morte (*time-kill studies* - TKS) mostraram rápida atividade bactericida, concentração-dependente contra *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *K. pneumoniae* multirresistentes (117, 128, 129). No entanto, houve recrescimento bacteriano mesmo após uma concentração de colistina maior que 64 X MIC. Foi considerado que, muito provavelmente, a emergência de crescimento deva-se à presença de subpopulações resistentes à colistina em um isolado sensível, baseado na MIC (heterorresistência à colistina). Os perfis de análise populacional têm revelado que uma pequena proporção de células resistentes à colistina existe no meio de isolados clínicos de *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *K. pneumoniae* e que, após a exposição à colistina, ocorre morte da população suscetível e amplificação da subpopulação resistente (128-130). Estes estudos sugerem que a monoterapia com polimixina pode levar à emergência de resistência e enfatizam a importância da investigação de terapia combinada. Estes estudos também demonstraram que a taxa e a extensão da eliminação bacteriana são inversamente proporcionais ao inóculo (130, 131).

Na figura 7 pode-se observar curvas de TKS do estudo de Owen et al. (128), mostrando a rápida atividade bactericida da colistina concentração-dependente contra isolados de *A. baumannii* multirresistente, seguida de rápido recrescimento bacteriano (em 3h) e importante recrescimento em 24h, mesmo com concentrações de colistina de 32 X MIC ou 64 X MIC.

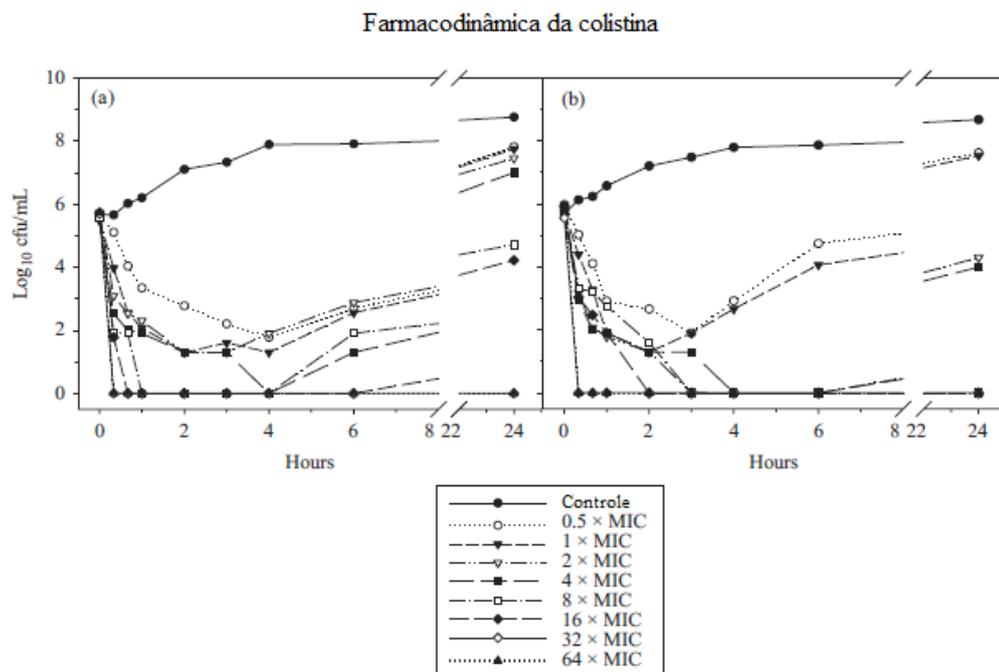


Figura 7- Curvas de TKS para a colistina contra 2 isolados, (a) isolado 8 e (b) isolado 10, de *A. baumannii* (128, adaptado)

Bergen et al., em 2010, utilizaram pela primeira vez um modelo *in vitro* para demonstrar que $fAUC/MIC$ é o índice de PK/PD que melhor prediz a atividade antibacteriana da colistina contra a *P. aeruginosa*, sendo superior a fC_{max}/MIC e $fT>MIC$ (114).

Existem poucos estudos dinâmicos *in vitro* de tempo-morte bacteriana das polimixinas contra germes Gram-negativos. Bergen et al., em 2008, realizaram um estudo com modelo de infecção *in vitro*, comparando o efeito antibacteriano contra duas cepas de *P. aeruginosa* e a emergência de resistência com três diferentes regimes de colistina, uma, duas e três vezes ao dia (C_{max} de 9,0, 4,5 e 3,0mg/L, respectivamente) mantendo a mesma dose total diária (132). Com todos os regimes ocorreu rápida morte bacteriana inicial seguida de recrescimento, conforme mostra a figura 8. Apesar de não ter ocorrido diferença no total de morte bacteriana, o regime de 8/8h pareceu mais efetivo no sentido de retardar o início de desenvolvimento de resistência. Em um segundo estudo de modelo de infecção *in vitro*, Tan et al., em 2007, realizaram um estudo semelhante ao recém-descrito, apenas utilizando duas cepas heterorresistentes à colistina de *A. baumannii* (133). Foi observado extensa morte bacteriana inicial seguida de recrescimento em 6h e vasta emergência de resistência independente do regime de colistina utilizado. Apesar dos desenhos destes trabalhos não terem sido feitos para elucidar o índice PK/PD que melhor se correlaciona com o efeito antibacteriano das polimixinas, o achado que a contagem bacteriana total ao longo do tempo não diferiu com os diferentes regimes empregados, sugere que o tempo médio de exposição à polimixina é o fator mais importante. Ou seja, a área livre sob a curva sobre a MIC é o índice que se relaciona melhor com a atividade antibacteriana (12).

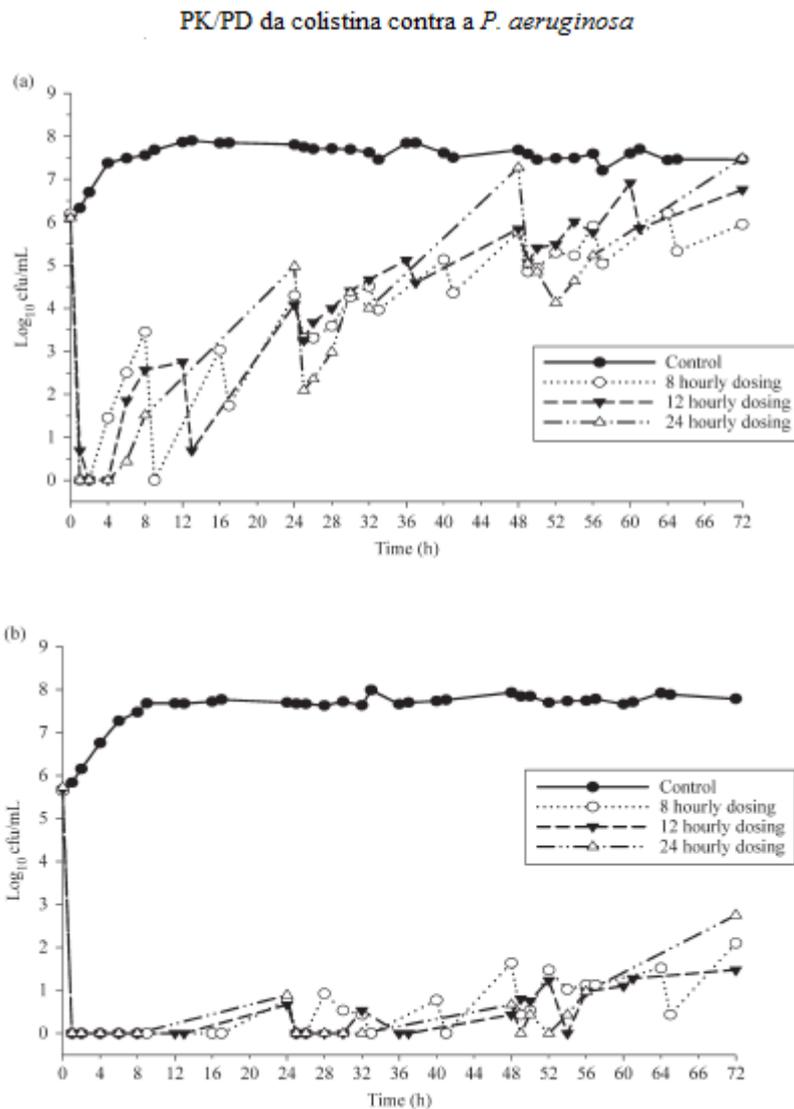


Figura 8 -Resposta microbiológica observada em um modelo PK/PD *in vitro* simulando a farmacocinética da colistina em 3 diferentes regimes de doses: 8/8h, 12/12h e 24/24h para (a) ATCC (*American Type Culture Collection*) 27853 e (b) isolado clínico 19056. Dados apresentados em valores de média. (132, modificado)

Nos trabalhos publicados por Dudhani et al. em 2010 (112, 113), como já citado, os valores encontrados da fração $fAUC/MIC$ foram similares nos dois modelos de infecção para redução de 1log de *P. aeruginosa* (15,6-22,8 para infecção na coxa e 12,2-16,7 para infecção no pulmão) e de 2log (27,6-36,1 para infecção na coxa e 36,9-45,9 para infecção no pulmão). Os valores correspondentes para *A. baumannii* 1log foram 1,57-6,52 e 1,89-7,41 e 2log 8,18-42,1 e 6,98-13,6, para infecção no pulmão e na coxa, respectivamente. Estes estudos de PK/PD definiram os valores da $fAUC/MIC$ para várias magnitudes de inóculo e indicaram a importância de atingir um tempo médio de exposição adequado à colistina (12). Em todos eles

a atividade bactericida parecia atingir o seu máximo quando o valor de $fAUC/MIC$ era de aproximadamente 20.

Mais recentemente, Wang et al. determinaram os índices de PK/PD para colistina que melhor se relacionavam com a atividade contra células planctônicas e de biofilme da *P. aeruginosa* em um modelo de infecção de biofilme pulmonar em um murino neutropênico (134, 135). Novamente, o índice de PK/PD que melhor se correlacionou com a morte bacteriana contra as células planctônicas foi $fAUC/MIC$; para as células do biofilme no pulmão, a razão da AUC em relação à concentração inibitória mínima do biofilme (MBIC), $AUC/MBIC$, foi o índice de PK/PD que melhor se correlacionou. Também foi visto que os valores da $fAUC/MIC$ de colistina necessários para as células planctônicas era muito menor que o necessário para as células do biofilme.

2.7.1.2 Clínicos

Não existem dados clínicos de farmacocinética/farmacodinâmica para embasar seu uso e guiar a seleção de um regime adequado de doses (12). Falagas et al. realizaram um estudo de coorte retrospectiva demonstrando que doses maiores de CMS foram independentemente associadas à menor mortalidade (51). Considerando que em estudos pré-clínicos a $fAUC/MIC$ corresponde ao índice que melhor representa a eficácia das polimixinas, tem sido enfatizada a importância de atingir um tempo médio de exposição às polimixinas para garantir a sua eficácia.

2.7.2 Estudos com a Polimixina B

Estudos farmacodinâmicos da polimixina B são raros e envolvem trabalhos pré-clínicos e clínicos.

2.7.2.1 Pré-clínicos

Existe apenas um estudo de farmacodinâmica da polimixina B o qual foi publicado por Tam et al., em 2005 (136), mostrando a ação antibacteriana concentração-dependente, de forma similar à colistina (117). Nesse estudo foram utilizadas quatro cepas de *P. aeruginosa*, sendo uma cepa ATCC 27583 e três de materiais clínicos resistentes a carbapenem. Os MICs para polimixina B foram de 0,5 para uma cepa e de 1mg/L para as demais. Em um TKS foram utilizadas sete concentrações “cl clinicamente atingíveis” de polimixina B que variaram de 0,25 a 16mg/L. A concentração bacteriana padrão foi de 10^5 UFC/mL, sendo também utilizado um inóculo de 10^7 UFC/mL, para simular o volume bacteriano em uma infecção grave e para

possibilitar a presença de subpopulações resistentes antes mesmo da exposição ao antibiótico. Foi observada uma diminuição rápida e significativa da carga bacteriana, bem como atividade bactericida concentração-dependente (concentrações crescentes de polimixina B causaram uma maior taxa de morte). Tais achados ocorreram de forma similar com os dois inóculos utilizados, porém com o maior a taxa de morte foi significativamente reduzida (efeito inóculo). O recrescimento bacteriano foi evidente após a redução inicial do volume bacteriano em todos os modelos. Nesse mesmo estudo foi realizado um experimento com modelo de infecção *in vitro* durante quatro dias com duas cepas de *P. aeruginosa* (padrão e multirresistente) utilizando polimixina B 2,5mg/kg/d (com três diferentes regimes, 8/8h, 12/12h e 24/24h) e 20mg/kg/dia (oito vezes a dose-padrão utilizada). Foi visto que apesar de ter ocorrido morte bacteriana rápida e substancial inicialmente, independente do regime utilizado, ocorreu recrescimento e emergência de resistência após 24h, em ambas as cepas utilizadas, embora com o regime de 8/8h tenha ocorrido retardamento da emergência de resistência (136). A ausência de diferença na morte bacteriana com a mesma dose total diária levou a considerar que o efeito antibacteriano da polimixina B aproximava-se mais da razão da área sob a curva de concentração no tempo sobre a MIC (AUC/MIC). Com a dose maior, de 20mg/kg/d, ocorreu supressão da carga bacteriana total, bem como das subpopulações resistentes por 96h para a cepa-padrão mas não para os isolados multirresistentes. Tais achados foram consistentes com trabalhos feitos com colistina (119, 132, 133).

2.7.2.2 Clínicos

Elias et al. realizaram uma coorte retrospectiva com inclusão de 276 pacientes em uso de polimixina B intravenosa, com o objetivo de identificar o impacto da dose na mortalidade hospitalar. Foram feitas análises em dois subgrupos: pacientes com infecções microbiologicamente confirmadas e pacientes com bacteremia. A mortalidade hospitalar encontrada foi de 60,5%, e o uso de doses de polimixina B ≥ 200 mg/dia foi fator protetor independente (aOR 0,43; 95% IC 0,23-0,79), incluindo os dois subgrupos analisados. Mesmo identificando que doses ≥ 200 mg/dia de polimixina B cursaram com piora da função renal, esse risco foi considerado secundário frente à possibilidade do aumento de chance de sobrevida do paciente. Este achado corrobora a importância da AUC/MIC para a obtenção de sucesso terapêutico (94).

3 JUSTIFICATIVA

Levando-se em conta o uso extensivo e crescente da polimixina B, principalmente em pacientes críticos, a escassez de estudos da sua farmacocinética e a impossibilidade de extrapolação direta dos resultados encontrados nas pesquisas feitas com a colistina, entendemos ser de grande relevância um estudo para avaliar os parâmetros farmacocinéticos da polimixina B em uma população de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva.

4 OBJETIVOS

4.1 *Objetivo principal*

Determinar o perfil farmacocinético da polimixina B intravenosa em uma população de pacientes críticos.

4.2 *Objetivos secundários*

- 4.2.1 Estabelecer a relação entre o *clearance* da polimixina B e o *clearance* da creatinina em uma população de pacientes sem terapia de substituição renal
- 4.2.2 Estabelecer a relação entre o *clearance* da polimixina B e o *clearance* da creatinina em uma população de pacientes com terapia de substituição renal
- 4.2.3 Identificar o regime de dose de polimixina B associado à $fAUC/MIC$ “ótima”.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE Jr, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad Bugs Need Drugs: An Update on the Development Pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006;42:657-68.
2. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009 Jan 1;48:1-12.
3. Boucher HW, Talbot GH, Benjamin Jr DK, Bradley J, Guidos RJ, Jones RN, et al. 10 × '20 Progress—Development of New Drugs Active Against Gram-Negative Bacilli: An Update From the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1685-94.
4. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK, Vartzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32:450-4.
5. Gales AC, Jones RN, Sader H. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2070–4.
6. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a New Metallo-β-Lactamase Gene, *bla*_{NDM-1}, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:5046–54.
7. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins Revisited. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21:449–65.
8. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:589-601.
9. Kvitko CH, Rigatto MH, Moro AL, Zavascki AP. Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment of pseudomonas aeruginosa bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66:175-9.

10. Rigatto MH, Ribeiro VB, Konzen D, Zavascki AP. Comparison of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*. *Infection*. 2013;41:321-8.
11. Paul M, Bishara J, Levcovich A, Chowders M, Goldberg E, Singer P, et al. Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:1019–27.
12. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, Zhao M, Lee HJ, Nation RL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74:213-23.
13. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:1206-15.
14. Amsden GW, Ballow CH, Bertino JS Jr, Kashuba ADM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-infective Agents. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice Of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 2010. p. 271-81.
15. Buxton ILO, Benet LZ. Farmacocinética: a dinâmica da absorção, distribuição, ação e eliminação dos fármacos. In Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC, editors. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman*. New York: McGraw-Hill, 2011; Porto Alegre: AMGH Editora Ltda; 2012. p. 17-40.
16. Wagner JG. History of Pharmacokinetics. *Pharmac Ther*. 1981;12:537-62.
17. Hill SA. Pharmacokinetics of drug infusions. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain*. 2004;4:76-80.
18. Birkett DJ. *Pharmacokinetics Made Easy*. 2nd ed. Sydney: McGraw-Hill Australia Pty Ltd; 2010.
19. Craig WA. Pharmacodynamics of Antimicrobials: General Concepts and Applications. In: Nightingale CH, Murakawa T, Ambrose PG, editors. *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. New York: Marcel Dekker; 2002. p. 1-22.

20. Wannmacher L. Processos Farmacocinéticos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, editores. *Farmacologia Clínica Fundamentos da Terapêutica Racional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. p. 83-97.
21. Lin JH, Lu AYH. Role of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery and Development. *Pharmacol Rev*. 1997;49:403-49.
22. Gabrielsson J, Green AR. Quantitative Pharmacology or Pharmacokinetic Pharmacodynamic Integration Should Be a Vital Component in Integrative Pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;331:767-74.
23. Fuchs FD. Farmacocinética Clínica. In: Fuchs FD, Wannmacher L, editores. *Farmacologia Clínica Fundamentos da Terapêutica Racional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. p. 98-103.
24. Gabrielsson J, Weiner D. Non-compartmental analysis. *Methods Mol Biol*. 2012;929:377-89.
25. Wang Z, Kim S, Quinney SK, Zhou J, Li L. Non-compartment model to compartment model pharmacokinetics transformation meta-analysis –a multivariate nonlinear mixed model. *BMC Systems Biology* 2010;4(Suppl 1):S8. Available from:
<http://www.biomedcentral.com/1752-0509/4/S1/S8>.
26. Blumenthal DK, Garrison JC. Farmacodinâmica: mecanismos de ação dos fármacos. In Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC, editors. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman*. New York: McGraw-Hill, 2011; Porto Alegre: AMGH Editora Ltda; 2012. p. 41-71.
27. Thadeu RC. Farmacodinâmica. In: Fuchs FD, Wannmacher L, editores. *Farmacologia Clínica Fundamentos da Terapêutica Racional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. p. 104-14.
28. Drusano GL. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antimicrobials. *Clin Infect Dis*. 2007;45:S89–95.

29. Bulitta JB, Landersdorfer CB, Forrest A, Brown SV, Neely MN, Tsuji BT et al. Relevance of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modeling to Clinical Care of Critically Ill Patients. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12:2044-61.
30. Ette EI, Williams PJ. Population pharmacokinetics I: background, concepts, and models. *Ann Pharmacother*. 2004;38:1702-6.
31. Tett SE, Holford NHG, McLachlan AJ. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: An Underutilized Resource. *Drug Information Journal*. 1998;32:693-710.
32. Bulitta JB, Bingolbali A, Shin BS, Landersdorfer CB. Development of a New Pre- and Post-processing Tool (SADAPT-TRAN) for Nonlinear Mixed-effects Modeling in S-ADAPT. *The AAPS Journal*. 2011;13:201-11.
33. Bulitta JB, Landersdorfer CB. Performance and Robustness of the Monte Carlo Importance Sampling Algorithm using Parallelized S-ADAPT for Basic and Complex Mechanistic Models. *AAPS J*. 2011;13:212-26.
34. Hammersley JM, Handscomb DC. Monte Carlo Methods. In Bartlett MS, editor. *Methuen's Monographs on Applied Probability and Statistics*. New York Halsted Press, a Division of John Wiley & Sons, Inc; 1964. p.1-9.
35. Drusano GL, Preston SL, Hardalo C, Hare R, Banfield C, Andes D, et al. Use of Preclinical Data for Selection of a Phase II/III Dose for Evernimicin and Identification of a Preclinical MIC Breakpoint. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:13-22.
36. Ambrose PG, Grasela DM. The use of Monte Carlo simulation to examine pharmacodynamic variance of drugs: fluoroquinolone pharmacodynamics against *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;38:151-7.
37. Roberts JA, Kirkpatrick CMJ, Lipman J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:227-31.
38. Mouton JW, Ambrose PG, Cantone R, Drusano GL, Harbarth S, MacGowan A, et al. Conserving antibiotics for the future: New ways to use old and new drugs from a pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective. *Drug Resistance Updates*. 2011;14:107-17.

39. Stansly PG, Shepherd RG, White HJ. Polymyxin: a new chemotherapeutic agent. *Johns Hopk Hosp Bull.* 1947;81:43-54.
40. Stansly PG, Schlosser ME, Ananenko NH, Cook MH. Studies on polymyxin: the production of fermentation liquor. *Journal of Bacteriology.* 1948;55:573-8.
41. Benedict RG, Langlykke AF. Antibiotic activity of *Bacillus polymyxa*. *J. Bacteriol* 1947;54:24-25.
42. Stansly PG, Schlosser ME. Studies on Polymyxin: Isolation and Identification of *Bacillus Polymyxa* and Differentiation of Polymyxin From Certain Known Antibiotics. *Journal of Bacteriology.* 1947;54:549-56.
43. Kucers A, Crowe S, Grayson ML, Hoy J, editors. *The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.* 5th ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1997.
44. Koyama Y, Kurosasa A, Tsuchiya A, Takakuta K. A new antibiotic "colistin" produced by spore-forming soil bacteria. *J Antibiot.* 1950;3:457-8.
45. Wilkinson S. Identity of colistin and polymyxin E. *Lancet.* 1963; i:922.
46. Suzuki T, Hayashi K, Fujikawa K, Tsukamoto K. The Chemical Structure of Polymyxin E: The Identities of Polymyxin E1 with Colistin A and of Polymyxin E2 with Colistin B. *The J of Biochemistry.* 1965;57:226-7.
47. Waksman SA. *Antibiotics and Chemotherapy.* California Medicine. 1953;5:417-23.
48. Long PH, Schoenbach EB, Bliss EA, Bryer MS, Chandler CA. *The Experimental and Clinical Use of Polymyxin, Chloromycetin, and Aureomycin.* California Medicine. 1949;70:157-66.
49. Olsen AM. *Aerosol Therapy in Bronchopulmonary Disease. A Critical Evaluation.* California Medicine. 1962;96:237-44.
50. Koch-Weser J, Sidel VW, Federman EB, Kanarek P, Finer DC, Eaton AE. Adverse effects of sodium colistimethate: manifestations and specific rates during 317 courses of therapy. *Ann Intern Med.* 1970;72:857-68.

51. Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, Matthaïou DK, Karageorgopoulos DE, et al. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;35:194-9.
52. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure-Activity Relationships of Polymyxin Antibiotics. *J Med Chem*. 2010; 53:1898-916.
53. Hancock RE, Chapple DS. Peptide Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:1317-23.
54. Vogler K, Studer RO. The Chemistry of the Polymyxin Antibiotics. *Experientia*. 1966; XXII:345-416.
55. Cao G, Ali FEA, Chiu F, Zavascki AP, Nation RL, Li J. Development and validation of a reversed-phase high-performance liquid chromatography assay for polymyxin B in human plasma. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:1009-14.
56. Orwa JA, Govaerts C, Busson R, Roets E, Van Schepdael A, Hoogmartens J. Isolation and structural characterization of colistin components. *The J Antibiot*. 2001;54:595-9.
57. Tam VH, Cao H, Ledesma KR, Hu M. *In Vitro* Potency of Various Polymyxin B Components. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:4490-1.
58. He H, Li JC, Nation RL, Jacob J, Chen G, Lee HJ, et al. Pharmacokinetics of four different brands of colistimethate and formed colistin in rats. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2311-7.
59. Tsubery H, Yaakov H, Cohen S, Giterman T, Matityahou A, Fridkin M, et al. Neopeptide antibiotics that function as opsonins and membrane-permeabilizing agent for Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:3122-8.
60. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:1953-8.
61. Beveridge EG, Martin AJ. Sodium sulphomethyl derivatives of Polymyxins. *Br J Pharmac Chemother*. 1967;29:125-35.

62. Barnett M, Bushby SRM, Wilkinson S. Sodium Sulphomethyl Derivatives Of Polymyxins 1964. *Brit J Pharmacol.* 1964;23:552-74.
63. Waterer GW, Wunderink RG. Increasing threat of Gram-negative bacteria. *Crit Care Med.* 2001;29:N75-81.
64. Orwa JA, Van Gerven A, Roets E, Hoogmartens J. Development and validation of a liquid chromatography method for analysis of colistin sulphate. *Chromatographia* 2000;51:33-6.
65. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I et al. Population Pharmacokinetic Analysis of Colistin Methanesulfonate and Colistin after Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Infections Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:3430-6.
66. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K. Stability of Colistin and Colistin Methanesulfonate in Aqueous Media and Plasma as Determined by High-Performance Liquid Chromatography. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:1364-70.
67. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Consistent Global Approach on Reporting of Colistin Doses to Promote Safe and Effective Use. *Clin Infect Dis.* 2013; Oct 29. PubMed PMID:24107410.
68. Newton BA. The properties and mode of action of the polymyxins. *Bacteriol Rev.* 1956;20:14-27.
69. Vaara, M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol. Rev.* 1992;56:395–411.
70. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates* 2010;13:132-8.
71. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother.* 1999;33:960-7.
72. Moskowitz SM, Ernst RK, Miller SI. PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol.* 2004;186:575–9.

73. Lee H, Hsu FF, Turk J, Groisman EA. The PmrA-regulated pmrC gene mediates phosphoethanolamine modification of lipid A and polymyxin resistance in *Salmonella enterica*. *J Bacteriol* 2004;186:4124–33.
74. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Albertí,S, Bengoechea JA. Capsule Polysaccharide Mediates Bacterial Resistance to Antimicrobial Peptides. *Infection and Immunity*. 2004;72:7107–14.
75. Moore RA, Chan L, Hancock REW. Evidence for Two Distinct Mechanisms of Resistance to Polymyxin B in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1984;26:539-45.
76. Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8:71-93.
77. McPhee JB, Bains M, Winsor G, Lewenza S, Kwasnicka A, Brazas MD, et al. Contribution of the PhoP-PhoQ and PmrA-PmrB Two-Component Regulatory Systems to Mg²⁺-Induced Gene Regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol*. 2006;188:3995–4006.
78. Skiada A, Markogiannakis A, Plachouras D, Daikos GL: Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37:187–93.
79. Macfarlane ELA, Kwasnicka A, Hancock REW. Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP-PhoQ in resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides. *Microbiology*. 2000;146:2543–54.
80. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, Lavender H, Murthy AR, Jacobs MR, et al. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:3628-34.
81. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:4971–7.

82. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to Colistin in Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2946–50.
83. Yau W, Owen RJ, Poudyal A, Bell JM, Turnidge JD, Yu HH, et al. Colistin heteroresistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect*. 2009;58:138-44.
84. Barin J, Martins AF, Heineck BL, Barth AL, Zavascki AP. Hetero- and adaptive resistance to polymyxin B in OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Annals Clin Microbiol Antimicrob*. 2013;12:15. Available from:<http://www.ann-clinmicrob.com/content/12/1/15>
85. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54,731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). *Clin Microbiol Infect*. 2006;12:315-21.
86. Arroyo LA, Garcia-Curiel A, Pachón-Ibañez ME, Llanos AC, Ruiz M, Pachón J, et al. Reliability of the E-Test Method for Detection of Colistin Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol*. 2005;43:903–5.
87. Galani L, Ioannidis K, Plakias G, Karaiskos I, Baziaka F, Paskalis C, et al. In the era of polymyxins use: Emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Poster 1. 1st International Conference on Polymyxins 2013, Prato/Italy.
88. Del Bono V, Saffioti C, Giacobbe DR, Parisini A, Taramasso L, Marchese A, et al. Outcome of bloodstream infections due to carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in Italy. Focus on the emergence of colistin-resistant strains. Poster O-2; 1st International Conference on Polymyxins 2013, Prato/Italy.
89. Falagas ME, Rizos M, Bliziotis IA, Rellos K, Kasiakou SK, Michalopoulos A. Toxicity after prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. *BMC Infectious Diseases*. 2005 Jan 10;5:1. PubMed PMID: 15642116.

90. Falagas ME, Kasiakou S. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical Care* 2006 Feb;10(1):R27. PubMed PMID: 16507149.
91. Hoste EAJ, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Critical Care*. 2006;10(3):R73.
92. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, Yee V, Zhao JJ, Chopra T, ET AL. Incidence of and Risk Factors for Colistin-Associated Nephrotoxicity in a Large Academic Health System. *Clin Infect Dis*. 2011;53:879-84.
93. Florescu DF, Qiu F, McCartan MA, Mindru C, Fey PD, Kalil AC. What Is the Efficacy and Safety of Colistin for the Treatment of Ventilator-Associated Pneumonia? A Systematic Review and Meta-Regression. *Clin Infect Dis* 2012;54:670-9.
94. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 2010. 65:2231-7.
95. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1607-15.
96. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:1119–25.
97. Li J, Nation RL, Milneb RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25:11–25.
98. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, Michalopoulos A. The Use of Intravenous and Aerosolized Polymyxins for the Treatment of Infections in Critically Ill Patients: A Review of the Recent Literature. *Clinical Medicine & Research*. 2006;4:138-46.

99. Bargiacchi O, Rossati A, Car P, Brustia D, Rosa F, Garavelli PL, et al. Intrathecal colistin for drug-resistant Gram-negative central nervous system infections. Poster O-6. 1st International Conference on Polymyxins 2013, Prato/Italy.
100. Karaikos I, Galani L, Baziaka F, Katsouda E, Ioannidis I, Andreou A, et al. Successful treatment of extensively drug-resistant *A. baumannii* ventriculitis and meningitis with intraventricular colistin after application of a loading dose: a case series. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41:480-3.
101. Vicari G, Bauer SR, Neuner EA, Lam SW. Association between colistin dose and microbiologic outcomes in patients with multidrug-resistant gram-negative bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2013;56:398-404.
102. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*. 2013;11:1333–53. Ahead of print.
103. Key features of the polymyxins. 1st International Conference on Polymyxins, Prato/Italy, 1st Sess. (May 2-4,2013).
104. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Johnson DW. A simple method for the assay of colistin in human plasma, using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate in solid-phase extraction cartridges and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001;761:167-75.
105. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Valentine J. Simple Method for Assaying Colistin Methanesulfonate in Plasma and Urine Using High-Performance Liquid Chromatography. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:3304-7.
106. Bergen PJ, Li J, Nation RL. Dosing of colistin-back to basic PK/PD. *Curr Opin Pharmac*. 2011;11:464-9.
107. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Use of high-performance liquid chromatography to study the pharmacokinetics of colistin sulfate in rats following intravenous administration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:1766–70.

108. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulfonate. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:837-40.
109. Ma Z, Wang J, Nation RL, Li J, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Renal Disposition of Colistin in the Isolated Perfused Rat Kidney. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2857-64.
110. Marchand S, Lamarche I, Gobin P, Couet W. Dose-ranging pharmacokinetics of colistin methanesulphonate (CMS) and colistin in rats following single intravenous CMS doses. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:1753-8.
111. Wallace SJ, Li J, Craig RR, Coulthard K, Nation R. Stability of Colistin Methanesulfonate in Pharmaceutical Products and Solutions for Administration to Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3047-51.
112. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, et al. Elucidation of the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Determinant of Colistin Activity against *Pseudomonas aeruginosa* in Murine Thigh and Lung Infection Models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:1117-24.
113. Dudhani RV, Turnidge JD, Nation RL, Li J. $fAUC/MIC$ is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1984-90.
114. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, Tsuji BT, Li J, Nation RL. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Investigation of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa* Using an *In Vitro* Model. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3783-9.
115. Li J, Coulthard K, Milne RW, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulfonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:987-92.
116. Reed MD, Stern RC, O'Riordan MA, Blumer JL. The pharmacokinetics of colistin in patients with cystic fibrosis. *J Clin Pharmacol.* 2001;41:645-54.

117. Li J, Turnidge J, Milne R, Nation R, Coulthard K. In Vitro Pharmacodynamic Properties of Colistin and Colistin Methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:781–5.
118. Li J, Rayner CR, Nation RL. Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in a Critically Ill Patient Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:4814-5.
119. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V; Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3284-94.
120. Imberti R, Cusato M, Villani P, Carnevale L, Iotti GA, Langer M, et al. Steady-State Pharmacokinetics and BAL Concentration of Colistin in Critically Ill Patients After IV Colistin Methanesulfonate Administration. *Chest*. 2010;138:1333-9.
121. Markou N, Markantonis S, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S et al. Colistin Serum Concentrations After Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Serious Multidrug-Resistant, Gram-Negative Bacilli Infections: A prospective, Open-Label, Uncontrolled Study. *Clinical Therapeutics*. 2008;30:143-50.
122. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B et al. Application of a Loading Dose of Colistin Methanesulfonate in Critically Ill Patients: Population Pharmacokinetics, Protein Binding, and Prediction of Bacterial Kill. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4241-9.
123. Imberti R, Cusato M, Accetta G, Marinò V, Procaccio F, Del Gaudio A, et al. Pharmacokinetics of Colistin in Cerebrospinal Fluid after Intraventricular Administration of Colistin Methanesulfonate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4416-21.
124. Sarria JC, Angulo-Pernett F, Kimbrough RC, McVay CS, Vidal AM. Use of Intravenous Polymyxin B During Continuous Venovenous Hemodialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:340-1.

125. Kwa ALH, Lim TP, Low JGH, Hou JG, Kurup A, Prince RA et al. Pharmacokinetics of polymyxin B1 in patients with multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;60:163-7.
126. Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G, Superti SV, Lutz L, Barth AL et al. Pharmacokinetics of Intravenous Polymyxin B in Critically Ill Patients. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1298-304.
127. Kwa ALH, Abdelraouf K, Low JGH, Tam VH. Pharmacokinetics of Polymyxin B in a Patient With Renal Insufficiency: A Case Report. *Clin Infect Dis*. 2011;52:1280-1.
128. Owen RJ, Li J, Nation RL, Spelman D. In vitro pharmacodynamics of colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:473-7.
129. Poudyal A, Howden BP, Bell JM, Gao W, Owen RJ, Turnidge JD et al. In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:1311-8.
130. Bergen PJ, Forrest A, Bulitta JB, Tsuji BT, Sidjabat HE, Paterson DL, et al. Clinically Relevant Plasma Concentrations of Colistin in Combination with Imipenem Enhance Pharmacodynamic Activity against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Multiple Inocula. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:5134-42.
131. Bulitta JB, Yang JC, Yohann L, Ly NS, Brown SV, D'Hondt RE, et al, Attenuation of Colistin Bactericidal Activity by High Inoculum of *Pseudomonas aeruginosa* Characterized by a New Mechanism-Based Population Pharmacodynamic Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:2051-62.
132. Bergen PJ, Li J, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Comparison of once-twice- and thrice-daily dosing of colistin on antibacterial effect and emergence of resistance: studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:632-42.
133. Tan CH, Li J, Nation RL. Activity Of Colistin Against Heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and Emergence of Resistance in an in vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:3413-5.

134. Wang H, Wu H, Ciofu O, Song Z, Høiby N. Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin and Imipenem on Muroid and Nonmuroid *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:4469–74.
135. Wang H, Wu H, Ciofu O, Song Z, Høiby N. *In Vivo* Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin and Imipenem in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2683-90.
136. Tam VH, Schilling AN, Vo G, Kabbara S, Kwa AL, Wiederhold NP, et al. Pharmacodynamics of Polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3624-30.

6 PRIMEIRO ARTIGO

Formatado conforme normas do *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*

Pharmacokinetics of polymyxin B in patients on continuous venovenous haemodialysis

Ana M. Sandri¹, Cornelia B. Landersdorfer^{2,3}, Jovan Jacob⁴, Márcio M. Boniatti⁵, Micheline G. Dalarosa⁶, Diego R. Falci⁶, Tainá F. Behle⁷, David Saitovitch⁸, Jiping Wang⁴, Alan Forrest³, Roger L. Nation⁴, Alexandre P. Zavascki^{7*†} and Jian Li^{4†}

¹ *Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;* ² *Centre for Medicine Use and Safety, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia;* ³ *School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University at Buffalo, SUNY, Buffalo, NY, USA;* ⁴ *Drug Delivery, Disposition and Dynamics, Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia;* ⁵ *Intensive Care Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;* ⁶ *Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil;* ⁷ *Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St., Porto Alegre, 90.035-903, Brazil;* ⁸ *Nephrology Unit, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.*

Corresponding author: Tel/Fax: +55 (51) 33598152, E-mail: azavascki@hcpa.ufrgs.br

†Joint senior authors contributed equally to this study.

Abstract

Objectives. To evaluate the pharmacokinetics (PK) of polymyxin B in patients on continuous venovenous haemodialysis (CVVHD) after intravenous administration of unadjusted dosage regimens.

Patients and methods. Two critically-ill patients had eight blood samples collected during a 12-h interval on days 8 and 10 of polymyxin B therapy. Dialysate was collected every hour during the 12h dosing interval. Polymyxin B binding in plasma was determined by rapid equilibrium dialysis. Concentrations of polymyxin B in plasma and dialysate samples were quantified using a validated ultra-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry assay.

Results. Respective maximum plasma concentrations in patients 1 and 2 were 8.62 and 4.38 mg/L; total body clearances (scaled linearly by body weight) were 0.043 and 0.027 L/h/kg, respectively, of which 12.2% and 5.62% were dialysis clearance, respectively. The corresponding volumes of distribution of polymyxin B at steady state were 0.50 and 0.34 L/kg, respectively, and protein binding in pooled plasma samples was 74.1% and 48.8%, respectively.

Conclusions. Our findings indicate the recommended polymyxin B doses should not be reduced for patients on CVVHD.

Keywords: continuous renal replacement therapy, plasma protein binding, colistin, creatinine clearance, renal insufficiency

Introduction

Over the last decade, ‘old’ polymyxin B and polymyxin E (colistin) have been increasingly used worldwide due to the prevalence of polymyxin-only-susceptible multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacilli.^{1,2} Most modern pharmacokinetic knowledge on polymyxins is from colistin. Although colistin pharmacokinetics in patients on different types of haemodialysis has been examined,³⁻⁶ colistin pharmacokinetics cannot be directly extrapolated to polymyxin B because colistin is administered as its inactive prodrug colistin methanesulfonate (CMS) resulting in a complex pharmacokinetic interplay between CMS and the formed antibacterial entity colistin.⁵ There is still a dearth of information on polymyxin B pharmacokinetics, which has substantially limited optimization of its dosage regimens in patients, in particular those on renal replacement therapy.²

In the product information there is no information on whether polymyxin B dosage regimens should be adjusted in patients on renal replacement therapy.⁷ Since polymyxin B is predominantly non-renally cleared,⁸ dosage adjustment in patients with renal replacement therapy may not be warranted. On the contrary, such patients may even need higher doses if the contribution of extracorporeal clearance to total body clearance is large. Here we report the pharmacokinetics of polymyxin B in two patients on continuous venovenous haemodialysis (CVVHD) receiving unadjusted dosage regimens which are recommended by the product information for patients with normal renal function.

Patients and Methods

Patients

The study was approved by the Ethical Committees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil. Informed consent was obtained from legal representatives of the patients.

Patient 1 was a 20-30-year-old woman (body weight 50.8 kg; body mass index [BMI] 21.1) with an APACHE II score of 25. She was under mechanical ventilation and received intermittent 1 h intravenous infusions of 75 mg of polymyxin B (Eurofarma[®]) twice daily (3.0 mg/kg/day; 1 mg = 10 000 U), as empiric antimicrobial therapy in a febrile neutropenia episode. She was also receiving intravenous meropenem. Renal dysfunction developed during sepsis prior to polymyxin B treatment. Two days after commencing polymyxin B, CVVHD was initiated with an extracorporeal circuit containing a B Braun - Diacap[®] α Polysulfone *HI PS 18* haemofilter. The dialysate and blood flows were 1.8 L/h and 150 mL/min, respectively. Polymyxin B therapy continued for 14 days.

Patient 2 was a 60-70-year-old man with septic shock. His body weight was 250 kg (BMI 77.2) and the APACHE II score was 21. As a consequence of septic shock, he developed acute renal failure and CVVHD was initiated. Two days later, haemodialysis was modified to intermittent. During this dialysis regime, a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (polymyxin B MIC 0.5 mg/L) was detected in a blood culture on day 14 after hospital admission. He was under mechanical ventilation and the primary source of the infection was possibly a ventilator-associated pneumonia. On day 18 intravenous polymyxin B (Eurofarma[®], as intermittent 4 h infusions of 250 mg twice daily [2.0 mg/kg/day]) was initiated with co-administration of intravenous ceftazidime.

CVVHD was re-commenced on day 8 of polymyxin B therapy and performed with a Braun - Diacap[®] α Polysulfone *HI PS 18* haemofilter, and dialysate and blood flows were 2.0 L/h and 150 mL/min, respectively. The dose of polymyxin B was not changed during the 15 day treatment.

Sample collection

On day 8 (i.e. day 6 of CVVHD; patient 1) and day 10 (i.e. day 2 of CVVHD; patient 2) of polymyxin B therapy, eight blood samples (3 mL each) were collected immediately before starting a polymyxin B infusion, 5 min, and 0.5, 1, 2, 4 and 8 h after completing the polymyxin B infusion, and immediately before commencing the next dose. Blood samples were centrifuged and the resultant plasma immediately stored at -80°C. Dialysate (5 mL) was collected every hour during the 12 h dosing interval and immediately stored at -80°C.

Determination of polymyxin B concentrations and plasma protein binding

Polymyxin B concentrations in plasma and dialysate samples were quantified using a validated ultra-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) assay. The accuracy and reproducibility (coefficient of variation) of the method were within 99.9% and 8.42%, respectively, and the limit of quantification was 0.050 mg/L. Polymyxin B binding in plasma was determined by rapid equilibrium dialysis in Teflon[®] equilibrium dialyzer cells (DIANORM[®] Macro 1S). Polymyxin B concentrations in the plasma (C_P) and buffer (C_B) reservoirs were determined (see above) and plasma protein binding was calculated as $(1 - C_B/C_P) \times 100\%$.

Pharmacokinetic analysis

Non-compartmental pharmacokinetic analysis was conducted using WinNonlin™ Pro (version 5.3). Recovery of polymyxin B in dialysate was calculated as the amount of unchanged drug recovered across the dosing interval divided by the dose.

Results

Concentrations of polymyxin B in plasma and dialysate are shown in Figure 1. The maximum plasma concentrations were 8.62 and 4.38 mg/L in patients 1 and 2, respectively, and the corresponding total body clearances (including CVVHD clearances) were 2.17 and 6.66 L/h (0.043 and 0.027 L/h/kg, scaled linearly by body weight). In the CVVHD dialysate, 12.2% and 5.62% of the dose was recovered as unchanged polymyxin B during the 12 h dosing interval and the CVVHD clearances were 0.264 and 0.374 L/h (0.0052 and 0.0015 L/h/kg) in patients 1 and 2, respectively. The corresponding volumes of distribution of polymyxin B at steady state were 0.50 and 0.34 L/kg. The half-life of polymyxin B is not reported here, as the period of sample collection (i.e. 12 h) did not allow reliable estimation of the terminal half-life. Protein binding in pooled plasma samples was 74.1% (at 3.03 mg/L at the end of equilibrium dialysis) in patient 1 and 48.8% (at 2.09 mg/L) in patient 2.

Discussion

Polymyxin B has been increasingly used, particularly in critically ill patients, as a last resort for MDR Gram-negative bacilli. Renal replacement therapies are commonly required in the critically ill. Dosage adjustments of polymyxin B for such therapies have been empirically performed so far. There is only one case report on polymyxin B

pharmacokinetics in a patient receiving CVVHD, in which a non-specific microbiological assay was used to quantify polymyxin B in samples.⁹ In that study, serum concentrations of polymyxin B were reported to range from 6.25 to 50 mg/L and no polymyxin B was detected in the dialysate.⁹ There was no information on the accuracy, reproducibility or sensitivity of the microbiological assay employed.⁹ Nevertheless, a C_{\max} of 50 mg/L in plasma has never been observed in recent clinical pharmacokinetic studies or our current study using specific liquid chromatography assays.^{8, 10, 11} To the best of our knowledge, we are the first to reveal the pharmacokinetics of polymyxin B in patients on CVVHD using a specific, accurate and precise LC-MS/MS assay.

The observed difference between patients in total body clearance (expressed in L/h) is due to body weight in the highly obese patient 2; after linear scaling by body weight, the total body clearances were similar (0.043 L/h/kg for patient 1 versus 0.027 L/h/kg for patient 2). In patients not receiving renal replacement, polymyxin B total body clearance appears insensitive to renal function, as less than 1% of a dose is excreted as unchanged drug in urine.⁸ Interestingly, in the two patients in the present report, CVVHD clearances represented 12.2% and 5.62% of the respective total body clearances, but were still a minor part of the total clearance. The explanation for the greater contribution of extracorporeal elimination to total body clearance lies in the respective mechanisms involved in processing polymyxins in kidneys (glomerular filtration followed by extensive carrier-mediated tubular reabsorption)⁸ versus a CVVHD cartridge (diffusional and/or convective movement of polymyxin from blood to dialysate without a carrier-mediated mechanism to return the polymyxin from dialysate to blood). Although data on dosage adjustment for renal dysfunction or renal replacement therapy are lacking in the polymyxin B package insert, adjustments have been suggested for anuric patients.¹² Our study demonstrated that in patients on CVVHD receiving the currently recommended

dosage regimen for patients with ‘normal’ renal function (2.0 - 3.0 mg/kg/day), the area under the plasma concentration versus time curve (i.e. the time-averaged exposure) across a day (69.2 and 75.1 mg·h/L for patients 1 and 2, respectively) was very similar to the median of 73.0 (range 41.2 – 123.4) mg·h/L in five patients with creatinine clearances of 34 – 246 mL/min who received 2.0 – 2.5 mg/kg/day.⁸ It should be noted that the dosage regimen of polymyxin B for the obese patient was calculated based upon the actual body weight. Considering the plasma protein binding in patient 2 (48.8%), the MIC for the infecting organism (0.5 mg/L) and current knowledge of pharmacokinetics/pharmacodynamics of polymyxins,¹³ the average unbound plasma exposure of polymyxin B in this patient was most likely adequate. However, this conclusion requires re-evaluation for pathogens with higher MICs.

In summary, our findings suggest that in general polymyxin B doses should not be reduced for patients on CVVHD and large prospective clinical studies are urgently needed to optimize this last-line therapy.

Funding

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil (474740/2008-0). A. P. Z. is a research fellow from CNPq (305263/2011-0). J. L. is an Australian National Health and Medical Research Council (NHMRC) Senior Research Fellow.

Transparency declarations

None to declare.

References

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 589-601.
2. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J et al. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 1206-15.
3. Li J, Rayner CR, Nation RL et al. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4814-5.
4. Marchand S, Frat JP, Petitpas F et al. Removal of colistin during intermittent haemodialysis in two critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 1836-7.
5. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically-ill patients from a multi-center study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3284-94.
6. Markou N, Fousteri M, Markantonis SL et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 2459-62
7. Bedford Laboratories. Polymyxin B for injection. Package insert. Bedford Laboratories, Bedford, OH, USA. Available at: http://www.bedfordlabs.com/our_products/online_catalog/products/polymyxin_B.html . (14 August 2012, date last accessed)
8. Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G et al. Pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically-ill patients. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1298-1304.
9. Sarria JC, Angulo-Pernett F, Kimbrough RC et al. Use of intravenous polymyxin B during continuous venovenous hemodialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 340-1.

10. Kwa AL, Lim TP, Low JG *et al.* Pharmacokinetics of polymyxin B1 in patients with multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 163-7.
11. Kwa AL, Abdelraouf K, Low JG *et al.* Pharmacokinetics of polymyxin B in a patient with renal insufficiency: a case report. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1280-1.
12. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother* 1999; 33: 960-7.
13. Dudhani RV, Turnidge JD, Nation RL *et al.* fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:1984-1990.

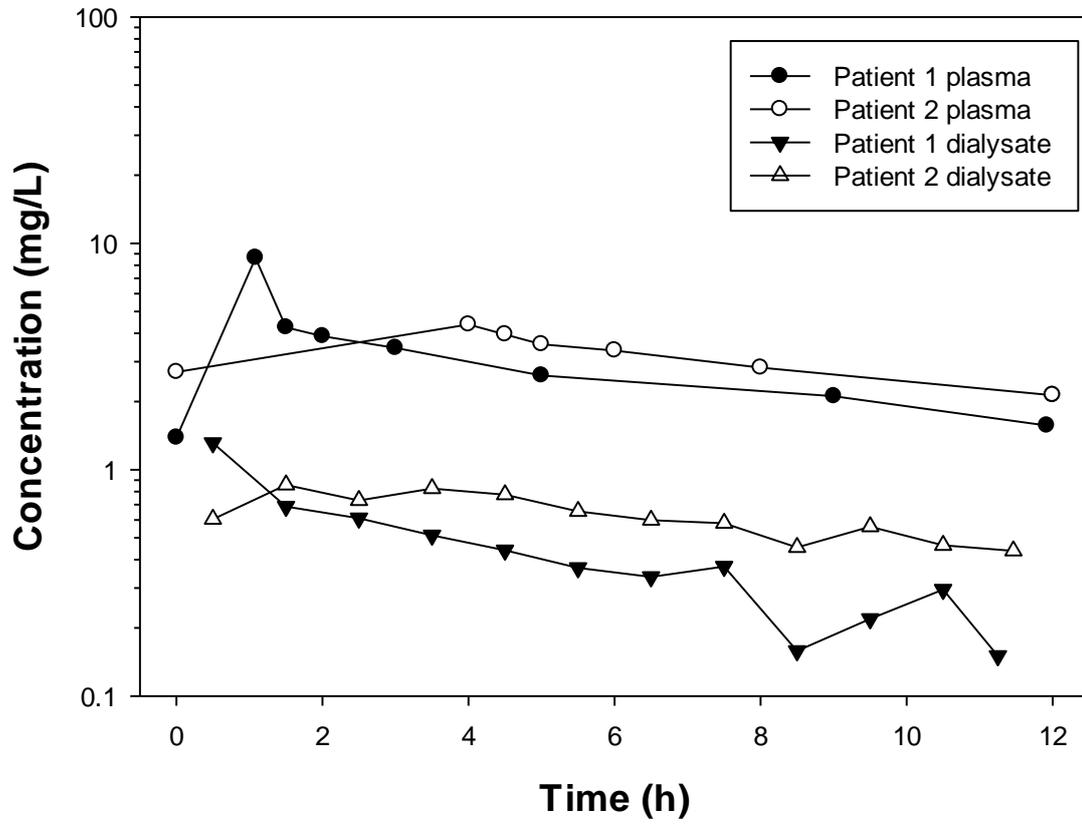


Figure 1. Concentrations of polymyxin B in plasma and dialysate over 12 h in the two patients receiving CVVHD.

SEGUNDO ARTIGO

Formatado conforme normas do *Clinical Infectious Diseases*

Population Pharmacokinetics of Intravenous Polymyxin B in Critically Ill Patients: Implications for Selection of Dosage Regimens

Ana M. Sandri,^{1,#} Cornelia B. Landersdorfer,^{2,3,#} Jovan Jacob,⁴ Márcio M. Boniatti,⁵ Micheline G. Dalarosa,⁶ Diego R. Falci,⁶ Tainá F. Behle,⁷ Rosaura C. Bordinhão,⁶ Jiping Wang,⁴ Alan Forrest,³ Roger L. Nation,⁴ Jian Li,^{4,*}† Alexandre P. Zavascki^{7,†}

¹Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ²Centre for Medicine Use and Safety, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia; ³School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia; ⁴Drug Delivery, Disposition and Dynamics, Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia; ⁵Intensive Care Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; ⁶Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil; ⁷Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St., Porto Alegre, 90.035-903, Brazil.

Both authors contributed equally to this study.

† Joint senior authors contributed equally to this study.

* Corresponding author: Jian Li. Drug Delivery, Disposition and Dynamics, Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville, Victoria, Australia. Phone: +61 3 9903 9702. Fax: +61 3 9903 9583. E-mail: Jian.Li@monash.edu.

Background: Polymyxin B is a last-line therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. There is a dearth of pharmacokinetic data to guide dosing in critically-ill patients.

Methods: Twenty four critically-ill patients were enrolled and blood/urine samples were collected over a dosing interval at steady state. Polymyxin B concentrations were measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Population pharmacokinetic analysis and Monte Carlo simulations were conducted.

Results: Twenty-four patients aged 21-87 years received intravenous polymyxin B (0.45-3.38 mg/kg/day). Two patients were on continuous hemodialysis, and creatinine clearance in the other patients was 10-143 mL/min. Even with very diverse demographics, the total body clearance of polymyxin B when scaled by total body weight (population mean, 0.0276 L/h/kg) showed remarkably low inter-individual variability (32.4% coefficient of variation). Polymyxin B was predominantly non-renally cleared with median urinary recovery of 4.04%. Polymyxin B total body clearance did not show any relationship with creatinine clearance ($r^2=0.008$), APACHE II score or age. Median unbound fraction in plasma was 0.42. Monte Carlo simulations revealed the importance of initiating therapeutic regimens with a loading dose.

Conclusions: Our study showed that doses of intravenous polymyxin B are best scaled by total body weight. Importantly, dosage selection of this drug should not be based upon renal function.

Keywords: Polymyxins, pharmacokinetics, dose selection, plasma protein binding, urinary recovery.

The burgeoning multidrug-resistance among Gram-negative bacteria combined with a paucity of new antibiotics has led to the re-emergence of polymyxins [1,2]. There are two polymyxins used clinically, polymyxin B and colistin (i.e. polymyxin E) [1,2]. Both antibiotics were first used clinically in the late 1950s but largely abandoned in the 1970s due to toxicity; however, they were re-introduced to the therapeutic arsenal in the last decade due to resistance to all other antibiotics [1-4].

Pharmacokinetics (PK)/ pharmacodynamics (PD) of antibiotics is critical for optimizing their dosage regimens to maximize efficacy and minimize toxicity and resistance. Almost all modern PK studies on polymyxins are for colistin that is administered parenterally as its inactive prodrug, colistin methanesulfonate (CMS) [5]. In contrast, polymyxin B is available for direct parenteral administration, that is, as the antibacterial entity [2]. Recent PK studies have highlighted that the conversion of CMS to colistin occurs very slowly and incompletely *in vivo* [6,7]. Therefore, current PK findings for CMS/colistin cannot be extrapolated to polymyxin B.

There are no scientifically based dosing guidelines for polymyxin B due to the lack of solid PK information. Reports on the PK of polymyxin B in humans have been limited to a small number of studies with 20 patients in total [8-11]. Even though a population PK study was reported in 9 adult patients [9], only 2 serum samples were collected from each patient and, unfortunately, only polymyxin B₁ was measured, an approach leading to the potential for bias in defining polymyxin B PK. Furthermore, no urine samples were collected in that study and, therefore, urinary recovery and renal clearance of polymyxin B could not be obtained [9]. Importantly, the applicability of that study [9] to critically ill patients is limited. Hence, there is an urgent need to investigate the PK of polymyxin B in critically-ill patients and to optimize its clinical use. In this study we developed a population PK model for polymyxin B after intravenous administration in 24 patients with various degrees of renal function. Our aim

was to identify patient factors influencing the PK and thereby allow proposing of dosage regimens to achieve a desired target plasma polymyxin B concentration. The study also provides important new information on the renal handling of polymyxin B that assists in understanding the potential for this antibiotic to cause nephrotoxicity.

PATIENTS AND METHODS

Patients and Ethics

The study was approved by the Ethical Committees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Brazil, and Monash University, Australia. Informed consent was obtained from all patients or their legal representatives. The decision to administer polymyxin B and its dosing regimen was made by the attending physician. From March 2011 to January 2012, 24 patients (aged ≥ 18 years) who received intravenous polymyxin B were included; the non-compartmental PK data of 2 patients on continuous venovenous hemodialysis (CVVHD) have been reported [11].

Polymyxin B Administration and Sample Collection

Blood samples were collected after ≥ 48 hours of treatment with polymyxin B (sulfate; Polymyxin B for Injection, Eurofarma, Brazil). Collection of urine samples was possible for 17 of the patients. Polymyxin B was administered by short-term infusions (60-240 min) 12 hours (23 patients) or every 24 hours (1 patient). In each patient, 8 blood samples (3 mL each) were collected immediately before starting the infusion, 5 minutes, and 0.5, 1, 2, 4 and 8 h after completing the infusion and immediately before the next infusion. Blood samples were centrifuged for 10 min (4000 g), and the plasma samples were immediately stored at -80°C

until analysis. Urine was collected across the dosage interval (0-6 hours and 6-12 hours for 12-hourly dosing; 0-6 hours, 6-12 hours and 12-24 hours for 24-hourly dosing) and the volumes were recorded; 5 mL of each collection were stored at -80°C pending analysis.

Binding of Polymyxin B in Plasma

Plasma protein binding of polymyxin B was determined by rapid equilibrium dialysis [11]. For each patient, 3 plasma samples were pooled (pH adjusted to 7.4) and 1 mL was dialyzed against an equal volume of isotonic phosphate-buffered saline (pH 7.4) at 37°C for 4 h. Polymyxin B concentrations were determined (described below) and unbound fraction in plasma (f_u) was calculated as the ratio of the concentration in buffer to that in plasma.

Quantification of Polymyxin B Concentrations

Polymyxin B (base) concentrations in samples were quantified by monitoring both polymyxin B₁ and B₂ using a validated ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) assay [11]. Analysis of independently prepared quality control samples indicated good reproducibility (coefficients of variation $\leq 8.39\%$) and accuracy (measured concentrations $\leq 10.0\%$ from target concentrations). The limit of quantification was 0.05 mg/L.

Pharmacokinetic Analysis

Nonlinear mixed-effects modeling of polymyxin B population PK was performed utilizing S-ADAPT platform (version 1.57) with the Monte Carlo parametric expectation maximization algorithm [12]. The SADAPT-TRAN was used for pre- and postprocessing [13,14]. One-, 2- and 3-compartment models were explored for the polymyxin B plasma concentration-time profiles with linear or nonlinear (saturable) elimination. These models were fit to the data for all patients simultaneously. The inter-individual variability was assumed to be log-normally distributed. Candidate covariates that were explored for their possible effect on polymyxin B

disposition included the following: body size (total body weight [TBW] and lean body weight [LBW]), sex, age, creatinine clearance (CrCL), serum albumin concentration, and APACHE II score on total body clearance (CL) of polymyxin B; and body size (TBW and LBW) on volume of distribution. CrCL was calculated using the Cockcroft-Gault equation with LBW [15]. For model evaluation, plots of observed *versus* individual and observed *versus* population-fitted polymyxin B concentrations, the normalized prediction distribution error, and the objective function in S-ADAPT were utilized. Polymyxin B renal clearance (CL_R) was calculated as the amount recovered in urine during the urine collection period divided by the area under the plasma concentration-time curve (AUC) across the same period. Because only unbound drug in plasma is filtered at the glomeruli, the clearance of polymyxin B by glomerular filtration (CL_{GF}) was estimated as $f_u \times GFR$ (where GFR is glomerular filtration rate from CrCL) [16]. The percentage of polymyxin B reabsorbed from tubular urine was calculated as $100 \times (1 - CL_R / CL_{GF})$; the percentage of water reabsorbed was similarly determined as $100 \times (1 - [\text{urine flow rate}] / GFR)$. The number of milligrams per day of polymyxin B filtered at the glomeruli was calculated by multiplying the polymyxin B average steady-state plasma concentration ($C_{ss,avg}$, mg/L) with its filtration clearance (CL_{GF} , L/day); the milligrams of polymyxin B per day reabsorbed by the renal tubular cells were then estimated from the percentage of the filtered polymyxin B that was reabsorbed.

Monte Carlo Simulations of Dosage Regimens

Simulations with between-subject variability (BSV) were performed for various clinically relevant dosage regimens scaled by TBW. The regimens were as follows: (1) 1.25 mg/kg as a 1-hour infusion every 12 hours; (2) 2 mg/kg as a 2-hour infusion loading dose followed 12 hours later by 1.25 mg/kg as a 1-hour infusion every 12 hours; (3) 1.5 mg/kg as a 1-hour infusion every 12 hours; (4) 2.5 mg/kg as a 2-hour infusion loading dose followed 12 hours later by 1.5 mg/kg as a 1-hour infusion every 12 hours; (5) continuous infusion of 2.5

mg/kg/24 hours; and (6) 2 mg/kg as a 2-hour infusion loading dose immediately followed by continuous infusion of 2.5 mg/kg/24 hours. For each dosage regimen 5000 virtual subjects were simulated using NONMEM software (version VI, level 1.2) [17].

RESULTS

Demographic data of the 24 intensive care patients are presented in Table 1. TBWs ranged from 41 kg to 110 kg in 23 patients, and 1 patient was extremely obese at 250 kg. A large range of renal functions was observed. The physician-selected dose of polymyxin B was 0.45-3.38 mg/kg/day; 23 patients received the drug every 12 hours, whereas the patient who was prescribed the lowest daily dose received it every 24 hours.

Plasma polymyxin B concentration-time profiles arising from the physician-selected dosage regimens are presented in Figure 1. The AUC over a day ($AUC_{0-24\text{hours}}$) from the population PK analysis was 66.9 ± 21.6 mg·h/L (range, 16.4-117 mg·h/L), and therefore the average steady-state plasma concentration ($C_{ss,avg}$, i.e. $AUC_{0-24h}/24\text{hours}$) was 2.79 ± 0.90 mg/L (range, 0.68-4.88 mg/L). The polymyxin B concentrations from the 2 CVVHD patients [11] were within the range of concentrations observed in non-CVVHD patients (Figure 1).

The time-course of polymyxin B concentrations was well described by a 2-compartment disposition model with constant-rate, short-term infusion input and linear (i.e. non-saturable) elimination. The population PK model provided excellent fits to the observed concentration-time profiles for individual patients (Figure 2) and the individual-fitted and population-fitted concentrations were unbiased and adequately precise (Figure 2). As only 12.2% and 5.62% of polymyxin B was removed by CVVHD [11], the concentration-time profiles from all patients (i.e. on and not on renal replacement therapy) were successfully described simultaneously with one set of population PK parameter estimates (Table 2). Linear scaling of clearances and

volumes of distribution by TBW reduced the unexplained BSV (%CV) by 3.4% for CL and 41.7% for the central volume of distribution (V1). Allometric scaling of CL (scaled by $TBW^{0.75}$) performed slightly better than linear scaling. Linear and allometric scaling by LBW performed similarly well as TBW. For simpler clinical implementation, the results from the model with linear scaling by TBW are reported in Table 2. The BSV in clearance (CV 32.4%, Table 2) was remarkably low in this critically-ill patient population with a wide range of body weights and renal functions. After scaling of clearances and volumes of distribution by TBW, the parameter estimates for the 2 patients receiving CVVHD, including the patient with 250-kg TBW, were within the range of estimates from the other patients, as shown for CL in Figure 3. Importantly, neither the unscaled ($P=.68$, $r^2=0.008$) nor scaled ($P=.22$, $r^2=0.008$) polymyxin B CL, showed any relationship with CrCL (Figure 3). Furthermore, no relationships were identified between CL of polymyxin B and APACHE II score, serum albumin concentration, gender or age.

The median unbound fraction in plasma of polymyxin B was 0.42 (range, 0.26-0.64; $n=23$) and was independent of concentration ($P > .05$, $r^2 = 0.13$). The mean (\pm SD) of the AUC for unbound polymyxin B ($fAUC_{0-24h}$) was 29.2 ± 12.0 mg·h/L (range, 6.05-60.5 mg·h/L). Urinary excretion data were available from 17 patients. The median percentage of the polymyxin B dose that was excreted unchanged in urine was 4.04% (range, 0.98%-17.4%) and the median renal clearance (CL_R) was 0.061 L/h (range, 0.018-0.377 L/hour). The CL_R of polymyxin B was a small percentage of CL_{GF} in every patient (median, 9.7%; range 0.75%-27.9%). Thus, a large percentage of polymyxin B filtered at the glomerulus was reabsorbed (median, 90.3%; range 72.1%-99.2%); by comparison, the median percentage of filtered water that was reabsorbed was 96.4% (range, 85.7%-99.0%). There was a trend for the percentage of filtered polymyxin B that was reabsorbed to increase with creatinine clearance; the result being that there was a strong linear relationship ($P < .0001$, $r^2 = 0.90$) between the amount of polymyxin

B reabsorbed per day, scaled to the daily dose, to increase with CrCL (Figure 4). The exposure to polymyxin B with various dosage regimens, predicted from the Monte Carlo simulations, is quantified in Table 3.

DISCUSSION

This polymyxin B population PK study has made a significant contribution to understanding of how to optimize the clinical use of this important last-line antibiotic in critically ill patients. It is the first to demonstrate that total body weight is a patient characteristic that influences polymyxin B PK and that the total body clearance, and hence daily dose requirement, of polymyxin B is not affected by kidney function.

Scaling of clearances and volumes of distribution by TBW resulted in unbiased fits for all patients, including the extremely obese patient (250 kg), and an overall reduction in the BSV. Thus, loading and maintenance doses for polymyxin B are best scaled by TBW; this finding informed the manner in which the Monte Carlo simulations were conducted.

Polymyxin B CL scaled by TBW displayed only modest interindividual variability, particularly given the very diverse demographics including sex, age, renal function and severity of illness. Notably, despite the wide range of renal function across the patients, this patient characteristic was not a determinant of polymyxin B CL (Figure 3). That renal function did not influence polymyxin B CL is in keeping with the fact that only a small percentage of the dose was excreted in urine as unchanged drug, as we have previously reported [8]. Non-renal clearance has also been demonstrated to be the major elimination pathway of polymyxins in rats [16, 18].

As polymyxin B CL was not related to CrCL (Figure. 3), its daily doses should not be based on renal function. This contrasts strongly with colistin wherein daily doses need to be tailored

to renal function, because the latter is administered as the predominantly renally eliminated prodrug CMS [7]. Decreasing daily doses of polymyxin B for patients with poor renal function may lead to suboptimal plasma exposure, with potentially adverse consequences on clinical and microbiological outcomes and development of resistance. Physicians should balance the risk of polymyxin-induced nephrotoxicity against the benefit of maintaining adequate doses of polymyxin B, particularly in patients with declining renal function. It should be noted that the benefit of higher polymyxin B dosage regimens (≥ 200 mg/day) on overall hospital mortality remained even for patients who developed moderate or severe renal impairment during therapy [19].

The Monte Carlo simulations indicated that dosage regimens not involving a loading dose resulted in exposure to polymyxin B across day 1 that was substantially lower than the exposure achieved on day 4 (ie, at steady state). It should be noted that even though loading doses have been proposed for CMS, several hours' delay occurs in the achievement of C_{\max} of the antibacterial entity colistin because of the slow formation from the prodrug CMS [6,7,20, 21]. Our data clearly show the potential PK/PD advantage of polymyxin B versus CMS after intravenous administration and the importance of employing a loading dose to achieve optimal plasma exposure of polymyxin B as soon as possible.

The $fAUC$ /minimum inhibitory concentration (MIC) has been shown to be the most predictive PK/PD index for the in vivo antibacterial activity of colistin [22,23]. In the thigh infection model, the $fAUC/MIC$ values for 2-log bacterial killing were approximately 20 for *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Therefore, assuming that these PK/PD data for colistin are similar for polymyxin B, our Monte Carlo simulations using an f_u of 0.42 show that only 1.5 mg/kg/12 hours (ie, 3 mg/kg/day) would reach a $fAUC/MIC$ of approximately 20 on day 4 in approximately 50% of patients when the causative pathogen MIC is 2 mg/L (Table 3). Thus, for severe infections caused by organisms with polymyxin B

MIC of ≤ 2 mg/L, regimens with a ‘high’ daily dose (eg 3 mg/kg/day), with a loading dose, should be considered. Nonetheless, it is very likely that the currently recommended dosage regimens (up to 2.5 mg/kg/day) are appropriate for less severe infections, or when the polymyxin B MIC of the pathogen is ≤ 1 mg/L. However, for pathogens with MICs of 4 mg/L, only a very small proportion of patients will reach a $fAUC/MIC$ of approximately 20, even with 3 mg/kg/day. Since >3 mg/kg/day cannot be recommended at this time due to the lack of clinical data on safety, combination therapy should be considered for severe infections caused by such pathogens.

A retrospective cohort study showed that ≥ 200 mg/day polymyxin B was independently associated with lower hospital mortality [19]. Because 200 mg/day corresponds to 2.5, 2.85 and 3.0 mg/kg per day in patients weighing 80, 70 and 65 kg, respectively, ≥ 200 mg/day is very likely in accordance with the dosage regimens associated with bactericidal activity of polymyxins, according to the data from mouse infection models [22,23] and our Monte Carlo simulations (Table 3).

Although renal clearance contributes in a minor way to polymyxin B CL, the processing of the drug within the kidney is extremely important as nephrotoxicity is the major dose-limiting adverse effect [19, 24]. In the present study, urinary excretion and plasma protein binding data were available for 16 patients with a wide range of renal functions. In all of these patients, polymyxin B CL_R was only a very small percentage of the anticipated filtration clearance of the drug at the glomeruli, indicating that polymyxin B was subject to extensive net tubular reabsorption, as has been reported previously for 4 other patients [8] and for colistin in rats [16]. The trend for the percentage of filtered polymyxin B reabsorbed to increase with CrCL is consistent with the intact nephron hypothesis [25]. The relationship between the percentage of the daily dose that was reabsorbed and CrCL (Figure 4) highlights the degree of exposure of tubular cells to polymyxin B. For example, for a patient with a CrCL ≥ 100 mL/min,

remarkably, an amount equivalent to the daily dose or more was reabsorbed through the tubular cells per day. In the case of a patient with a lower CrCL, the amount reabsorbed per day can still be a substantial percentage of the daily dose, especially given the likely fewer number of functioning nephrons in such a patient [25]. Thus, there is substantial recycling of polymyxin B between tubular urine and the systemic circulation, which results in extensive intracellular exposure in the tubular cells. Our data (Figure 4) suggest that inhibition of tubular reabsorption may serve to decrease the potential for nephrotoxicity.

A potential limitation of our study was the use of CrCL estimated by the Cockcroft-Gault equation, which has not been validated in critically ill patients. Nonetheless, this limitation does not affect our results because there was clearly no relation between renal function and polymyxin B CL. In addition, only 2 patients on renal replacement therapy were included in the population PK analysis.

In conclusion, this is the first population PK study demonstrating that doses of intravenous polymyxin B are best scaled by total body weight and should not be based upon renal function. For patients on renal replacement therapy, dosage adjustments are not recommended at this time. Further clinical studies on polymyxin B PK/PD are urgently needed.

Notes

Financial support. This study was supported by Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (08-686) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil (474740/2008-0). A. P. Z. is a research fellow from the CNPq, Ministry of Science and Technology, Brazil (305263/2011-0). J. L. is an Australian National Health and Medical Research Council (NHMRC) Senior Research Fellow, and this study was partially supported by NHMRC project (1026109).

Potential conflicts of interest. A. P. Z. has received consultancy fees from Pfizer, Eurofarma and Forest Laboratories. D. R. F. has received consultancy fees from Pfizer. All other authors report no potential conflicts.

References

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, Paterson DL. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:589–601.
2. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:1206-15.
3. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1333-41.
4. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:449-65.
5. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:1953-8.
6. Mohamed AF, Karaikos I, Plachouras D, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:4241-9.
7. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study

- provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3284-94.
9. Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G, et al. Pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients. *Clin Infect Dis* 2008; 47:1298-1304.
 10. Kwa AL, Lim TP, Low JG, et al. Pharmacokinetics of polymyxin B1 in patients with multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60:163-7.
 11. Kwa AL, Abdelraouf K, Low JG, Tam VH. Pharmacokinetics of polymyxin B in a patient with renal insufficiency: a case report. *Clin Infect Dis* 2011; 52:1280-1.
 12. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, et al. Pharmacokinetics of polymyxin B in patients on continuous venovenous haemodialysis. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:674-7.
 13. Bauer RJ. S-ADAPT/ User's Guide (Version 1.57). Software for Pharmacokinetic, pharmacodynamic MCPDM and population data analysis. Berkeley, CA, 2011.
 14. Bulitta JB, Bingolbali A, Shin BS, Landersdorfer CB. Development of a new pre- and post-processing tool (SADAPT-TRAN) for nonlinear mixed-effects modeling in S-ADAPT. *AAPS J* 2011; 13:201-11.
 15. Bulitta JB, Landersdorfer CB. Performance and robustness of the Monte Carlo importance sampling algorithm using parallelized S-ADAPT
 16. for basic and complex mechanistic models. *AAPS J* 2011; 13: 212-26.
 17. Janmahasatian S, Duffull SB, Ash S, Ward LC, Byrne NM, Green B. Quantification of lean bodyweight. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44:1051-65.
 18. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Use of high-performance liquid chromatography to study the pharmacokinetics of colistin sulfate in rats following intravenous administration. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1766-70.
 19. Beal SL, Sheiner LB, Boeckmann AJ, Bauer RJ. NONMEM User's guides (1989-2009). Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA, 2009.

20. Abdelraouf K, Braggs KH, Yin T, Truong LD, Hu M, Tam VH. Characterization of polymyxin B-induced nephrotoxicity: implications for dosing regimen design. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:4625-9.
21. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:2231-7.
22. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3430-6.
23. Markou N, Fousteri M, Markantonis SL et al. Colistin pharmacokinetics in intensive care unit patients on continuous venovenous haemodiafiltration: an observational study. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:2459-62.
24. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, et al. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3):1117-24.
25. Dudhani RV, Turnidge JD, Nation RL, Li J. fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:1984-90.
26. Kubin CJ, Ellman TM, Phadke V, Haynes LJ, Calfee DP, Yin MT. Incidence and predictors of acute kidney injury associated with intravenous polymyxin B therapy. *J Infect* 2012; 65:80-7.
27. Bricker NS. On the meaning of the intact nephron hypothesis. *Am J Med* 1969; 46:1-11.

Table 1. Patient Characteristics.

Characteristic	Value ^a
Age, y	61.5 (21-87)
Sex	
Male	13 (54.2)
Female	11 (45.8)
Total body weight, kg	62.5 (41-250)
Lean body weight, kg	46.0 (29-99)
Estimated creatinine clearance (mL/min)	33 (10-143)
APACHE II score	21.5 (10-29)
Coadministered antibiotic(s)	24 (100)
Vancomycin	18 (75)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	6 (25)
Levofloxacin	2 (8.3)
Meropenem	4 (16.7)
Ceftazidime	3 (12.5)
Cefepime	1 (4.2)
Piperacillin-tazobactam	1 (4.2)
With renal replacement therapy	
Continuous renal replacement	2 (8.3)

Abbreviation: APACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II.

^a Values are median (range) or No. (%).

Table 2. Population Pharmacokinetic Parameter Estimates, Between-Subject Variability, and Precision of Estimates^a

Parameter (Unit)	Population Estimate	Between-Subject Variability (% CV)	Standard Error (%SE)
CL (L/h/kg) ^b	0.0276	32.4	7.49
V1 (L/kg)	0.0939	73.3	23.6
V2 (L/kg)	0.330	70.1	19.5
CL _{ic} (L/h/kg)	0.146	50.4	22.2
SD _{intercept} (mg/L)	0.0392		
SD _{slope}	9.59%		

Abbreviations: CL, total body clearance; CL_{ic}: intercompartmental clearance;

CV: coefficient of variation; SD_{intercept}: additive residual error, SD_{slope}:

proportional residual error; SE, standard error; V1, central volume of

distribution; V2: peripheral volume of distribution. .

^a Unscaled population estimates: CL = 1.87 L/h, V1 = 6.35 L, V2 = 22.3 L, CL_{ic} = 9.86 L/h, $t_{1/2\beta}$ = 11.9 h.

^b For the two continuous venovenous hemodialysis (CVVHD) patients the estimated total body clearance includes the CVVHD clearance. The CVVHD clearances in the 2 renal replacement therapy patients were only 0.26 L/h and 0.37 L/h [11].

Table 3. Polymyxin B exposure for six different dosage regimens on the first and fourth day of treatment based on Monte Carlo simulations.^a

Day	C_{\max} (mg/L) ^b			C_{\min} (mg/L) ^b			AUC _{0-24h} (mg·h/L)		
	P10	P50	P90	P10	P50	P90	P10	P50	P90
1.25 mg/kg q12h as 1-h infusion									
Day 1	2.59	5.17	9.38	0.79	0.903	1.48	25.0	46.4	81.1
Day 4	4.34	7.09	11.3	1.06	1.87	3.08	44.3	72.0	114
2 mg/kg loading as 2-h infusion, followed by 1.25 mg/kg q12h as 1-h infusion^c									
Day 1	3.06	5.71	10.5	0.86	1.48	2.43	34.0	61.7	108
Day 4	4.35	7.06	11.3	1.07	1.90	3.11	44.7	72.7	115
1.5 mg/kg q12h as 1-h infusion									
Day 1	3.11	6.21	11.25	0.620	1.08	1.77	29.9	55.7	97.3
Day 4	5.20	8.51	13.56	1.27	2.25	3.69	53.1	86.4	137.3
2.5 mg/kg loading as 2-h infusion followed by 1.5 mg/kg q12h as 1-h infusion^c									
Day 1	3.95	7.39	13.5	1.11	1.92	3.15	43.4	78.9	137.9
Day 4	5.40	8.76	14.0	1.33	2.36	3.87	55.5	90.4	142.7
2.5 mg/kg/day as continuous infusion									
Day 1	-	-	-	-	-	-	20.4	36.9	63.4
Day 4	-	-	-	-	-	-	47.0	72.3	110
2 mg/kg loading as 2-h infusion, then 2.5 mg/kg/day as continuous infusion^d									
Day 1	-	-	-	-	-	-	42.4	75.8	128
Day 4	-	-	-	-	-	-	48.0	73.9	111

Abbreviations: AUC_{0-24h}: area under the plasma concentration-time curve over 24 h; C_{\max} : maximum polymyxin B concentration; C_{\min} : minimum polymyxin B concentration; P₁₀, 10th percentile; P₅₀, 50th percentile; P₉₀, 90th percentile; q 12h, every 12 hours.

^a All values refer to total polymyxin B concentration.

^b C_{\max} and C_{\min} on day 1 and day 4 refer to dose 1 and dose 8. The C_{\min} on day 1 is the concentration at the end of the first dosage interval.

^c First maintenance dose administered 12 hours after the loading dose.

^d Continuous infusion commenced immediately after the loading dose.

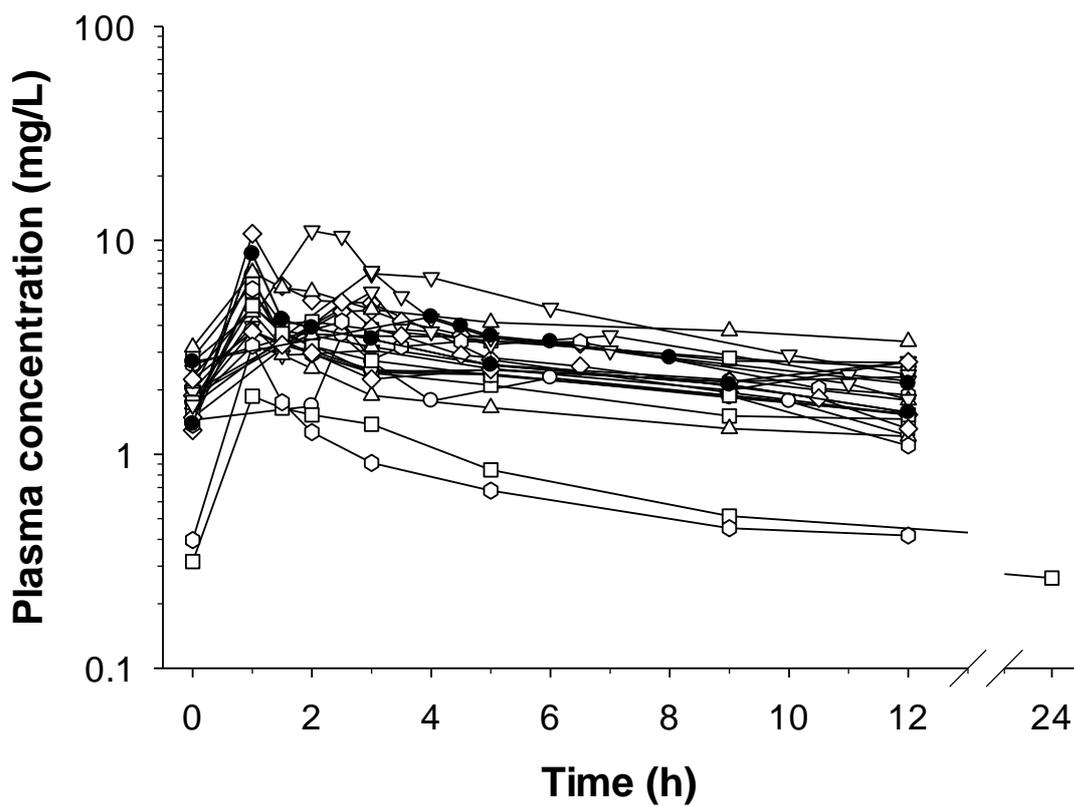


Figure 1. Plasma concentration-time profiles of polymyxin B in 24 patients. Concentrations from the 2 patients undergoing continuous venovenous hemodialysis [11] are shown by filled symbols.

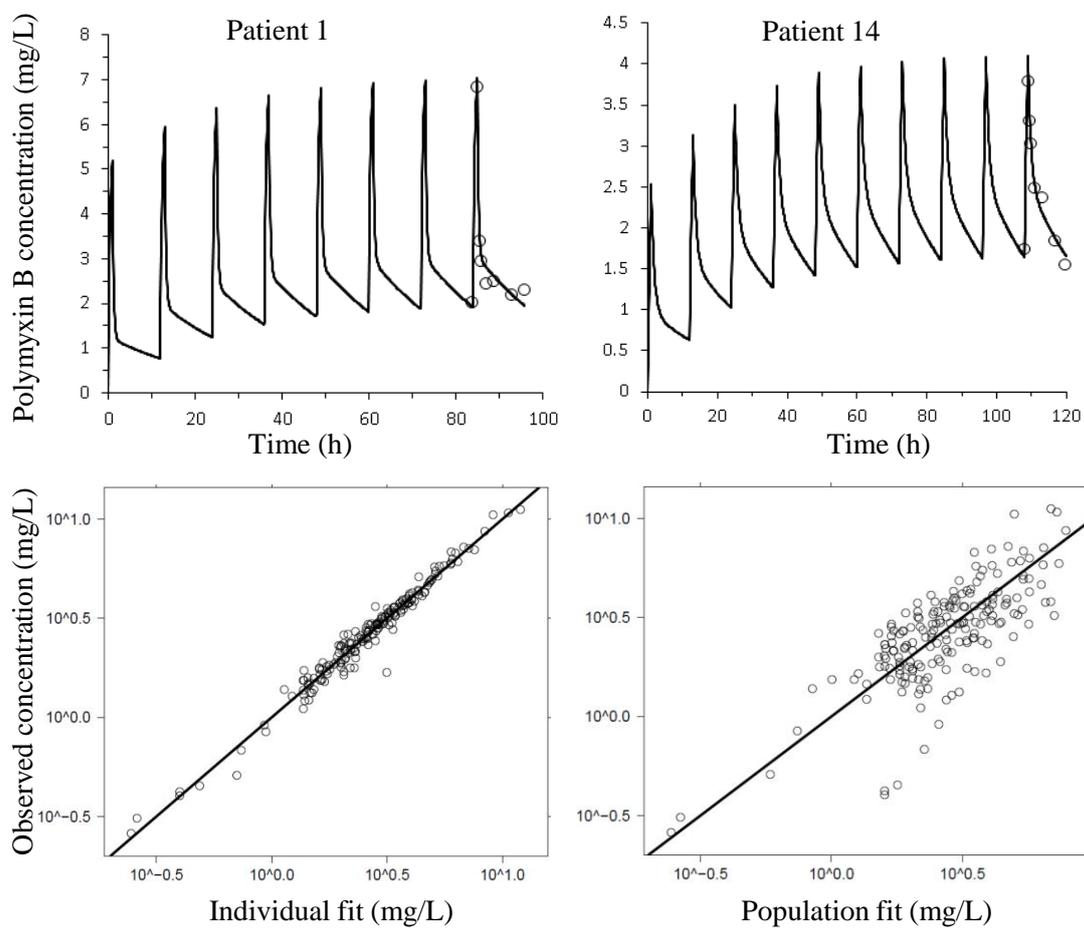


Figure 2. Upper panels: Representative fits of the pharmacokinetic model to the plasma polymyxin B concentration-time data of individual patients. Lower panels: Individual (left) and population (right) fitted versus observed polymyxin B concentrations.

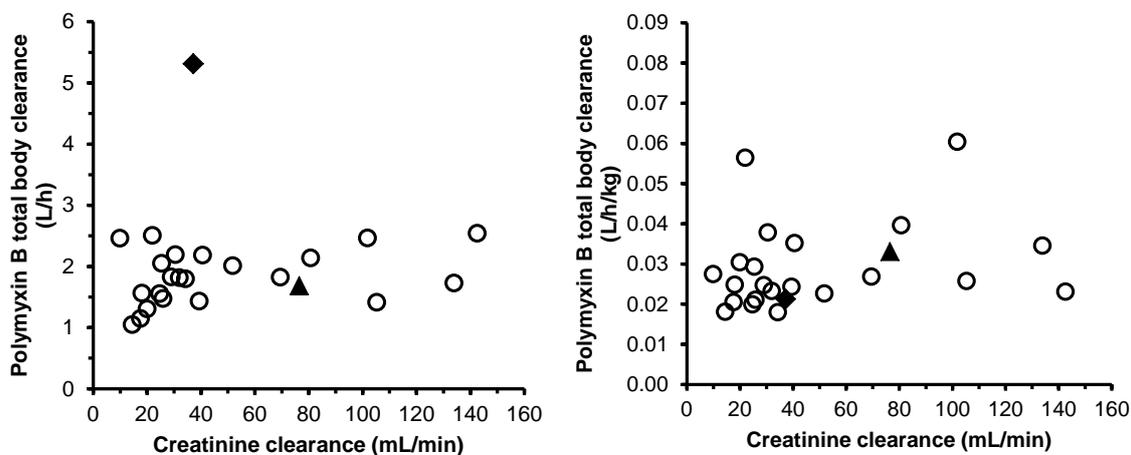


Figure 3. Individual polymyxin B clearance estimates *versus* creatinine clearance. Polymyxin B clearance was either unscaled (L/hour, left panel) or scaled by total body weight (L/hour/kg, right panel). Open circles represent patients not on hemodialysis, the filled diamond represents the continuous venovenous hemodialysis (CVVHD) patient who weighed 250 kg, and the filled triangle the lean CVVHD patient.

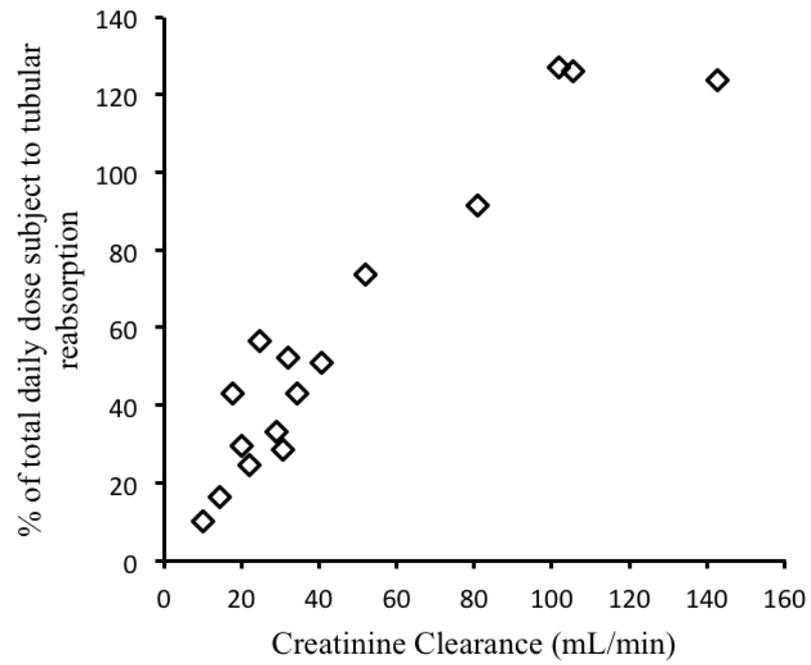


Figure 4. Relationship between the percentage of the total daily dose of polymyxin B undergoing renal tubular reabsorption and creatinine clearance.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos com os estudos realizados permitiram ampliar o conhecimento da farmacocinética da polimixina B intravenosa em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva.

No estudo de farmacocinética populacional foi possível identificar que o regime de doses deve ser ajustado ao peso do paciente, que o melhor regime para atingir uma $fAUC/MIC$ adequada, conforme estudos prévios, é o de 1,5mg/kg 12/12h precedido de uma dose de ataque de 2,0 a 2,5mg/kg, considerando *P. aeruginosa* e *A. baumannii* com MIC=1 ou 2mg/L. Doses de 1,25mg/kg, entretanto, podem ser suficientes para infecções por microrganismos com $MIC \leq 0,5mg/L$. Outro achado muito significativo é a inexistência de indicação de ajuste das doses para a função renal. No estudo de farmacocinética em dois pacientes com terapia de substituição renal, em hemodiálise venovenosa lenta contínua, também foi identificado um *clearance* da polimixina pela HDVVC muito pequeno, sinalizando uma vez mais que o ajuste de doses não se faz necessário, mesmo nessa situação. Talvez, inclusive, um aumento de dose adicional para compensar esses 10% de perda seja necessária.

Este foi o primeiro estudo a sugerir um regime de doses para a polimixina B, de forma a otimizar seu uso. Permanecem as questões relacionadas à sua nefrotoxicidade intrínseca que, até o presente, limitam seu emprego em doses mais elevadas. Para esta questão, inúmeros estudos de terapias de associação com as polimixinas em infecções mais graves e/ou envolvendo MICs mais elevados vêm sendo realizados e o próximo passo a ser explorado poderia ser a contribuição da monitorização dos seus níveis séricos visando a uma menor toxicidade e a melhores desfechos clínicos.

8 ANEXO

Ficha de Coleta de Dados

COLETA DE SANGUE/URINA/DIALISATO

(Após o 3º ou 4º dia do início da Polimixina B)

Hospital: _____

Nº Paciente

Nome do Paciente: _____

Registro: _____ Leito: _____ Sexo ()F ()M Idade: _____ anos

Data da Internação: ___/___/_____ Data Internação na UTI: ___/___/_____

Data Início Polimixina B: ___/___/_____ APACHE no início da atual Infecção: _____

Peso: _____ Kg Creatinina: _____ DCE: _____

Tempo Infusão Poli B: _____ h Justificar se > 1h: _____

Dose e Intervalo de Administração da Polimixina B, especificando horários (ex: 8h e20h): _____

Dose Poli B /Kg peso/dia: _____ Kg/dia

Data do Início da Infecção para a qual está sendo usada a Polimixina B: ___/___/_____

Doença(s) de base: _____

Bactéria(s) isolada(s): () Sim () Uso empírico

() *P. aeruginosa* data: ___/___/_____ () *A. baumannii* data: ___/___/_____

() Outras, incluir data de isolamento e perfil de sensibilidade: _____

Outros Antibióticos em Uso (incluir data de início) : _____

Outras medicações em uso: Noradrenalina () Sim () Não

1. Pacientes SEM Hemodiálise

Nome do Paciente: _____

COLETA DE SANGUE (3mL)	Confirmação da Coleta/horário
Imediatamente antes da dose de Poli B:	
Imediatamente após a infusão de Poli B	
30 minutos após a infusão de Poli B	
1 hora após a infusão de Poli B	
2 horas após a infusão de Poli B	
4 horas após a infusão de Poli B	
8h após a infusão se Poli B 12/12h	
12h após a infusão se Poli B > 12/12h	
*Imediatamente antes da dose seguinte de Poli B	

*12h, 24h, 36h ou 48h após 1ª dose da Polimixina B, conforme regime de administração.

Intervalo da Poli B	COLETA DE URINA (5mL)					Horário Coleta	*Diurese (mL)
	0 – 6h	6h – 12h					
12/12h (2 amostras)	0 – 6h	6h – 12h					1. 2.
24/24h (3 amostras)	0 – 6h	6h – 12h	12 – 24h				1. 2. 3.
36/36h (4 amostras)	0 – 6h	6h – 12h	12 – 24h	24 – 36h			1. 2. 3. 4.
48/48h ((5 amostras)	0 – 6h	6h – 12h	12 – 24h	24 – 36h	36 – 48h		1. 2. 3. 4. 5.

*Anotar o volume de diurese nos intervalos mencionados ou total de diurese no período.

Intercorrências: _____

2. Pacientes com HD Contínua

Nome do Paciente: _____

SANGUE (3mL)	Confirmação/ Horário
Imediatamente antes da dose de Poli B:	
Imediatamente após a infusão de Poli B	
30 minutos após a infusão de Poli B	
1 hora após a infusão de Poli B	
2 horas após a infusão de Poli B	
4 horas após a infusão de Poli B	
8h após a infusão se Poli B 12/12h	
12h após a infusão se Poli B > 12/12h	
*Imediatamente antes da dose seguinte de Poli B	

*12h, 24h, 36h ou 48h após 1ª dose da Polimixina B, conforme seu regime de administração.

DIALISATO (5 mL)	Volume total do Dialisato
1h após início da Poli B	
2h após início da Poli B	
3h após início da Poli B	
4h após início da Poli B	
5h após início da Poli B	
6h após início da Poli B	
7h após início da Poli B	
8h após início da Poli B	
9h após início da Poli B	
10h após início da Poli B	
11h após início da Poli B	
12h após início da Poli B	

DIALISATO (5 mL)	Volume Total Do Dialisato
13h após início da Poli B	
14h após início da Poli B	
15h após início da Poli B	
16h após início da Poli B	
17h após início da Poli B	
18h após início da Poli B	
19h após início da Poli B	
20h após início da Poli B	
21h após início da Poli B	
22h após início da Poli B	
23h após início da Poli B	
24h após início da Poli B	

PS: Acrescentar mais horários se intervalos das doses for superior a 24h.

Taxa de Fluxo e Volume Total da Diálise: _____

3. Pacientes com HD Intermitente

Nome do Paciente: _____

3.1 Sangue e Dialisato em Dias Diferentes - Dia SEM Diálise

SANGUE (3mL)	Confirmação da Coleta/horário
Imediatamente antes da dose de Poli B:	
Imediatamente após a infusão de Poli B	
30 minutos após a infusão de Poli B	
1 hora após a infusão de Poli B	
2 horas após a infusão de Poli B	
4 horas após a infusão de Poli B	
8h após a infusão se Poli B 12/12h	
12h após a infusão se Poli B > 12/12h	
*Imediatamente antes da dose seguinte de Poli B	

*12h, 24h, 36h ou 48h após 1ª dose da Polimixina B, conforme seu regime de administração.

3.2 Sangue e Dialisato no Mesmo Dia - Próximo Dia COM Diálise

Sangue: coletar **durante** sessão de HD.

SANGUE (3mL), se possível seguindo horários da tabela acima.	Confirmação da Coleta Horário
Início da Diálise	
Fim da Diálise	

Dialisato: coletar **durante** a sessão de HD, de hora em hora.

DIALISATO (5mL)	Confirmação da Coleta Horário
1ª hora	
2ª hora	
3ª hora	
4ª hora	
5ª hora	
6ª hora	

Coleta de Outros Materiais

Se o paciente for submetido à coleta de outros materiais, na vigência de Polimixina

B, esses poderão ser coletados a partir do 3º/4º dia.

1. Lavado Bronco-Alveolar

Especificar dia de tratamento com a poli B: _____

ID: no pac BAL _____

Sangue (pré ou trans ou pós imediato do LBA): ID: no pac BBAL_____

Uréia soro (valor): _____

2. Líquor:

Especificar dia do tratamento: _____ ID: no pac CSF

Sangue (pré ou trans ou pós imediato do LBA): ID: no pac BBAL

3. Líquido Peritoneal/ Ascite

Idem a LCR