

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

NEFROTOXICIDADE DE POLIMIXINAS: FATORES DE RISCO E
COMPARAÇÃO ENTRE POLIMIXINA B E COLISTINA

ALUNO: MARIA HELENA DA SILVA PITOMBEIRA RIGATTO

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

NEFROTOXICIDADE DE POLIMIXINAS: FATORES DE RISCO E
COMPARAÇÃO ENTRE POLIMIXINA B E COLISTINA

ALUNO: MARIA HELENA DA SILVA PITOMBEIRA RIGATTO

Orientador: Prof. Dr. Alexandre P.
Zavascki

Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor em
Medicina: Ciências Médicas, da
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Programa de Pós-Graduação em
Medicina: Ciências Médicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Roberto Manfro

Prof. Wolnei Caumo

Prof. Alessandro Pasqualotto

Prof. Andreza Martins

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Helena Pitombeira e Mario Rigatto - base, inspiração e exemplo.

Ao Marcelo, pelo amor, apoio e companheirismo de todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas Maura S. Oliveira, Lauro V. Perdigão-Neto, Claudia M. Carrilho, Felipe F. Tuon, Tainá F. Behle, Diego R. Falci e Thiela Freitas pelo apoio e colaboração em todas as etapas deste projeto.

Aos bolsistas Natane Tenedine Lopes, Mariá Nunes e Leonardo Costa pela ajuda fundamental na coleta de dados. À bolsista Fabiane Vieira pelo apoio no processamento das amostras microbiológicas.

Ao Serviço de Infectologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Dr Fabiano Ramos, Dra Ana Lúcia Didonet Moro, Dra Letícia Gomes Lobo, Dra Ana Sandri e Dra Cândida Neves, pelo apoio durante a realização da tese e sobretudo pela grande parceria no fascinante exercício clínico da infectologia.

Ao Dr Gabriel Narvaez, pelo exemplo e inspiração que representa no meu caminho na infectologia e pelo apoio que sempre me prestou em diferentes fases desta caminhada.

Ao Serviço de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da PUCRS, colegas professores, alunos e residentes, pelo apoio, desafio e estímulo diários proporcionados pela vida acadêmica.

Ao Prof. Wolnei Caumo, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFRGS, pelo grande exemplo de brilhantismo e dedicação acadêmica e pelo constante incentivo para o meu aprimoramento científico.

Ao Prof. Felipe Fregni, diretor e idealizador do curso *Principles and Practice of Clinical Research* (PPCR), pela dedicação constante na formação e qualificação de pesquisadores clínicos mundialmente. Por ter, através do PPCR, mostrado-me toda a beleza e o fascínio da pesquisa clínica e ter sido base fundamental na minha formação em pesquisa.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Prof. Alexandre Zavascki, o meu profundo agradecimento pelo enorme apoio e por todos os grandes e muitos ensinamentos durante esta caminhada acadêmica. Deixo o registro da minha admiração pelo seu brilhantismo científico e sobretudo minha gratidão pelo incentivo e segurança que sempre me transmitiu.

RESUMO

Base teórica: As polimixinas, polimixina B e polimixina E (também denominada colistina), são antibióticos usados como opção de última linha no tratamento de infecções por bacilos Gram negativos multirresistentes. Apesar de serem drogas antigas, suas propriedades nefrotóxicas ainda são pobremente entendidas. Toxicidade direta aos túbulos renais proximais levando à necrose tubular e dano oxidativo estão envolvidos no mecanismo fisiopatológico da nefrotoxicidade por esta classe de drogas. Uso de maior dose total foi implicada em maior nefrotoxicidade, no entanto a relação entre dose recebida e peso do paciente, controlado para outras variáveis confundidoras ainda precisa ser clarificada. Além disso, diferenças farmacocinéticas entre polimixina B e a colistina impedem o extrapolamento de dados entre estas drogas, sendo importante a avaliação de desfecho clínico e nefrotoxicidade de cada uma e a comparação entre elas.

Objetivo: Avaliar comparativamente a nefrotoxicidade (através de critério de RIFLE) e mortalidade em 30 dias em pacientes tratados com polimixina B e colistina.

Métodos: Estudo de coorte prospectivo, multicêntrico com coleta consecutiva de dados. Critérios de inclusão: pacientes ≥ 18 anos em uso de polimixina B ou colistina. Critérios de exclusão: uso de polimixina B por período ≤ 48 horas, segundo uso de polimixina B, diálise no início do tratamento ou DCE ≤ 10 ml/min nos pacientes avaliados para nefrotoxicidade. Fatores potencialmente relacionados à nefrotoxicidade ou a mortalidade em 30 dias como: variáveis demográficas (idade, sexo), variáveis individuais (peso, comorbidades, escore de Charlson), fatores de gravidade (escore APACHE, internação em UTI, ventilação mecânica, uso de vasopressor), fatores relacionados à nefrotoxicidade (outras drogas nefrotóxicas e uso de contraste endovenoso), dose de polimixina utilizada (total, média diária e em mg/kg/dia), associação de drogas e características da infecção (sítio e isolado microbiológico) foram avaliadas em análise bivariada. Variáveis com $P \leq 0.2$ foram incluídas uma a uma, em ordem crescente, em modelo de regressão de COX. Variáveis com $P < 0.1$ permaneceram no modelo final.

Resultados: Quatrocentos e dez pacientes foram incluídos na coorte de polimixina B. Nefrotoxicidade ocorreu em 189 (46.1%) pacientes. Dose de polimixina B ≥ 150 mg/dia

foi fator de risco independente para nefrotoxicidade: *adjusted Hazard Ratio* (HR) 1.95, IC 95% 1.31-2.89, $P=0,01$. Peso e idade também foram associados de forma independente com nefrotoxicidade. A probabilidade de desenvolver nefrotoxicidade aumentou significativamente com doses entre 150-199mg/dia, independente do peso do paciente, sem aumento significativo com doses maiores. Nefrotoxicidade foi relacionada à maior mortalidade em 30 dias, embora não tenha atingido significância estatística (aHR 1,35, IC 95% 0,99-1,85, $P=0,06$), enquanto dose ≥ 150 mg/dia não aumentou o risco de mortalidade apesar de sua associação com nefrotoxicidade.

Na avaliação de mortalidade foram avaliados apenas pacientes internados em UTI e com infecção microbiologicamente confirmada. Cento e nove pacientes foram incluídos: 47 (43.1%) tratados com polimixina B combinada com outro antibiótico e 62 (56.8%) com polimixina B em monoterapia. A mortalidade geral em 30 dias foi 56.9% (62 pacientes): 32,3% (20 de 47) e 67,7% (42 de 62), $P=0,02$, nos grupos de terapia combinada e monoterapia, respectivamente. Terapia combinada foi associada de forma independente à menor mortalidade em 30 dias (HR, 0,38; IC 95% 0,21-0,68; $P=0,001$). Maior escore APACHE foi fator de risco independente para mortalidade em 30 dias.

Oitenta e um pacientes foram incluídos na coorte de colistina e foram pareados com 162 pacientes do grupo de polymyxin B, de acordo com a DCE (± 25 ml/min). A incidência falência renal foi de 23,5%: 38.3% no grupo da colistina e 16.1% no grupo da polimixina B, $P<0,001$ e ocorreu independente da DCE de base. Na análise multivariada, terapia com colistina foi fator de risco independente para falência renal (HR, 2,96, IC95%, 1,68- 5,22, $P<0,001$), assim como internação em UTI, maior peso e idade. Pacientes que desenvolveram falência renal morreram mais (50,9%, 29/57) do que os que não a desenvolveram (29.0%, 54/186), $P=0,004$; mas a mortalidade em 30 dias não diferiu entre os grupos: 30.9% e 35.8%, $P=0,53$, nos pacientes em uso de colistina e polimixina B, respectivamente.

Conclusão: A dose média diária de polimixina B é diretamente relacionada ao risco de nefrotoxicidade, independente do peso do paciente. Mortalidade em 30 dias tendeu a ser maior em quem desenvolveu nefrotoxicidade. O uso de terapia combinada com polimixina B mostrou ser protetor para mortalidade em 30 dias. Colistina mostrou estar associada ao maior desenvolvimento de falência renal quando comparada à polimixina B.

Palavras chave: polimixina B, colistina, nefrotoxicidade, mortalidade, RIFLE, terapia combinada.

ABSTRACT

Background: Polymyxins, polymyxin B and polymyxin E (also called colistin), are last line resort therapies to treat multi-resistant Gram negative bacteria. Despite the fact that they are old antibiotics, their nephrotoxicity properties are still poorly understood. Direct proximal renal tubular toxicity leading to tubular necrosis and oxidative damage are involved in the physiopathologic mechanism of injury by these drugs. Higher doses were implicated in nephrotoxicity, however the relation between dose and weight, controlled for confounding variables, still need to be clarified. Moreover, pharmacokinetic differences between polymyxin B and colistin avoid direct extrapolation of data between these drugs. It is then important to evaluate clinical outcomes and nephrotoxicity of each of these drugs and to compare its results.

Objective: To compare nephrotoxicity (using RIFLE score) and 30-day mortality in patients treated with colistin and polymyxin B.

Methods: We performed a multicenter prospective cohort study with consecutive data collection. Inclusion criteria: patients ≥ 18 years old receiving polymyxin B or colistin. Exclusion criteria: polymyxin use for ≤ 48 hours, having received polymyxin before, dialysis or $\text{GFR} \leq 10 \text{ml/min}$ in the beginning of therapy in patients evaluated for nephrotoxicity. Factors potentially related to nephrotoxicity or 30-day mortality such as: demographic data (age, gender), individual characteristics (weight, comorbidities, Charlson score), disease severity factors (APACHE score, ICU admission, mechanical ventilation, use of vasoactive drugs, nephrotoxicity related factors (other nephrotoxic drugs and use of nephrotoxic contrast), polymyxin dose (total dose, average daily dose, mg/kg/day dose), combined therapy and infection characteristics (site of infection, microbiologic isolates) were evaluated in bivariate analysis. Variables with $P \leq 0.2$ were included one by one, in a COX regression model. Variables with $P < 0.1$ remained in the final model.

Results: Four-hundred and ten patients were included. AKI occurred in 189 (46.1%) patients. Polymyxin B dose $\geq 150 \text{mg/day}$ was a risk factor for AKI: adjusted Hazard Ratio (HR) 1.95, 95% CI 1.31-2.89, $P=0.01$. Higher weight and age were also independently associated with AKI. The probability of developing AKI significantly increases with doses between 150-199mg/day, regardless the patients' weight, with no significant increase with higher doses. AKI was barely associated with increased risk

for 30-day mortality (adjusted HR 1.35, 95% CI 0.99-1.85, $P=0.06$), while $\geq 150\text{mg/day}$ did not increase this risk despite its association with AKI.

On mortality evaluation, a total of 109 patients were included: 47 (43.1%) treated with polymyxin B in combination and 62 (56.8%) with polymyxin B in monotherapy. The overall 30-day mortality was 56.9% (62 patients): 32.3% (20 of 47) and 67.7% (42 of 62), $p=0.02$, in combination and monotherapy groups, respectively. Combination therapy was independently associated with lower 30-day mortality (Hazard Ratio, 0.38; 95%CI 0.21-0.68; $p=0.001$), along with a higher APACHE score.

Eighty one patients in colistin group were matched to 162 in polymyxin B group, according to baseline creatinine clearance ($\pm 25\text{ml/min}$). The incidence of renal failure was 23.5%: 38.3% in CMS and 16.1% in polymyxin B group, $P<0.001$, regardless the baseline creatinine clearance of patients. In multivariate analysis, CMS therapy was an independent risk factor for renal failure (Hazard Ratio, 2.96, 95% Confidence Interval, 1.68-5.22, $P<0.001$), along with intensive care unit admission, higher weight and older age. Patients who developed renal failure presented higher 30-day mortality rates (50.9%, 29/57 patients) than those who did not present renal failure (29.0%, 54/186), $P=0.004$; but CMS (30.9%) and polymyxin B (35.8%) treated patients had similar 30-day mortality, $P=0.53$.

Conclusion: Median daily dose of polymyxin B therapy was directly related to the risk of developing nephrotoxicity, regardless of patient's weight. 30-day mortality was higher in patients who developed nephrotoxicity. Combined therapy with polymyxin B was protective to 30-day mortality. Colistin use was related to higher rates of renal failure when compared to polymyxin B.

Key Words: polymyxin B, colistin, nephrotoxicity, mortality, RIFLE, combined therapy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura química da colistina e polimixina B.....	PÁG 23
FIGURA 2. Mecanismos antibacterianos das polimixinas.....	PÁG 24
FIGURA 3. Farmacocinética da CMS e polimixina B.....	PÁG 25
FIGURA 4. Principais padrões de PK e PD que se relacionam com a atividade bactericida.....	PÁG 26
FIGURA 5. Padrão de concentração-tempo plasmática da pró-droga CMS (A) e da colistina (B) em 105 pacientes criticamente enfermos.....	PÁG 27
FIGURA 6. Comparação histológica das lesões renais conforme a posologia da polimixina B.....	PÁG 35
FIGURA 7. Escores de RIFLE e AKIN para lesão renal aguda.....	PÁG 40
FIGURA 8. Estudos avaliando nefrotoxicidade da colistina utilizando critério padronizado.....	PÁG 41
FIGURA 9. Estudos avaliando nefrotoxicidade da polimixina B utilizando critério padronizado.....	PÁG 43

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AKIN: *Acute Kidney Injury Network*

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*)

BMD: Microdiluição em caldo (ou *Broth Microdilution*)

CIM (ou MIC): Concentração inibitória mínima (ou *minimal inhibitory concentration*)

CL: *Clearance* total, depuração é o termo utilizado no português.

CLCr: *Clearance* de creatinina

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMS: colestimetato ou colistina metassulfato

C_{max}: concentração máxima da droga

DCE: Depuração de creatinina endógena

EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

f ou *f*_u: *Fraction unbound*, ou seja, fração livre no plasma (não ligada às proteínas)

f AUC: Fração livre da área sobre a curva de concentração plasmática no decorrer do tempo

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

f CM/CIM: Relação entre a concentração plasmática máxima, de sua fração livre, atingida pelo antibiótico sobre a CIM.

f T> CIM: Tempo (%) de permanência da fração livre (não ligada às proteínas) do antibiótico acima da concentração inibitória mínima.

FDA: *Food and Drug Administration*

FC (ou PK): Farmacocinética (ou em inglês *pharmacokinetics*)

FD (ou PD): Farmacodinâmica (ou em inglês *pharmacodynamics*)

HCPA: hospital de Clínicas de Porto Alegre

HNSC: Hospital Nossa Senhora da Conceição

HR: *Hazard ratio*

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

IC (ou CI): Intervalo de confiança (ou em inglês *confidence interval*)

IRA: Insuficiência renal aguda

LPS: Lipopolissacarídeo

NAG: N-acetyl--D-glucosaminidase

NGAL: *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

RIFLE: *Risk, Injury, Failure and End stage renal disease*

Time-kill: Tempo-morte em estudos estáticos *in vitro*.

UFC: Unidades formadoras de colônias

UI (ou IU): unidades internacionais (ou *international units*)

UTI: Unidade de terapia intensiva

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. ESTRATÉGIA DE BUSCA DE INFORMAÇÕES PARA REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Busca de dados.....	20
2.2 Resultado da busca de dados.....	21
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	22
3.1 Polimixinas.....	22
Estrutura.....	22
Mecanismo de ação antibacteriano.....	23
Farmacocinética e farmacodinâmica.....	24
Eficácia Clínica.....	27
Resistência.....	29
Testes de susceptibilidade.....	30
Efeitos adversos.....	32
3.2 Nefrotoxicidade das polimixinas.....	33
Estudos <i>in vitro</i> e em modelo animal.....	33
Estudos clínicos.....	37
Estudos com critérios padronizados de nefrotoxicidade avaliando colistina.....	39
Estudos com critérios padronizados de nefrotoxicidade avaliando polimixina B.....	41
Nefrotoxicidade de polimixina B comparada à colistina.....	42

Nefrotoxicidade e mortalidade.....	44
3.3 Terapia de associação.....	44
Estudos <i>in vitro</i>	44
Polimixinas e beta-lactâmicos.....	45
Polimixinas e tigeciclina.....	47
Polimixinas e rifampicina.....	47
Polimixinas e quinolonas.....	48
Polimixinas e vancomicina.....	48
Polimixinas e daptomicina.....	49
Estudos em modelo animal.....	49
Estudos clínicos.....	50
4. JUSTIFICATIVA.....	53
5. OBJETIVO GERAL.....	54
Objetivos específicos.....	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
7. ARTIGO 1.....	63
8. ARTIGO 2.....	88
9. ARTIGO 3.....	106
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	134
11. ANEXOS.....	135

1. INTRODUÇÃO

As polimixinas, polimixina B e colistina (também denominada polimixina E), apresentam ação bactericida rápida para bacilos Gram negativos aeróbicos. Foram desenvolvidas há mais de 50 anos e tiveram seu uso abandonado ou extremamente restrito após a década de 70 por preocupações com sua toxicidade renal. A crescente prevalência de infecções por bacilos Gram negativos multirresistentes em todo o mundo, especialmente na América Latina, somada à escassez de novos antimicrobianos disponíveis no mercado com ação para estes microorganismos, levou à retomada do uso das polimixinas como opção de última linha para tratamento destas infecções.(1)

Apesar do uso crescente destes antimicrobianos, suas propriedades nefrotóxicas ainda são pouco entendidas. Toxicidade direta aos túbulos renais levando à necrose tubular e dano oxidativo estão envolvidos no mecanismo fisiopatológico da nefrotoxicidade por esta droga.(2) Fatores como doses elevadas, uso concomitante de outras drogas nefrotóxicas, necessidade de droga vasoativa e maior índice de massa corporal foram associados à dano renal em pacientes em uso de polimixinas.(3-5) No entanto, a avaliação da relação da dose diária e da dose por peso do paciente com nefrotoxicidade não foi diretamente avaliada. Além disso, a maioria dos estudos têm avaliado colistina, com um menor número de trabalhos avaliando a polimixina B.

A colistina é administrada na forma parenteral como colistina metasulfato (CMS), uma pró-droga inativa que é lentamente convertida em colistina, atingindo nível sérico esperado em 48-72hs. O uso de uma dose inicial maior de CMS visando atingir nível sérico adequado já no início do tratamento é, em parte, limitado pelo potencial de nefrotoxicidade. A polimixina B, no entanto, já é administrada na forma ativa, atingindo a concentração plasmática esperada mais rapidamente.(6) Possíveis diferenças no potencial nefrotóxico destas drogas devem ser melhor avaliados considerando

importantes diferenças em sua farmacocinética. Dados recentes da literatura sugerem uma maior nefrotoxicidade da colistina quando comparada à polimixina.(3;5) No entanto, estes dados devem ser avaliados com cautela devido aos diversos fatores que podem influenciar o desenvolvimento de nefrotoxicidade, especialmente em estágios iniciais. Além disso, uso de doses baixas de polimixina B podem ter subestimado o seu potencial nefrotóxico.

A não padronização do critério utilizado para definir dano renal agudo também tem dificultado a avaliação da sua incidência. As classificações de RIFLE (7) e AKIN(8) pretendem uniformizar a caracterização de insuficiência renal, têm seu uso validado e têm sido amplamente utilizados em estudos mais recentes.(9) Estudos que avaliaram a nefrotoxicidade utilizando estes critérios encontraram taxas de 20 a 60% em pacientes em uso de polimixina B (3-5;10-12) e de 33 a 53,5% em estudos avaliando colistina.(3;5;12-19) A relação do desenvolvimento de nefrotoxicidade e aumento de mortalidade foi sugerida em alguns estudos clínicos.(12;14;20;21)

Além da preocupação com a nefrotoxicidade das polimixinas, a otimização de seu uso clínico é fundamental uma vez que diversos estudos sugeriram uma efetividade inferior destas drogas quando comparadas a outros antibióticos.(22-25) Terapia combinada com outros antimicrobianos tem mostrado resultados promissores em estudos in vitro, porém estudos clínicos ainda mostram resultados controversos. (26)

A avaliação de nefrotoxicidade por critério padronizado das polimixinas e a comparação entre as mesmas, além da avaliação de fatores relacionados a um melhor desfecho clínico, é portanto fundamental para a otimização do uso destas drogas.

2. ESTRATÉGIA DE BUSCA DE INFORMAÇÕES PARA REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Busca de dados

A revisão na literatura foi focada em 3 temas principais: características gerais das polimixinas, nefrotoxicidade das polimixinas e terapia combinada com polimixinas. A busca foi realizada nas bases de dados: Pubmed, SciELO e Lilacs em três etapas, através dos termos:

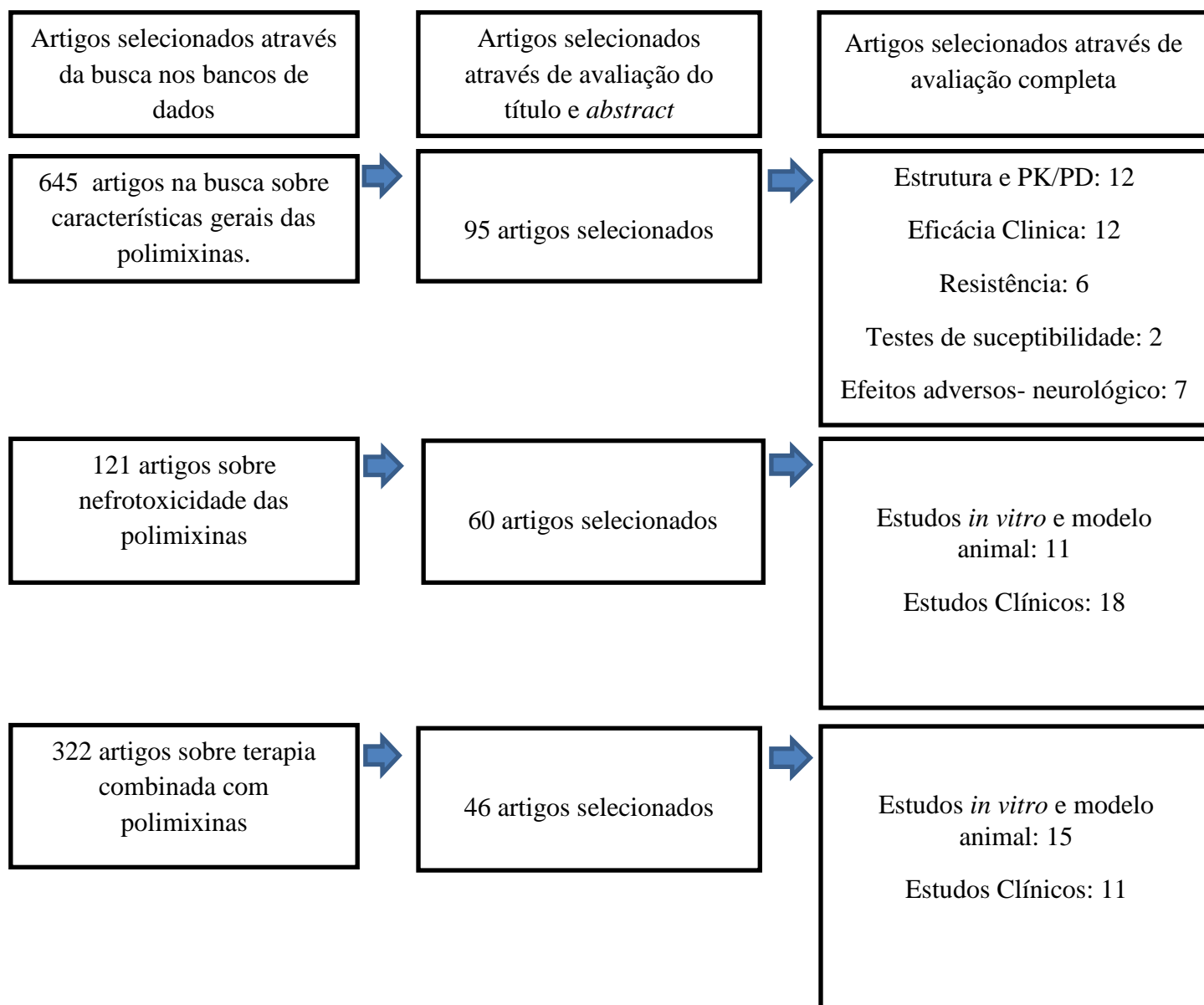
- Características gerais das polimixinas: “polymyxins”, “polymyxin B”, “colistin”, “Pk/Pd index”, “pharmacokinetics”, “pharmacodynamics”, “mortality”, “efficacy”, “resistance”, “susceptibility”, “adverse effects” e suas combinações.

- Nefrotoxicidade das polimixinas: “polymyxins”, “polymyxin B”, “colistin”, “nephrotoxicity” e suas combinações.

- Terapia combinada com polimixinas: “polymyxins”, “polymyxin B”, “colistin”, “combination therapy” e suas combinações.

A pesquisa foi restrita apenas a artigos publicados nos últimos 10 anos (2005-2015) com versão disponível em inglês ou português. Através da revisão do título e *abstract* foram escolhidos para análise apenas os que avaliaram polimixinas de uso intravenoso e suas características gerais de ação e eficácia, além de estudos que avaliaram nefrotoxicidade e terapia combinada.

2.2 Resultados da busca de dados



3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Polimixinas

As polimixinas, polimixina B e polimixina E (também denominada colistina), são antibióticos lipopeptídeos cíclicos com ação bactericida rápida para bacilos Gram negativos. São drogas antigas, descobertas em 1947 e lançadas no mercado nos anos 50. Nos anos 70 seu uso foi praticamente abandonado com o advento de novos aminoglicosídeos e drogas antipseudomonas com perfil de toxicidade renal considerado mais favorável. A partir dos anos 90, com a emergência de infecções por bacilos Gram negativos multirresistentes, o uso das polimixinas foi retomado como uma das últimas opções terapêuticas para tratamento de infecções por estas bactérias. Mundialmente a colistina é a polimixina mais usada, estando as duas formulações disponíveis em poucos países como Estados Unidos (principalmente na região de Nova York), Brasil, Malásia e Singapura. (1)

-Estrutura

As polimixinas são heptapeptídeos cíclicos com uma cadeia lateral de tripeptídeos ligadas a um terminal de ácidos graxos. As polimixinas B e E diferem apenas em 1 aminoácido na posição 6, D-Phe (D- phenylalanine) na polimixina B e D-Leu (D-leucina) na colistina (Figura 1). As polimixinas podem também ser subdivididas em 2 componentes conforme o tamanho da cadeia de ácidos graxos: polimixina B (B1 e B2) e Colistina (colistina A e colistina B). (27)

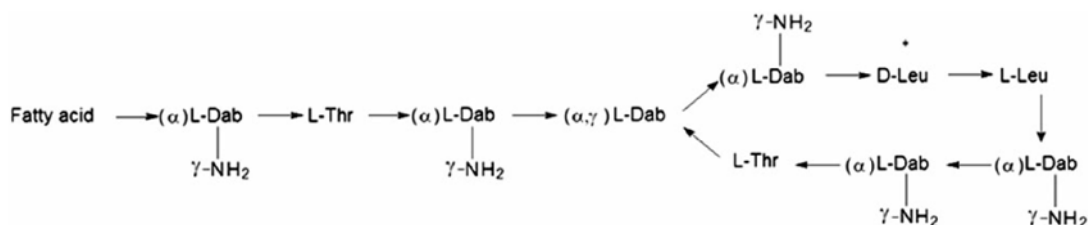


Figura 1. Estrutura química da colistina e polimixina B. Na Polimixina B D-Phe (phenilalanine) substitui D-Leu (leucine). (6)

-Mecanismo de ação antibacteriano

O sítio alvo de ação das polimixinas é o lipopolissacarídeo (LPS) da membrana externa. O LPS é composto de 3 regiões: internamente o lipídeo A, uma região central oligossacarídica e uma cadeia externa do antígeno O. O lipídeo A é o componente mais importante porque serve de âncora hidrofóbica que estabiliza a membrana externa bacteriana. O Ca^{2+} e Mg^{2+} servem como ponte às moléculas de LPS adjacentes. As polimixinas apresentam uma interação eletrostática que desloca o Ca^{2+} e Mg^{2+} - isso permite que sua cadeia hidrofóbica de ácido graxo e o aminoácido na posição 6 se liguem no lipídeo A da membrana externa, desestabilizando a sua barreira e permitindo a passagem da polimixina. Finalmente, uma vez no espaço periplasmático, ela destrói a integridade da membrana interna levando à lise celular. Um mecanismo alternativo é a polimixina se ligar, através do espaço periplasmático, nas membranas interna e externa, permitindo o seu contato (contato vesícula-vesícula). Isso levaria a perda da especificidade de fosfolípídeos de cada uma, resultando em alteração osmótica e lise celular. Um relato recente mostrou que as polimixinas também podem levar à rápida morte celular através do acúmulo de radicais hidroxil (OH) que leva em última análise ao dano oxidativo do DNA, lipídeos e proteínas.(27) Com estrutura química e mecanismo de ação muito semelhantes as polimixinas tem atividade bactericida equiparável. (6;27)

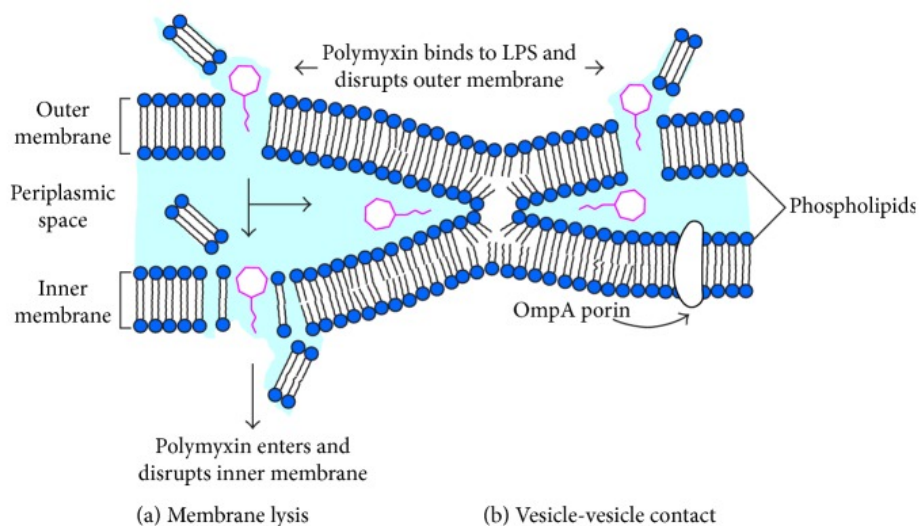


Figura 2. Mecanismos antibacterianos das polimixinas: (a) Clássico mecanismo de lise de membrana (b) mecanismo alternativo vesícula-vesícula (27)

- Farmacocinética e farmacodinâmica

Embora a polimixina B e a colistina sejam muito semelhantes do ponto de vista estrutural, o seu comportamento farmacodinâmico, na forma de apresentação parenteral, difere significativamente. Enquanto a polimixina B é administrada diretamente em sua forma ativa, a colistina é administrada como uma pró-droga inativa chamada colistina-metasulfato ou colistimetato (CMS), que será convertido na forma ativa de colistina *in vivo* (Figura 3). O CMS quando administrado sofre *clearance* e excreção renal em taxas maiores do que sua capacidade de conversão na forma ativa da colistina, que ocorre de maneira lenta e sujeita a variabilidade entre os indivíduos e conforme a manufatura da droga. Desta maneira, aproximadamente apenas 20-25% da pró-droga administrada será efetivamente convertida em colistina. A polimixina B, por sua vez, é administrada em sua forma ativa. É filtrada pelo glomérulo e em seguida reabsorvida na sua quase totalidade no túbulo proximal, sendo o *clearance* final predominantemente não renal. (6) A reabsorção tubular das polimixinas foi recentemente quantificada por técnica de microscopia por fluorescência em células tubulares renais de humanos e de ratos em modelo experimental e mostrou concentrações intracelulares de 1930 a 4760 vezes maiores quando comparadas as concentrações extracelulares.(28)

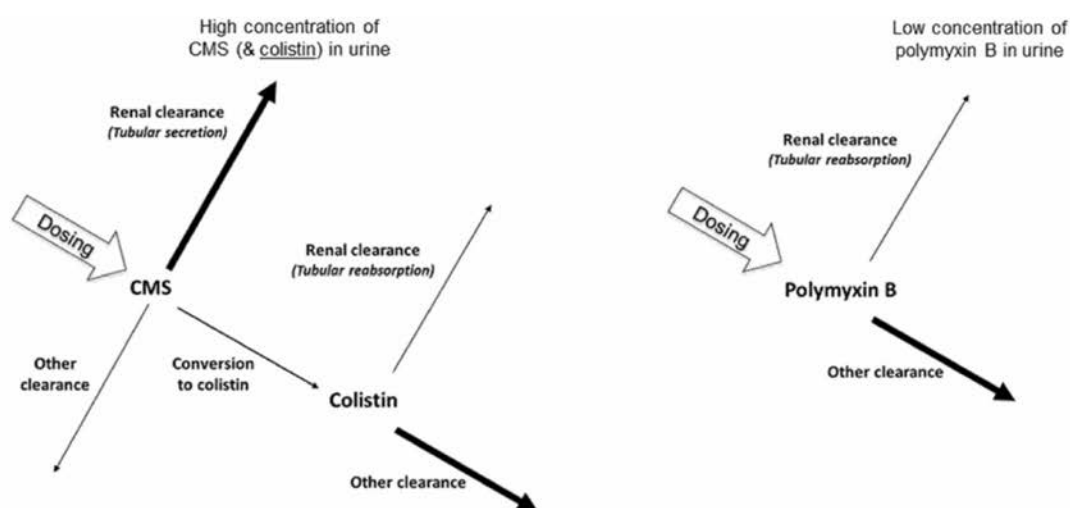


Figura 3. Farmacocinética da CMS e polimixina B (6)

O índice farmacocinético/farmacodinâmico (*PK/PD*) que melhor se correlaciona com a atividade bactericida da forma ativa e livre (não ligada a proteínas) das

polimixinas não era estabelecido até recentemente. Por serem drogas antigas, as polimixinas não passaram pelos processos regulatórios exigidos na atualidade e importantes aspectos de *PK* e *PD* foram elucidados apenas na última década. Existem 3 principais índices *PK/PD* que podem se correlacionar com a atividade bactericida de um antimicrobiano, conforme a classe a que pertence: A relação da área sob a curva da fração livre da droga (*fAUC*) e a concentração inibitória mínima do fármaco para inibir o crescimento bacteriano (*MIC*), a relação da concentração máxima da fração livre da droga (*C_{max}*) e a *MIC* e o tempo de exposição da fração livre da droga acima da *MIC*. (Figura 4) Estudo *in vitro* mostrou que o índice que melhor se correlacionou com a atividade bactericida da colistina em cepas de *P. aeruginosa* foi a *fAUC/MIC* (r^2 0,931). O valor de *fAUC/MIC* para redução de 1- \log_{10} de UFC variou de 5,04-27,1 e para redução de 2- \log_{10} de UFC de 6,81-35,7.(29) Dois estudos subsequentes em modelo animal, com inoculação de *P.aeruginosa* e *A. baumannii* em tecido pulmonar e de membro inferior de ratos, foram concordantes com os achados prévios encontrando a melhor correlação da atividade bactericida da colistina com a *fASC/MIC*. (30;31) Não existem estudos em humanos avaliando a relação do índice *PK/PD* e mortalidade.

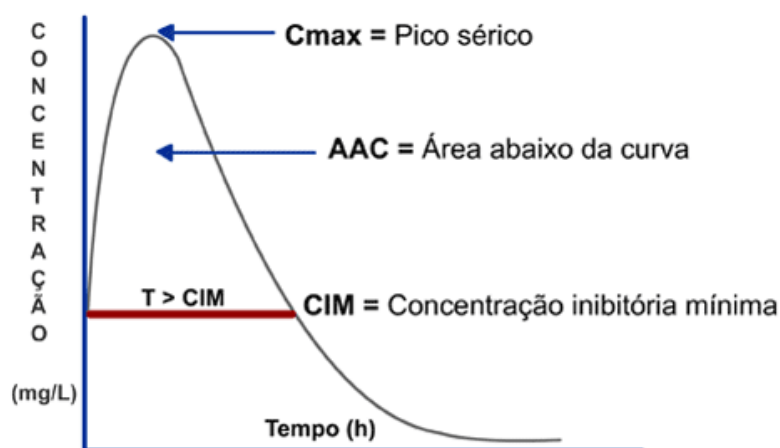


Figura 4. Principais padrões de *PK* e *PD* que se relacionam com a atividade bactericida. *AAC: *AUC*(*área under the curve*); CIM: *MIC* (*minimal inhibitory concentration*)

A melhor forma de administração das polimixinas visando atingir uma *fASC/MIC* alvo em torno de 20 (valor médio encontrado nos estudos anteriores) foi avaliada recentemente para colistina e polimixina B:

Estudo em 105 pacientes criticamente enfermos, tratados com colistina para infecções de corrente sanguínea ou pneumonia por bacilos Gram negativos multirresistentes, foi realizado com o objetivo de esclarecer, através da concentração sérica de CMS e colistina, o melhor regime posológico para a mesma. Oitenta e nove pacientes estavam fora de diálise e 16 em diálise. A colistina mostrou ter uma curva de concentração sérica achatada, em função da lenta conversão de CMS em colistina e da maior meia-vida da última.(Figura 5) A relação da curva sérica de colistina foi inversamente proporcional ao *clearance* de creatinina. Desta forma, através de uma simulação de Monte Carlo, foi sugerida a administração de uma dose de ataque de colistina, levando em consideração o peso do paciente e doses de manutenção ajustadas para a função renal. Como tanto o CMS como a colistina são removidos na diálise, é sugerido administrar doses ajustadas para o *CICr* seguidas de uma dose complementar no final ou após a diálise. A dose máxima diária recomendada pelo fabricante é de 300mg/dia de colistina e existem poucos dados na literatura avaliando uso de doses mais elevadas. Devido especialmente a preocupações com toxicidade renal, foi mantida a recomendação de dose limite de 300mg por dia. (32)

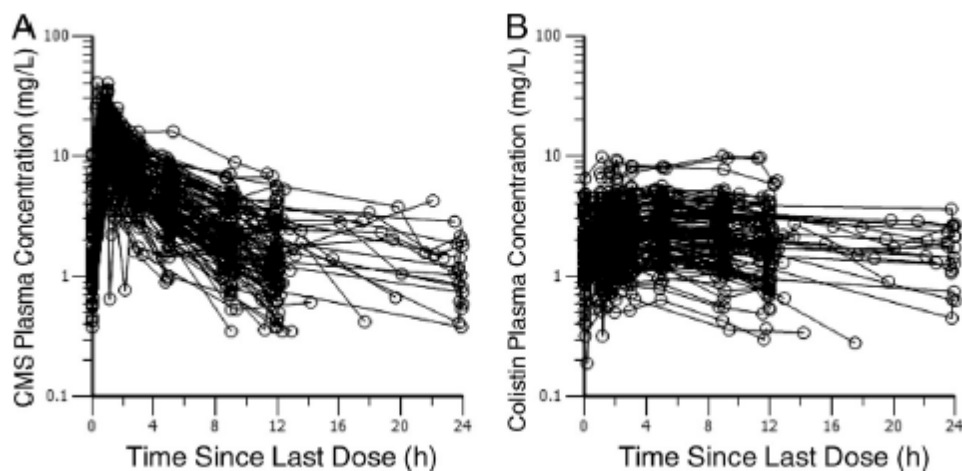


Figura 5. Padrão de concentração-tempo plasmática da pró-droga CMS (A) e da colistina (B) em 105 pacientes criticamente enfermos.(32)

O primeiro estudo a propor cientificamente o melhor regime posológico para polimixina B avaliou 24 pacientes criticamente enfermos nos quais foram medidas as concentrações plasmática e urinária da droga. Neste estudo a depuração de polimixina B mostrou ser melhor escalonada por peso real e não teve nenhuma relação com *CICr*,

APACHE, sexo, idade ou concentração sérica de albumina. A concentração média livre da droga foi de 0.42 e independente da concentração total. A fAUC/MIC média foi $29,2 \pm 12,0$ mg hora/L. Foi realizada uma simulação de Monte- Carlo mostrando ser necessário uma dose de 3mg/kg/dia para ser atingida uma fAUC/MIC de 20, no quarto dia de tratamento, em 50% dos pacientes. É sugerido realizar uma dose de ataque e não ajustar para o *clearance* de creatinina (ClCr) uma vez que a droga tem eliminação basicamente não renal. (33) Em relação a pacientes em hemodiálise contínua, estudo avaliou 2 casos e mostrou que apenas 12,2% e 5,62% da polimixina B foi recuperada do dialisato . Com as doses de recomendação usual (2-3mg/kg/dia) estes pacientes atingiram fAUC/MIC similar a de pacientes fora de diálise, sugerindo também o não ajuste de dose em pacientes em diálise. (34)

-Eficácia Clínica

Embora o mecanismo de ação e atividade bactericida da polimixina B e colistina sejam muito semelhantes, as diferenças de PK e conseqüentemente na forma de administração e controle da droga podem resultar, pelo menos teoricamente, em desfechos clínicos diferentes. Nenhum estudo prospectivo foi conduzido até o momento com o objetivo primário de comparar desfecho clínico entre as duas polimixinas. Estudo retrospectivo avaliou 82 pacientes com infecções graves por *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos, dos quais 41 receberam colistina e 41 polimixina B. Não houve diferença no sucesso clínico do tratamento da infecção ou em mortalidade na análise multivariada controlada para fatores de gravidade.(35) Dois estudos de coorte mais recentes também não encontraram diferença na mortalidade de pacientes tratados com polimixina B e colistina, porém estes estudos foram delineados com o objetivo primário de avaliar nefrotoxicidade e, portanto, algumas importantes variáveis de confusão podem ter servido de viés na análise destes resultados.(5;12)

A eficácia clínica das polimixinas, quando comparadas a outros antibióticos, foi avaliada em diversos estudos. Uma meta-análise avaliou a eficácia das polimixinas em infecções por enterobactérias resistentes a carbapenêmicos. Vinte e cinco estudos foram selecionados, dos quais 5 avaliavam também polimixina B e todos os demais apenas colistina. Dezoito destes estudos avaliaram mortalidade no grupo tratado com polimixinas comparado a um grupo controle. Na maior parte dos estudos o grupo controle recebia tigeciclina combinada ou não a carbapenêmicos. Não foi encontrada

diferença significativa na mortalidade, desfecho clínico e erradicação microbiológica entre os grupos. (36)

Na avaliação da eficácia das polimixinas no tratamento de bacilos Gram negativos não fermentadores, meta-análise de 6 estudos (359 pacientes) que avaliaram pneumonia associada à ventilação mecânica, na sua quase totalidade causadas por *A.baumannii* e *P.aeruginosa*, não mostrou diferença de mortalidade entre pacientes tratados com colistina quando comparados a outros antibióticos. (37) No entanto, é válido ressaltar o caráter retrospectivo destes estudos, o pequeno número de pacientes incluídos em cada estudo (o maior com 60 pacientes) e heterogeneidade na forma de administração da colistina (2 deles usaram colistina inalatória apenas). Outra meta-análise avaliando apenas infecções por *A. baumannii* incluiu 4 estudos (151 pacientes no total – 94 recebendo polimixinas e 57 controles) que tinham mortalidade como desfecho e não encontrou diferença entre os pacientes tratados com polimixinas e outros antibióticos (na sua maioria beta-lactâmicos). (38) Estudo de coorte pareado por *propensity score* avaliou 84 pacientes em uso de colistina comparados a igual número em uso de tigeciclina em tratamento para pneumonia por *A.baumannii* multirresistentes. Os MICs não foram rotineiramente testados para estas drogas durante o estudo, tendo o tratamento sido assumido como definitivo. Os pacientes do grupo da tigeciclina tiveram uma mortalidade maior (60,7% versus 44%, IC 95% 0,9% – 32,4%, P =0,04). Este resultado só foi significativo, no entanto, nos pacientes com MIC para tigeciclina > 2mg/L (10/12 versus 37/84, P =0,01), mas não naqueles com MIC ≤ 2mg/L (4/10 versus 37/84, P =0,81). Como o MIC não foi rotineiramente testado deve-se interpretar com cautela estes resultados. (39)

Embora na avaliação destas meta-análises a eficácia das polimixinas tenha sido comparável a de outros antibióticos, estudos posteriores mostraram resultados divergentes. Estes estudos incluíram maior número de pacientes e controlaram de forma sistemática para variáveis confundidoras, mostrando pior mortalidade em pacientes que receberam polimixinas comparados a outros antibióticos:

- Paul M *et al.* avaliaram 200 pacientes tratados com colistina comparados a 295 controles (carbapenêmicos e ampi-sulbactan). A colistina foi fator independente para mortalidade (aHR 1,27, IC95%1,01-1,60), inclusive no subgrupo de 220 pacientes bacterêmicos (aHR1,65, IC 95% 1,18-2,31). (24)

- Kvitko *et al* avaliaram 133 pacientes bacterêmicos por *P. aeruginosa* e encontrou maior risco de mortalidade no grupo que recebeu polimixina B, após controle para variáveis confundidoras (aHR1,91, IC 95% 1,05-3,45). (23)

- Rigatto *et al* avaliaram 67 episódios de pneumonia ou traqueobronquite associadas à ventilação mecânica por *P. aeruginosa* ou *A. baumannii*, tendo o tratamento com polimixina B sido fator de risco independente para mortalidade (aHR3,90, IC 95% 1,41–10,76). (25)

- Oliveira *et al.* recentemente avaliaram 118 pacientes com infecção por *K. pneumoniae*, incluindo 78 bacteremias, e tratamento com polimixina foi fator de risco isolado para mortalidade. (22)

Estes resultados são especialmente preocupantes porque mostram um desfecho igual ou muito possivelmente pior no grupo de pacientes tratados com polimixinas, mesmo quando ajustados para variáveis de confusão. Normalmente estas drogas são usadas em um contexto no qual as alternativas antimicrobianas com susceptibilidade são escassas, se não ausentes. Desta forma, otimizar o uso destas drogas tentando atingir a sua máxima eficácia torna-se imperativo.

- Resistência

O maior uso de polimixinas mundialmente tem também levado à emergência de cepas resistentes em diversos países. Embora de forma global a resistência às polimixinas seja inferior a 10%, nas regiões do Mediterrâneo e sudoeste asiático (Coréia e Singapura) taxas mais altas e crescentes de resistência têm sido documentadas. (40) Um levantamento realizado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças entre novembro de 2013 e abril de 2014 em 35 países da Europa para avaliar amostras de *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos mostrou que, dos 197 isolados avaliados na Itália, 178 eram de *K. pneumoniae* com o gene bla_{KPC} e destes 76 (43%) eram resistentes a colistina.(41) Outras avaliações de resistência de cepas de *K. pneumoniae* mostraram taxas de resistência na Grécia de 10,5-20%, na Coréia do Sul de 6,8%, Singapura de 6,3%, e Canada de 2,9%.(42) Na avaliação global do SENTRY (*Antimicrobial Surveillance Program*) a taxa geral de resistência à *K. pneumoniae* foi de 1,5%, tendo na América Latina havido um aumento de 1,3% em 2008 para 3,0% em

2009, acompanhado de uma maior resistência aos carbapenêmicos. Quando avaliadas apenas o subgrupo de *K. pneumoniae* produtores de ESBL (*Extended spectrum beta lactamases*) ou resistentes à carbapenêmicos, a resistência à colistina variou de 4,4-85,2%. Em amostras de unidades de terapia intensiva taxas de resistência entre 20-55,2% foram reportadas.(43) Na última avaliação do Sentry na América Latina (Brasil, Argentina, Chile e México), de 11.811 amostras coletadas entre 2008 e 2010, 5704 (44,5%) eram de bacilos Gram negativos. A maioria destes isolados era proveniente de infecções de corrente sanguínea (52,6%). Em contraste a estes dados, no Brasil, as taxas de susceptibilidade à colistina foram elevadas em todos os grupos de bactérias estudados: *Acinetobacter spp.* (98,3%), *E.coli* (99,8%), *Klebsiella spp* (96,8%), *Enterobacter spp* (83,4%), *P.aeruginosa* (99,4%). (44)

A resistência às polimixinas envolve uma hiperexpressão de mecanismos regulatórios. A ligação de cargas positivas da polimixina com cargas negativas dos fosfatos do lipídeo A do LPS permite a ação da droga. A célula bacteriana é capaz de reduzir a atração eletrostática por modificar a carga da membrana externa através de modificações no lipídeo A, que é regulado para receber cargas positivas. Essa ativação é codificada pelo operon pmrCAB. Outros mecanismos também estão presentes, variando sua expressão nas diferentes espécies de bactérias, como bombas de efluxo, expressão de proteínas que estabilizam a membrana externa ou que se ligam a polimixina impedindo sua ação direta no LPS ou mesmo a perda de LPS.(27) Tentativas de desenvolver moléculas adjuvantes terapêuticas que atuem no bloqueio do operom pmrCAB e reverta a modificação do fosfato no lipídeo A restaurando a sensibilidade as polimixinas foram desenvolvidas com sucesso, embora ainda sem estudos clínicos. (45)

- *Testes de susceptibilidade para polimixinas*

A avaliação de susceptibilidade *in vitro* à colistina é complicada pelas suas propriedades catiônicas e nenhum método de referência foi estabelecido até o momento. Testes comumente usados na rotina laboratorial são:

- Disco de difusão: São padronizados apenas para *P.aeruginosa*. O CLSI (The *Clinical and Laboratory Standards Institute*) fornece os pontos de corte, mas o fabricante dos discos de colistina sugere que qualquer valor dentro do diâmetro de susceptibilidade deve ser confirmado por um método que forneça a MIC. O EUCAST (*European Comitee on Antimicrobial Suceptibility Testing*) não fornece pontos de corte

para disco de difusão com colistina. Mesmo quando avaliando *P. aeruginosa*, foram reportadas taxas de erro maior (falsa resistência) de até 32% quando comparados os resultados do disco de difusão com MIC obtidos por métodos de diluição. (46)

-Etest e TREK sensititre: São métodos classificados como para uso apenas em pesquisa pelo *Food and Drug Administration* (FDA). A confiabilidade dos MICs obtidos por Etest também preocupa, já que taxas de erros maiores até 32% também foram reportadas com este método. A pobre difusão em ágar, assim como no disco de difusão, compromete os resultados neste método. (46)

Diante das dificuldades de interpretação impostas por estes testes, a microdiluição em caldo (*Broth Microdilution- BMD*) se torna o método de referência para realizar o MIC para colistina. No entanto, a colistina tem a capacidade de aderir no plástico (poliestireno) utilizado para o painel de microdiluição, podendo afetar os resultados principalmente quando em concentrações baixas da droga. Uma alternativa para evitar a adsorção da colistina ao poliestireno seria adicionar um surfactante, o polisorbato 80. O CLSI atualmente não recomenda o uso de surfactante no teste de microdiluição para colistina. Variabilidade na quantidade de poliestireno utilizada na confecção da placa de microdiluição pode alterar o grau de adsorção, assim como a quantidade de surfactante utilizado, de forma que uma padronização deste método seria necessária para seu uso prático. Além disso, um efeito sinérgico das polimixinas com o polisorbato 80 pode ocorrer, artificialmente reduzindo a MIC das polimixinas.(46)

Estudo avaliou 107 isolados de bacilos Gram negativos multirresistentes (resistentes a ≥ 3 classes de antimicrobianos). Os isolados eram de cepas de *P.aeruginosa* (60), *A. baumannii* (27), *K. pneumoniae* (20). O estudo consistiu de duas fases: na primeira todos os isolados foram testados com BMD com polisorbato 80 a 0.002%, macrodiluição em tubo (técnica *in-house*) e Etest. Na segunda fase, 50 isolados disponíveis e com MICs altos para colistina foram novamente avaliados com BMD com polisorbato 80, BMD sem polisorbato, diluição em ágar e TREK sensitre. A BMD com polisorbato 80 foi considerado o método de referência e susceptibilidade foi definida como MIC <2 mg/L e resistência como MIC ≥ 4 mg/L. Na fase 1, 19 (17,8%) dos isolados foram resistentes pela BMD com polisorbato. A concordância deste método com a macrodiluição em tubo foi de 83% e com o Etest 61% apenas. Um achado interessante foi que, em concentrações de susceptibilidade ($< 4\mu\text{g/ml}$) os MICs por

Etest apresentavam resultados mais elevados, enquanto que em concentrações $>4 \mu\text{g/ml}$ o Etest mostrou MICs menores que a BMD com polisorbato. Na fase 2, dos 14 isolados resistentes ainda disponíveis para teste, apenas 9 mostraram resistência quando realizado o mesmo método (BMD com polisorbato), sugerindo que 5 isolados perderam o fenótipo de resistência durante o armazenamento. Quando testados em paralelo na fase 2 a BMD com polisorbato mostrou apenas 34% de concordância com a BMD simples, com tendência a MICs mais elevados neste último método. A diluição em ágar mostrou uma concordância de 80% enquanto os painéis de TREK sensititre 62%, este último mostrou MICs mais altos, assim como no ocorreu no Etest. As maiores concordâncias, portanto, foram com diluição em ágar e macrodiluição em tubo, porém estes testes não estão usualmente disponíveis. A BMD com polisorbato parece ser uma opção interessante embora ainda não padronizada pelo CLSI.(46)

Outro estudo avaliou 213 isolados de *Acinetobacter sp.* provenientes de infecções de corrente sanguínea e compararam Etest, Vitek 2 e MicroScan, com diluição em ágar, que foi o padrão ouro deste estudo. Foram utilizados os mesmos pontos de corte de susceptibilidade do estudo anterior. De todas as amostras, 13 (6,1%) demonstraram resistência à colistina, mas nenhum da espécie *A. baumannii*. A concordância do VITEK 2 e Etest com a diluição em Ágar foi $\geq 99\%$ e com MicroScan de 87,3%. (47) Não existem, no entanto, estudos clínicos correlacionando o MIC com a mortalidade, o que dificulta o estabelecimento de um padrão ouro. Os pontos de corte estabelecidos (susceptibilidade $< 2\text{mg/L}$ e resistência $\geq 4 \text{mg/L}$) também têm sido questionados como possivelmente muito altos, uma vez que as concentrações séricas atingidas em doses usuais de colistina variam de 1-2mg/L.

- Efeitos Adversos

O principal efeito adverso de ambas polimixinas é a nefrotoxicidade, que será amplamente discutida no próximo tópico. Além disso, neurotoxicidade tem sido relatada, embora a relação direta com as polimixinas ainda não seja claramente entendida. Estudos em modelo animal mostraram dano mitocondrial e desmielinização de nervos periféricos, tempo e dose dependente, com recuperação da função após suspensão da droga na maior parte dos casos. (48) Parestesias, alteração do estado mental, convulsões e fraqueza muscular foram relatados.(49-51) Parada respiratória

aguda com recuperação após a suspensão da polimixina foi relatada algumas vezes e acredita-se que o mecanismo seja o bloqueio pré-sináptico mioneuronal da liberação de acetilcolina. (52-54)

3.2 Nefrotoxicidade das polimixinas

Nefrotoxicidade é o principal efeito adverso relacionado ao uso das polimixinas, tendo sido o motivo de ter seu uso praticamente abandonado nos anos 70. (55;56) Com a retomada do uso de polimixinas nos anos 90, como droga de resgate em infecções por bacilos Gram negativos multirresistentes, a avaliação dos mecanismos e fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade tem sido questão de grande interesse.

- Estudos in vitro e em modelo animal

Diversos estudos têm tentado elucidar os mecanismos de dano renal causado pelas polimixinas. Estudo em cultura celular de 3 linhagens celulares renais de mamíferos mostrou que dano causado pela polimixina B foi superior ao causado pela gentamicina após 48 horas da inoculação.(57) O mesmo estudo avaliou também o impacto de diferentes regimes posológicos de polimixina B e dano renal em ratos. Um grupo de animais recebeu 20mg/kg a cada 24 horas e o outro 5mg/kg a cada 6 horas (20mg/dia para ambos os grupos). A concentração renal de polimixina B foi avaliada após 24 horas, o dano histológico após 48 horas e a alteração da creatinina sérica diariamente durante os primeiros 10 dias. Maiores concentrações da droga foram encontradas no tecido renal do grupo que recebeu dose fracionada (5mg 6/6 horas) comparada ao grupo de dose única diária, sugerindo que a absorção nas células renais seja um processo não passivo. Menos de 5% da droga foi recuperada na urina. Na avaliação histológica, ambos os grupos apresentaram vacuolização das células tubulares proximais assim como áreas de necrose tubular focal e edema tubular. Essas lesões estavam confinadas à porção externa da medular renal (porção S3 do túbulo proximal) e em menor grau no córtex, poupando glomérulo e túbulos distais. Todas as lesões foram significativamente maiores no grupo que recebeu dose fracionada. (figura 6) Quando avaliada a alteração da creatinina, 6 de 8 ratos tiveram seu valor dobrado após 24 horas no grupo de dose fracionada comparado a 1 de 8 dos que receberam dose única.(57)

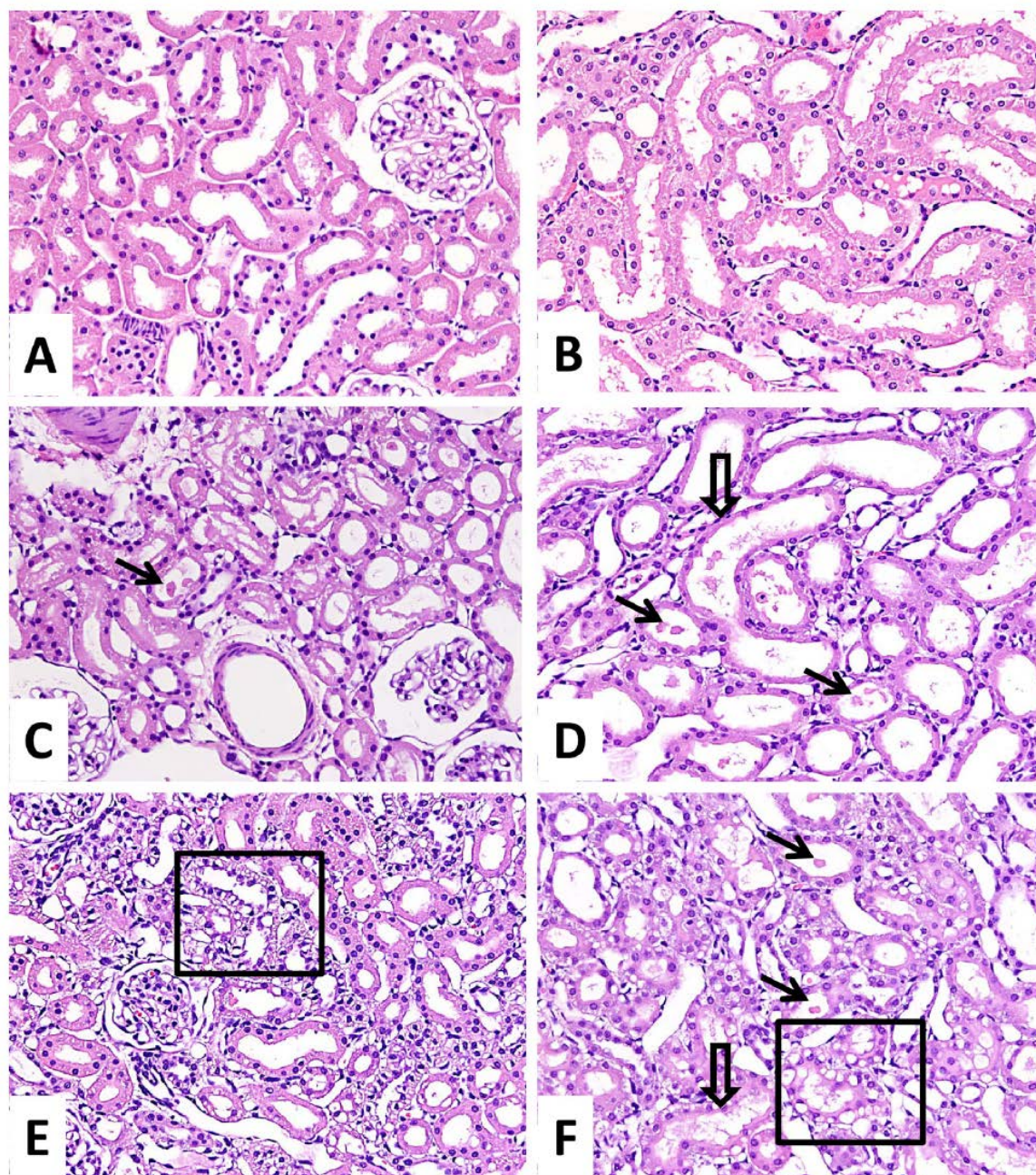


Figura 6. Comparação histológica das lesões renais conforme a posologia da polimixina B. (57)

A) Córtex renal normal B) Medula renal normal C) Córtex renal com dose única diária D) Medula renal com dose única diária E) Córtex renal com dose fracionada E) Medula renal com dose fracionada

Flecha: necrose tubular; flecha aberta: atenuação citoplasmática e quadrado: vacuolização.

Contrastando com estes achados, outro estudo em ratos que comparou infusão de colistina, durante 7 dias, com doses de 20mg/kg de 8/8 horas (equivalente a 4,5mg/kg 12/12 horas em humanos) ou 30mg/kg de 12/12 horas (equivalente a 9 mg/kg em dose única diária), mostrou dano histológico maior nos que receberam regime equivalente a dose única. (58) Diferenças na farmacodinâmica destas drogas pode eventualmente explicar as diferenças encontradas nestes estudos.

Além do efeito da posologia das polimixinas no dano renal, a dose tem sido diretamente implicada no desenvolvimento de nefrotoxicidade. Estudo *in vitro* com células renais de ratos e humanas mostrou o efeito de apoptose celular, quando eram expostas à polimixina B. Isso foi demonstrado pela ativação de caspases (proteínases envolvidas na morte celular programada) e na quebra subsequente de DNA. As taxas de apoptose celular mostraram serem tempo e dose dependentes. Em relação à dose, mínima apoptose foi observada em baixas doses, com um aumento íngreme na curva de apoptose ao elevar-se a dose. Na avaliação do tempo de exposição, um platô nas taxas de apoptose foi atingido após 16 horas de exposição. (59) Estudo em modelo animal confirmou a relação entre dose e nefrotoxicidade através da exposição de ratos a 3 doses diferentes de colistina e avaliação de biomarcadores de lesão renal assim como de avaliação histopatológica. As alterações histopatológicas mostraram ser completamente dose-dependentes, sendo necrose tubular aguda o maior insulto e encontrada no grupo que recebeu doses mais elevadas. A cistatina-C alterou significativamente no grupo exposto a maior dose. Dos biomarcadores urinários, o NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) mostrou uma alteração dose- dependente e escalonada em todos os grupos. (60)

A avaliação do mecanismo de dano tubular é de extremo interesse para entendimento de possíveis intervenções para redução da nefrotoxicidade. Estudo mostrou aumento da concentração de superóxido desmutase no tecido renal de ratos expostos a colistina, sugerindo dano oxidativo como um dos possíveis mecanismos de lesão tubular. (61) Corroborando com estes achados, estudo que avaliou o uso da melatonina (agente com importante efeito antioxidativo) em ratos expostos à colistina mostrou redução da nefrotoxicidade com este agente. Neste estudo, os animais foram divididos em 4 grupos: solução salina, colistina (já na forma ativa, não CMS), melatonina e melatonina administrada 20 minutos antes da dose de colistina. O dano renal foi avaliado pela creatinina plasmática, excreção urinária de N-acetyl--D-glucosaminidase (NAG) e avaliação histopatológica renal. A partir do primeiro dia a

excreção de NAG já foi significativamente maior no grupo da colistina isolada comparada aos outros grupos e esta diferença permaneceu até o dia 6. Consistente com estes achados, apenas no grupo que recebeu colistina houve elevação da creatinina (dia 6) e ocorreu dano histopatológico renal, incluindo necrose tubular e cortical. Não foi demonstrada, no entanto, diferença na super óxido desmutase renal avaliada no dia 7 entre os grupos. Foi encontrada uma menor concentração de colistina renal no grupo que recebeu a droga precedida de melatonina, sugerindo um efeito de radicais livres no metabolismo da colistina.(62)

Reforçando a hipótese do dano oxidativo na patogênese da lesão renal pelas polimixinas, o efeito antioxidante do ácido ascórbico foi avaliado em modelo animal com ratos. A combinação de colistina e ácido ascórbico comparada à colistina isoladamente resultou em menor excreção de NAG urinário em 24 horas e menor número de células apoptóticas na cultura celular. Além disso, assim como no estudo anterior, dano histopatológico renal ocorreu apenas no grupo que recebeu colistina isoladamente. Houve maior excreção da droga não modificada na urina no grupo que a recebeu apenas colistina e a concentração no tecido renal foi semelhante entre os grupos. Estes dados sugerem que o mecanismo protetor seja mediado primariamente pela inibição de radicais livres e não pela inibição da reabsorção tubular da colistina, uma vez que esperaríamos maior concentração de colistina urinária no grupo do ácido ascórbico (oposto ao ocorrido) e menor concentração renal da droga, caso a segunda hipótese fosse verdadeira (63)

Considerando o papel do estresse oxidativo na lesão renal pelas polimixinas, estudo em ratos avaliou o papel da hemi-oxigenase-1 na proteção da nefrotoxicidade induzida pela polimixina B. Sabe-se que as espécies reativas de oxigênio causam dano celular e como consequência induzem a formação de mecanismos de proteção como as heme-oxigenases. As heme-oxigenases são enzimas que degradam o grupo heme de algumas proteínas, como a hemoglobina e a mioglobina. O grupo heme, por sua vez, atua como citoprotetor. A hemi-oxigenase-1 é uma isoforma de hemi-oxigenase extensamente estudada pelo seu efeito anti-oxidante. Neste estudo os ratos que receberam polimixina B isoladamente apresentaram redução do *clearance* de creatinina e aumentaram a excreção de peróxidos e substâncias ácido reativas na urina. Além disso, a polimixina B reduziu a atividade da catalase (enzima antioxidante). O grupo que recebeu a hemi-oxigenase-1 apresentou aumento da atividade anti-oxidante da catalase e significativa menor nefrotoxicidade.(64)

Também com o objetivo de reduzir o dano oxidativo, trabalho que avaliou o extrato de proantocianidina da semente de uva administrado associado à colistina mostrou redução das caspases, da síntese de óxido nítrico e também menor dano histopatológico e menor aumento de creatinina em relação a colistina isoladamente.(65)

Estudos recentes propuseram-se a avaliar os principais caminhos de indução de apoptose celular dos túbulos proximais provocados pelas polimixinas, através de modelo animal com ratos. Foi demonstrada ativação das caspases (3,9 e 8) de forma dose dependente, assim como da expressão de receptores extrínsecos plasmáticos da família FasL que ativa as vias de morte celular. Além disso, foi demonstrado, também de forma concentração-tempo dependente, a deformação das mitocôndrias, perda do seu potencial de membrana e formação de superóxidos. A terceira via de apoptose, envolvendo o retículo endoplasmático, também mostrou estar envolvida. Em conclusão, tanto a via extrínseca de receptores FasL como a via intrínseca mitocondrial ativam, em última análise, a cascata de proteinases (neste caso as caspases) , além da ativação da via do retículo endoplasmático – todos contribuindo para a morte celular. (28;48)

- *Estudos Clínicos*

Diversos estudos clínicos têm avaliado as taxas de nefrotoxicidade relacionadas ao uso das polimixinas, assim como os fatores de risco para o seu desenvolvimento. Existe, no entanto, muita heterogeneidade nos relatos por uma série de fatores:

- A definição de nefrotoxicidade em estudos mais antigos, na maioria das vezes, não era baseada em escores padronizados e seguiam definições individuais de cada autor, dificultando a comparação dos resultados na literatura.(4)

- Vários estudos utilizaram doses de polimixina B ajustada para a função renal. Com o entendimento mais recente da PK das polimixinas sabe-se que o *clearance* da polimixina B é predominantemente não renal, não há, portanto, indicação de administrar doses menores se perda de função renal. Estas subdoses podem ter subestimado o potencial nefrotóxico da droga. (3-5;10;11)

- Os estudos não utilizaram de forma sistemática a dose de ataque atualmente recomendada, especialmente para a colistina (devido à lenta conversão do CMS para a forma ativa da droga). O uso da dose de ataque pode eventualmente comprometer os índices de nefrotoxicidade. (3;5;12-19)

- A forma de avaliar a dose administrada de polimixina: dose total, dose média diária e dose por peso não foi sistematicamente avaliada, dificultando a interpretação como estas variáveis influenciaram no desfecho de toxicidade renal.

Nesta revisão, serão descritos os principais estudos que avaliaram nefrotoxicidade da colistina e da polimixina B, a partir de critérios padronizados. Os principais critérios utilizados na prática são o de RIFLE (*Risk, Injury, Failure and End stage renal disease*) (7) e o de AKIN (*Acute Kidney Injury Network*)(8). Ambos os critérios levam em consideração a alteração da creatinina plasmática ao longo do tratamento e o volume de diurese. O RIFLE leva também em consideração o decréscimo da taxa de filtração glomerular ao longo do tratamento (Figura 7). Ambos os critérios apresentam boa correlação entre si e com mortalidade, sendo mais específicos quanto maior a categoria de dano renal atingida. O uso destes critérios no seu formato modificado (sem avaliação da diurese) também foi validado em estudos clínicos. (9)

Embora a utilização dos critérios de RIFLE e AKIN tenha representado um avanço na forma de avaliar nefrotoxicidade, sabe-se, através de estudos em modelo animal, que a alteração da creatinina plasmática é um marcador tardio de lesão renal e ocorre apenas quando há dano histopatológico identificado.(60) Os biomarcadores urinários têm ganhado importância como forma de detecção precoce de toxicidade. Experimento em modelo animal, com ratos expostos a polimixinas mostrou que os biomarcadores KIM-1 e α -GST (específicos para lesão do túbulo proximal) são mais sensíveis (99,8%) e específicos (95%) comparado a sensibilidade de 88,8% da creatinina. Na análise de curva ROC o KIM-1 foi o que mostrou maior acurácia para detecção de lesão renal.(66) Não foram feitos, até o momento, estudos em humanos em uso de polimixinas avaliando estes marcadores.(3;17)

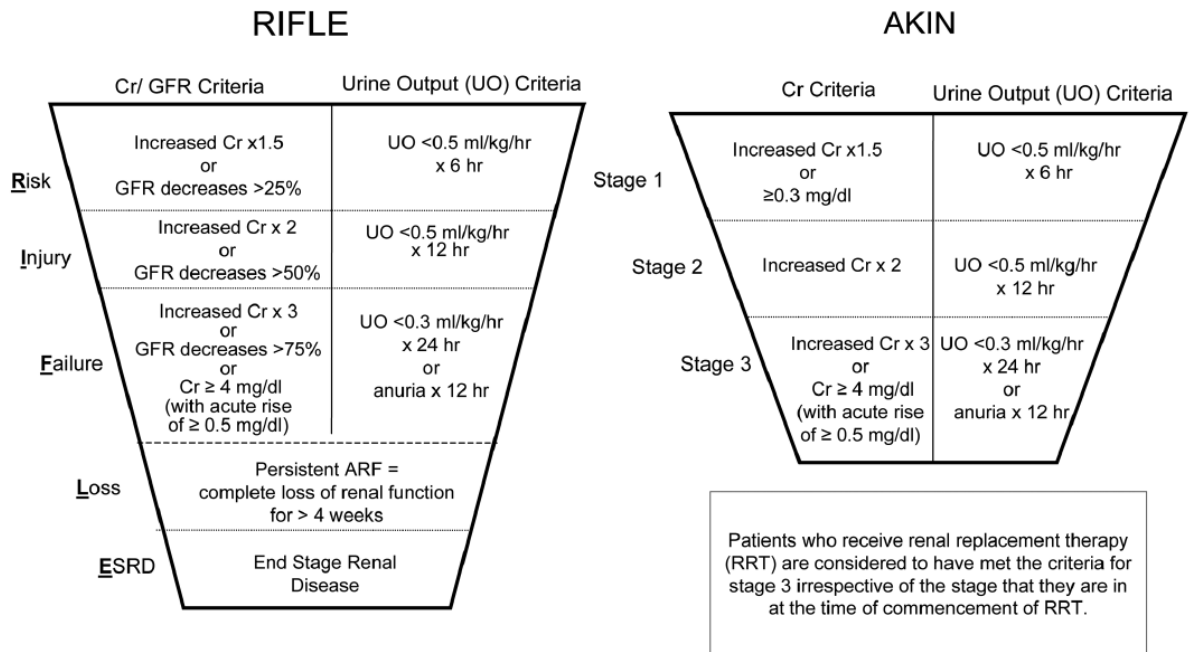


Figura 7. Escores de RIFLE e AKIN para lesão renal aguda. Cr, *creatinine* ou creatinina; GFR, *glomerular filtration rate* ou taxa de filtração glomerular, AFR, *acute renal failure* ou falência renal aguda, UO, *urinary output* ou débito urinário. (9)

- Estudos com critérios padronizados de nefrotoxicidade avaliando colistina

A colistina, por ser a polimixina mais utilizada mundialmente, é também a que tem mais relatos da literatura. Os principais estudos avaliando nefrotoxicidade com colistina estão resumidos na Figura 8. A forma de relatar as doses de colistina varia entre os estudos: $1 \cdot 10^5$ UI equivale a 30mg de colistina base, que corresponde a 80mg da pró-droga colistimetato- desta forma a dose de colistina base equivale a 2,7 vezes o seu valor em mg de colistimetato.(67) Nestes estudos, as taxas de nefrotoxicidade variaram de 15,7% a 60,4% e de falência renal de 2 a 38% (mediana de 13%). A grande variabilidade destes resultados pode ser em parte explicada pelas diferentes doses e regimes posológicos usados em cada estudo. Fatores de risco independentes para desenvolvimento de nefrotoxicidade encontrados foram: maior tempo de tratamento (15), maior dose de colistina (5;12;13;16), uso concomitante de outras drogas nefrotóxicas (3;16;18;19), idade (3;5;14;19), maiores escores de gravidade/comorbidade (APACHE, SAPS, Charlson) (3;17;18), choque séptico(3;17) e comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, insuficiência renal crônica e diabetes mellitus)(3;14) , além de uma concentração vale de colistina > 3,3 mg/L no dia 7 e > 2,42 mg/L no fim do tratamento (18).

Figura 8. Estudos avaliando nefrototoxicidade da colistina utilizando critério padronizado

		Colistina		
Ref.	Ano / Número de pacientes	Dose Recebida	Duração da terapia (dias)	Pacientes com lesão renal por critérios de RIFLE ou AKIN
Hartzell <i>et al</i> (15)	2003-2007/ 66	Dose média diária 4,3 ±1,2 mg/kg; Dose total cumulativa 5512 ± 3421 mg IRA: 4,4 ±1,2 mg/kg/dia; Não IRA: 4,2 ±1,2 mg/kg/dia	Total: 15,8 ± 9,2 IRA: 19,3 ±9,8 Sem IRA: 13,0 ± 7,6	40 (45%) - RIFLE R-3 (20%); I-10 (15%); F-7 (11%); L-0 (0); E-0 (0)
DeRyke <i>et al</i> (13)	2006-2008/ 30	Dose média 3,9 ±1,2 mg/kg/dia; Dose média cumulativa: 2.559 ±2.088 mg IRA: 4,2 (3,4–5,0) mg/kg/dia; Não IRA: 4,0 (2,7–4,6) mg/kg/dia	Total: 8 (3 - 24) IRA: 7 (5–16) Sem IRA: 9 (5–12)	10 (33%) - RIFLE R: 3 (10%);I: 5 (16,6%);F: 2 (6,6%); L:0 ; E: 0
Pogue <i>et al</i> (16)	2005-2009/ 126	Média IRA: 5,3 mg/kg /dia; Não IRA: 3,95 mg/kg/dia Mediana : IRA 5,48 mg/kg/dia; Não IRA 3,85 mg/kg /dia	Não descrito	54 (43%)-RIFLE R (13%); I (17%); F (13%);L (0%); E (0%)
Gauthier <i>a et al</i> (14)	2008- 2010/42	Dose média, dia 1: 2,01 mg/kg/dia IRA: 1,81 mg/kg/dia; Não IRA: 2,19 mg/kg/dia	Total 7 (5–12) IRA: 7 (5–11) Não IRA: 7,5 (5–13)	20 (48%)-RIFLE R (15%);I (5%); F (80%) ;L (0%); E (0%)
Rocco <i>et al</i> (17)	2009- 2011/147	Dose ataque: 4 10 ⁵ UI Dose em UI/kg/dia de peso ideal CrCl>70 mL/min: 130.000 UI (fracionada em 8/8hs); ClCr 70-30 mL/min :1/3 da dose padrão(fracionada em 12/12hs); ClCr <30 mL/min :1/3 da dose padrão (dose única)	Total: Mediana de 11 dias	CMS isolado (90 pacientes) R(6%) ;I (7%); F(22%); L (0%); E (0%) CMS + outras drogas nefrotóxicas (57 pacientes) R(7%) ;I (12%);F(26%) ;L (0%); E (0%)
Sorli <i>et al</i> (18)	2010- 2011/102	CMS dose diária: 5,21 ± 2,24 10 ⁵ UI CMS dose total: 100,54 ± 92,8 10 ⁵ UI Pacientes recebendo diferentes doses de CMS:1 10 ⁵ UI 8/8horas :28 (27,4%); 2 10 ⁵ UI 8/8horas :42 (41,2%) ; 3 10 ⁵ UI 8/8horas 16 (15,7%) ;doses ajustadas para ClCr 16 (15,7%)	Total: 19,57 ± 15,4	R: 16 (15,7%); I:8 (7,8%); F:2 (2%); L:0 (0%); E:0(0%)
Akajagbor <i>et al</i> (3)	2008-2009/ 106	Dose media IRA: 2.84 mg/kg- peso real e 3.88 mg/kg –peso ideal; Não IRA: 2.95 mg/kg- peso real e 3.85 mg/kg –peso ideal	Média: 12,5 ± 11,9	(60.4%) RIFLE R (16%); I (18,9%); F (17,9%);L (6,6%); E (0,9%)

Tuon <i>et al</i> (12)	2009-2011/ 36	9 10 ⁵ UI (9–13.5)	Mediana de tempo para IRA: 8 [6–12]	14/36 (38.9%) AKIN 1- 5/14 (35.7%); 2- 6/14 (42.9%); 3- 3/14 (21.4%).
Phe K <i>et al</i> (5)	2006 -2011/ 121	275,2±106,8 mg/dia 4,1 ± 1,0mg/kg/dia de peso real 4,6 ±1,8 mg/kg/dia de peso ideal	Média: 10.5 ± 9.7	41 (33,9%) RIFLE R 17 (14%); I 14 (11,6%); F10 (8,3%); L 0 (0%); E 0 (0%)
Temocin <i>et al</i> (19)	2010- 2012/129	Nos pacientes com IRA. Dose até o desenvolvimento de IRA: Média-1591,9 ± 751 mg ; Mediana- 1350 mg	Total: 9±3,4 IRA: 9,5±3,3; Não IRA: 9,5±3,4	62 (48,1%) RIFLE R 33 (53,3%); I 13 (20,9%); F 16 (25,8%); L 0 (0%); E 0 (0%)

Resultados expressos como média± desvio padrão, mediana (intervalo interquartil)

IRA, insuficiência renal aguda; CMS, colistina metassulfato; *ClCr*, Clearance de creatinina; UI, unidades internacionais

- Estudos com critérios padronizados de nefrotoxicidade avaliando polimixina B

Os principais estudos avaliando nefrotoxicidade em pacientes em uso de polimixina B estão resumidos na Figura 9. Também há variabilidade na forma de descrição das doses de polimixina B: 1mg equivale a 10.000UI. As taxas de nefrotoxicidade da polimixina B variaram de 18,7% a 60% e falência renal de 0 a 14,6% (mediana de 9%). Vale notar que a maioria dos estudos utilizou doses inferiores às recomendações usuais (2-3mg/kg/dia) (33), o que pode ter subestimado o potencial de nefrotoxicidade da droga. Fatores de risco independentes para nefrotoxicidade encontrados nestes estudos foram muito semelhantes aos encontrados nos estudos com colistina: maior dose (4;10;12), maior tempo de tratamento(4;5), idade (11), uso concomitante de drogas nefrotóxicas (especialmente vancomicina)(3;4;10), uso de drogas vasoativas, comorbidades (hipertensão arterial sistêmica) e maior escore APACHE II (3), maior peso (4) e recebimento de contraste nefrotóxico (10).

Figura 9. Estudos avaliando nefrotoxicidade da polimixina B utilizando critérios padronizados

Ref.	Ano / Número de pacientes	Polimixina B		Pacientes com lesão renal por critérios de RIFLE ou AKIN
		Dose Recebida	Duração da terapia (dias)	
Kubin <i>et al</i> (4)	2010/ 73	Dose media diária 1,8mg/kg (1,3-2,4) Dose media total 18mg/kg (8-32)	Mediana 11 (5-16)	44 (60%) RIFLE O número de pacientes nas categorias R, I e F não foi especificado. Nenhum atingiu L ou E.
Akajagbor <i>et al</i> (3)	2008-2009/ 67	IRA: 2,1mg/kg/dia Não IRA: 1,7mg/kg/dia	Media 11,7±11,4	28 (41,8%) RIFLE R: 13,4%;I: 19,4%; F: 9,0%;L: 0%; E: 0%
Nandha <i>et al</i> (11)	2009-2010/ 32	IRA: 10,67±3,71 x 10 ⁵ UI/dia Não IRA: 12,92±5,1 x 10 ⁵ UI/dia	IRA: 7,69±5,27 Não IRA: 6,33±3,26	6 (18,7%) RIFLE R: 15,6%; I: 3,1%; F: 0%; L: 0%; E: 0%
Tuon <i>et al</i> (12)	2009-2011/ 96	Mediana 200mg/dia (100-200mg)	Tempo médio para IRA 6,5 (5,5-11,5)	20 (20,8%) AKIN 1: 11,5%; 2: 8,3%; 3: 1%
Phe K <i>et al</i> (5)	2006 -2011/ 104	Média 1,5± 0,5mg/kg/dia por peso real e 1,8± 0,6 mg/kg/dia por peso ideal	Média 11,7±7,2	24 (23,1%) RIFLE R: 4,8%; I: 6,7%; F: 11,5%; L: 0%; E: 0%
Drubovskaya <i>et al</i> (10)	2007-2013/ 192	1,5±0,5 mg/kg/dia de peso real 1,8±0,6 mg/kg/dia de peso ideal	Média de 11,7±7,7	88 (45,8%) RIFLE R 37 (19,3%); I 23 (12,0%); F 28 (14,6%); L 0 (0%); E 0 (0%)

Resultados expressos como média± desvio padrão, mediana (intervalo interquartil)

IRA, insuficiência renal aguda; CMS, colistina metassulfato; *CICr*, Clearance de creatinina

- Nefrotoxicidade de polimixina B comparada à colistina

A comparação de polimixina B com colistina em relação à nefrotoxicidade é de extrema importância para a decisão terapêutica e pode ser o fator decisivo da escolha da droga uma vez que, em termos de eficácia, estas drogas aparentemente se equivalem. Três estudos clínicos recentes compararam as taxas de nefrotoxicidade entre colistina e polimixina B utilizando critérios padronizados.

- Akajagbor *et al* avaliaram 106 pacientes em uso de colistina comparados a 67 em uso de polimixina B, na sua maioria (89%) internados em unidades de terapia intensiva, para tratamento de *P.aeruginosa* ou *A. baumannii* de diferentes sítios de infecção. Nefrotoxicidade ocorreu em 60,4% dos pacientes tratados com colistina e em 41,8% dos pacientes tratados com polimixina B, $P=0,02$. Esta diferença permaneceu significativa após ajuste para idade, APACHE II, uso de vasopressor, hipertensão, *ClCr* de base, e uso concomitante de drogas nefrotóxicas, sugerindo maior risco de nefrotoxicidade com o uso de colistina, (aHR, 2,27; $P = 0,002$). (3)

- Tuon *et al* avaliaram 96 pacientes recebendo polimixina B e 36 recebendo colistina. Diferente do estudo anterior, apenas uma minoria destes pacientes (9,8%) estavam internados em unidade de terapia intensiva no início do tratamento. A incidência de nefrotoxicidade foi de 20,8% (20/96) no grupo que recebeu polimixina B e 38,9%(14/36) no grupo que recebeu colistina (RR=1,30, IC 95% 0,98–1,71; $P =0,06$). Embora tenha havido uma incidência maior de nefrotoxicidade no grupo da colistina, essa diferença não chegou a ser estatisticamente significativa. Na análise multivariada, apenas dose $\geq 2 \times 10^5$ UI de polimixina B ou $>9 \times 10^5$ UI de colistina foi associada de forma independente à nefrotoxicidade ($P = 0,04$). Avaliando apenas os pacientes que apresentaram nefrotoxicidade, o uso de colistina foi associada de forma significativa ao estágio 3 de AKIN: 1/20 (5.0%) no grupo polimixina B e 3/14 (21.4%) no grupo colistina.(12)

- Phe *et al* avaliaram 121 pacientes em uso de colistina e 104 em uso de polimixina B. Na análise por intenção de tratar, nefrotoxicidade ocorreu em 24 pacientes (23.1%) que receberam polimixina B e em 41 pacientes (33.9%) que receberam colistina ($P= 0,08$). Nos pacientes sem fibrose cística, (83 recebendo colistina e 104 recebendo polimixina B), nefrotoxicidade ocorreu em 24 pacientes (23,1%) com polimixina B e 40 pacientes (48.2%) colistina ($P= 0,001$). Os pacientes foram posteriormente pareados por duração da terapia (3 dias de margem para pareamento) e idade (5 anos de margem para pareamento), ficando 38 em cada grupo. Colistina apresentou significativa maior mortalidade na análise pareada (55,3% versus 21,1%; $P= 0,003$). (5)

Embora ainda sejam poucos os estudos que compararam diretamente as duas polimixinas utilizando escores padronizados, os dados apontam para uma maior toxicidade renal da colistina quando comparada à polimixina B. No entanto, doses de polimixina B no limite inferior das recomendações atuais (tabela2) e o caráter

observacional destes estudos podem ser fatores de confusão para o desfecho de nefrotoxicidade, especialmente nos estágios iniciais, impedindo conclusões definitivas.

-Nefrotoxicidade e mortalidade

A relação entre nefrotoxicidade por polimixinas com o aumento da mortalidade ainda é controversa, com resultados discordantes entre os estudos. Recentemente alguns trabalhos sugeriram uma relação de desenvolvimento de injúria renal e mortalidade. (12;14;20;21) Todos estes estudos, no entanto, foram delineados para avaliar primariamente nefrotoxicidade por polimixinas, de forma que diversos fatores de confusão (como infecção não confirmada, tempo para início do antimicrobiano após isolamento da bactéria entre outros) não foram sistematicamente controlados. Estudo que comparou pacientes que apresentaram toxicidade renal nos primeiros 7 dias de uso da colistina, comparados aos que a apresentaram após este período, mostrou significativa maior mortalidade nos que tiveram dano renal precoce. (68) Estudos delineados primariamente para avaliar o desfecho mortalidade são necessários para uma conclusão mais segura sobre o papel da nefrotoxicidade no risco de morte.

3.3 Terapia de Associação

As taxas de mortalidade de pacientes infectados por BGN multiresistentes são extremamente elevadas, com taxas em torno de 50%, mesmo em pacientes com susceptibilidade a polimixinas (12;20;23;25) Estudos recentes que compararam a eficácia terapêutica de polimixinas com outros antibióticos mostraram pior desfecho clínico nos pacientes que receberam esta classe de drogas.(22-25) Além disso, a resistência às polimixinas tem se tornado uma realidade preocupante neste cenário.(42)

A associação terapêutica de drogas visando seu sinergismo e potencialização da capacidade bactericida tem sido estudada como forma de melhorar o manejo destas infecções. Estudos *in vitro*, em modelo animal e em humanos têm sido conduzidos em busca de avaliar o benefício terapêutico da associação de drogas com resultados ainda conflitantes.

-Estudos in vitro

Estudos *in vitro* avaliam a capacidade bactericida das associações antibióticas através de diversos métodos, sendo os principais: *time-kill*, Chekerboard e avaliação da

capacidade bactericida. Para análise do time-kill, sinergismo é definido como redução de 2- log nas UFC quando expostas à combinação de antimicrobianos, comparada a atividade bactericida do antimicrobiano mais ativo isoladamente. Atividade bactericida é definida como redução e 3- log das UFC quando expostas ao esquema combinado comparado à monoterapia. Antagonismo é definido como o aumento de 2-log nas UFC quando exposto à terapia combinada, comparado a atividade bactericida do antimicrobiano monoterapia. A avaliação da atividade bactericida é realizada após o período de 24 horas. Outro método de avaliar a interação dos antibióticos é por “*checkerboard*”, expresso como: soma do MIC de cada droga combinada, dividida pelo MIC da droga quando administrada isoladamente, gerando o índice FICE. Um índice $\leq 0,5$ caracteriza sinergismo, $>0,5$ e ≤ 1 efeito aditivo, >1 indiferente e > 4 efeito antagônico.(69) As polimixinas foram avaliadas *in vitro* em combinação com diversas classes de antibióticos:

- Polimixinas e beta-lactâmicos

A associação mais estudada é a de polimixinas com beta-lactâmicos. A combinação de colistina ou polimixina B tem sido avaliada especialmente com carbapenêmicos- tendo a maior parte dos estudos avaliado doripenem, em cepas com resistência a estes antibióticos. Meta-análise incluindo 59 estudos avaliou a combinação de polimixinas com carbapenêmicos em modelos “*in vitro*”. (69) Em 40 estudos que utilizaram *time-kill* como método o benefício da associação ocorreu independente da bactéria estudada (69):

- *A. baumannii*- Sinergismo de 77% (IC95% 64-87%) e antagonismo de 8%(IC95% 5-13%) foram encontrados na terapia combinada. A taxa de atividade bactericida aumentou de 26% (IC95% 12-47%) para 74% (IC95% 58-85%) com a combinação de antimicrobianos, comparada ao melhor agente isolado em monoterapia.
- *P. aeruginosa* - Sinergismo de 50% (IC95% 30-69%) e antagonismo 11% (IC95% 5-21%) foram encontrados na terapia combinada. A taxa de atividade bactericida aumentou de 10% (IC95% 5-21%) para 49% (IC95% 31-68%) com a combinação de antimicrobianos, comparada ao melhor agente isolado em monoterapia.

- *K. pneumoniae* - Sinergismo de 44% (IC95% 30-59%) e antagonismo de 15% (IC95% 9-25%) foram encontrados na terapia combinada. A taxa de atividade bactericida aumentou de 18% (IC95% 10-29%) para 63% (IC95% 50-74%) com a combinação de antimicrobianos, comparada ao melhor agente isolado em monoterapia.

A maior parte dos estudos avaliou a colistina. De forma geral os estudos que avaliaram polimixina B mostraram resultados similares ou até discretamente superiores a colistina, no caso da *K. pneumoniae*. O efeito sinérgico permaneceu quando avaliado cepas sensíveis à polimixina e resistentes aos carbapenêmicos, independente da bactéria estudada, com taxas variando de 55-71%. Dentre os carbapenêmicos estudados doripenem foi o que demonstrou maior atividade sinérgica de modo geral, seguido por meropenem e imipenem. A exceção destes achados, os estudos com *P.aeruginosa* mostraram maior atividade sinérgica do imipenem em relação ao meropenem. Quando avaliado cepas resistentes às polimixinas e aos carbapenêmicos a capacidade bactericida com a combinação aumentou de 14% (IC95%7-27%) para 43% (IC95%21-68%). Um total de 23 estudos avaliaram sinergismo por microdiluição de “checkerboard”. Taxas de sinergismo ou efeito aditivo (índice < 1) de 71% para *A. baumannii* e 29% para *P.aeruginosa* foram encontradas. (69) Outro aspecto importante da terapia de combinação foi reduzir as taxas de resistência observadas frequentemente na monoterapia com polimixina (69;70) Estudo avaliou a combinação de colistina e doripenem para o tratamento de infecções associadas à biofilme em modelo in vitro com *P.aeruginosa*. A combinação demonstrou efeito sinérgico que perdurou por até 72 horas além ter sido associado a não desenvolvimento de resistência à colistina, observado na monoterapia.(71)

Combinação de polimixinas com outros beta-lactâmicos não carbapenêmicos foi avaliada com taxas de sinergismo bem mais modestas: cefoperazone/sulbactam (sinergismo em 2 de 50 isolados), piperacilina/sulbactam (sinergismo em 1 de 50 isolados).(72) Em outro estudo a terapia combinada de beta-lactâmicos com polimixina mostrou redução do MIC inicial para a polimixina, para o beta-lactâmico ou para ambos em até 35,29% das associações com ceftazidime, até 41% com cefepime e 35,29% com piperacilina. Embora a redução do MIC tenha ocorrido com os três beta-lactâmicos testados, em nenhum deles foi atingido o índice $\leq 0,5$ caracterizando sinergismo. (73)

- Polimixinas e tigeciclina

A tigeciclina, assim como as polimixinas, tem sido uma opção remanescente para tratamento de bacilos Gram negativos multirresistentes. A associação de polimixinas com tigeciclina foi avaliada com resultados favoráveis. Modelo farmacodinâmico de infecção por *A. baumannii* resistente a carbapênemicos foi exposto à dose equivalente à 1mg/kg de polimixina B e 100mg ou 200mg de tigeciclina a cada 12 horas, isoladamente e em combinação. Polimixina B isoladamente reduziu $2,05 \pm 0,68 \log_{10}$ UFC/ml, enquanto todos os isolados cresceram em níveis semelhantes aos controles na presença de tigeciclina em monoterapia. A combinação de polimixina B com tigeciclina 200mg 12/12 levou a maior redução do inóculo bacteriano quando comparado a polimixina B isoladamente ($3,31 \pm 0,71$, $P < 0,001$), assim como redução significativa na curva de recrescimento. Não houve benefício significativo da combinação de polimixina B com tigeciclina na dose de 100mg 12/12 horas.(74) Estudos anteriores já haviam mostrado taxas de sinergismo entre 12-29% dos isolados expostos a esta associação, mas nenhum deles havia simulado o efeito da dose em que há exposição em humanos.(72;75;76)

- Polimixinas e rifampicina

A associação de polimixina e rifampicina também demonstrou em diversos estudos ser uma opção de possível sinergismo.(75;77;78) Estudo avaliando o *time-kill* da polimixina B combinada à rifampicina em cepas de *A.baumannii* resistente à carbapenêmicos mostrou efeito sinérgico em 13 de 31 isolados (41,9%), efeito este superior ao encontrado com a combinação de polimixina B e tigeciclina (sinérgico em 9 de 31 isolados) ou de tigeciclina com rifampicina (sinérgico em 7 de 31 isolados). (75) Experimento realizado simulando um modelo de PK/PD com inóculos de 10^6 e 10^8 UFC/ml de *A.baumannii*, com cepas colistina sensíveis e outras colistina resistentes, e utilizando doses escalonadas de colistina (0,5, 2 e 5mg/L) , avaliou o seu efeito quando combinada à rifampicina. A combinação mostrou maior atividade bactericida no baixo inóculo com todas as concentrações de colistina e também no alto inóculo quando usadas concentrações de colistina de 2 e 5 mg/L. Na cepa colistina resistente a combinação reduziu de 7,5 para 2,5 \log_{10} UFC/ml no baixo inóculo e de 5,0 para 2,5 \log_{10} UFC/ml no alto inóculo. A emergência de resistência à colistina, na cepa inicialmente sensível, foi completamente inibida pela combinação.(77) O efeito

sinérgico em cepas bacterianas resistentes à colistina foi também avaliado com *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC. De diversas combinações testadas, colistina + rifampicina foi a única a mostrar efeito sinérgico bacteriostático em todas as amostras (13 de 13) com redução do MIC de colistina para abaixo do limite de susceptibilidade (≤ 2 mg/L) em 7 de 13 cepas. Efeito sinérgico bactericida (com redução de $3 \log_{10}$ UFC/ml) foi visto em 8 de 13 cepas.(78) A avaliação geral destes dados mostra que a combinação com rifampicina mostrou ser uma das mais promissoras em termos de efeito sinérgico.

-Polimixinas e quinolonas

Estudo recente avaliou a associação de levofloxacina com colistina em isolados de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. Efeito sinérgico desta associação foi encontrado em 90% dos isolados de *P.aeruginosa* após 4 horas e em 84,8% dos isolados de *A. baumannii* após 6 horas. O sinergismo ocorreu independente do MIC para colistina e levofloxacina.(79)

- Polimixinas e vancomicina

A vancomicina é um glicopeptídeo com atividade para Gram positivos. Devido ao tamanho de sua molécula e comportamento hidrofóbico ela não ultrapassa a membrana externa dos Gram negativos. As polimixinas, por sua vez, agem no lipídeo A da membrana lipopolissacarídica, levando a ruptura citoplasmática e aumento da permeabilidade da membrana externa. Este aumento de permeabilidade aumentaria a chance de penetração dos glicopeptídeos. Estudo foi realizado para avaliar a combinação de vancomicina e colistina em cepas de *A. baumannii* multirresistentes, porém colistina sensíveis. Sinergismo foi detectado em 4 das 6 cepas estudadas. Todos os 34 isolados testados apresentavam MIC > 256 mg/L quando em monoterapia com vancomicina. Ao adicionar colistina 0,5 mg/L o MIC reduziu em todas as amostras, variando de 0.016-48 mg/L (MIC de susceptibilidade para vancomicina definido em 3,8mg/L). Com colistina isoladamente o recrescimento ocorreu em todas as cepas em 4 horas. A adição de vancomicina impediu o recrescimento em 48horas em todas, com exceção de uma cepa.(80) Estudo mais recente avaliou o efeito desta combinação em 3 cepas de *A.baumannii* resistentes à colistina. Efeito sinérgico com índice FICI $\leq 0,5$ foi visto nas 3 cepas e atividade bactericida completa em 2 delas, mostrando o potencial benefício desta associação mesmo em cepas resistentes às polimixinas.(81)

- Polimixinas e daptomicina

A associação de colistina com daptomicina foi avaliada em 1 estudo utilizando cepas de *A. baumannii*. O benefício da combinação foi detectado apenas em isolados sensíveis à colistina. A combinação reduziu o MIC da daptomicina de 4-128 vezes e efeito sinérgico foi visto em 16 (53.3%) dos isolados avaliados em até 24 horas. Isoladamente a colistina foi bactericida em 24 horas contra apenas 2 isolados, quando combinada à daptomicina a atividade bactericida no mesmo período ocorreu em 9 isolados.(82)

A avaliação dos estudos *in vitro*, de modo geral, mostra resultados muito promissores sob vários aspectos em relação à associação de diversas classes de antibióticos às polimixinas: aumento da capacidade bactericida; redução do MIC com as associações podendo eventualmente possibilitar a redução de doses para níveis menos tóxicos; menor seleção e cepas resistentes e supressão do recrescimento bacteriano. No entanto a reprodução destes achados em estudos em modelo animal e em estudos clínicos, levando em conta a complexidade dos sistemas biológicos é de fundamental importância para conclusões quanto ao real benefício destas associações.

- Estudos em modelo animal

Poucos estudos avaliaram em modelo animal o benefício das principais terapias de associação testadas *in vitro*. Em estudo experimental com um modelo de pneumonia em ratos por cepas de *A.baumannii* resistente a carbapenêmicos, a associação de colistina + rifampicina não mostrou benefício em relação a rifampicina isoladamente na redução da contagem de colônias bacterianas no pulmão e no modelo de bacteremia. (83) Dois estudos que avaliaram a associação de tigeciclina e colistina em modelos de infecção em ratos por *K. pneumoniae* e *A. baumannii* falharam em mostrar benefício desta associação.

Os estudos em modelo animal, embora sugerindo ausência de benefício das associações com polimixinas, não permitem conclusões sobre o assunto pelo seu escasso número e heterogênea forma de avaliação das combinações e da resposta terapêutica.

- *Estudos Clínicos*

Estudos clínicos tentaram avaliar o impacto da terapia combinada no tratamento de infecções por bactérias multirresistentes.

Uma revisão de 55 casos da literatura de infecções por *K. pneumoniae* produtoras de KPC mostrou que nos 18 casos em que polimixinas foram usadas o sucesso terapêutico foi maior quando combinada a um segundo agente (73%), na maioria dos casos tigeciclina, quando comparada à monoterapia (14%). (84) Estudo posterior avaliou apenas bacteremias por *K. pneumoniae* produtoras de KPC, analisando fatores relacionados a mortalidade intrahospitalar. Cinquenta e três pacientes foram incluídos, destes 35 receberam terapia antimicrobiana com susceptibilidade *in vitro*: 20 receberam terapia combinada (9 casos- colistina e tigeciclina) e 15 monoterapia. Nenhum dos pacientes do grupo de terapia combinada morreu comparado a 7 óbitos (46,7%) no grupo de monoterapia (P=0.001). A mortalidade do grupo que recebeu colistina em monoterapia foi semelhante ao do grupo com terapia inapropriada, além de ter sido detectado emergência de resistência a esta droga durante o tratamento.(85) Outro estudo também comparou a mortalidade em 28 dias em 41 pacientes em uso de monoterapia ou terapia combinada para tratamento de bacteremia por *K. pneumoniae* produtoras de KPC. Dos 25 pacientes que sobreviveram, 13 (60%) receberam terapia combinada. Em contraste, dos 16 pacientes que foram a óbito, apenas 2 (12,5%) haviam recebido terapia combinada (P=0,001). Dos 15 casos que receberam terapia combinada, 5 combinaram polimixina com carbapenêmico, 1 polimixina e tigeciclina e 1 polimixina e fluorquinolona. Os demais casos utilizaram combinações sem polimixina no esquema.(86) Outra coorte retrospectiva avaliou 125 pacientes com bacteremia por *K. pneumoniae* produtores de KPC. A mortalidade geral do estudo foi de 41,6%, significativamente maior no grupo que recebeu monoterapia em comparação a terapia combinada: 25/46 (54,3%) versus 27/79 (34,1%), respectivamente, P=0,002. Os esquemas de associação mais utilizados foram colistina e tigeciclina (23 pacientes) e colistina , tigeciclina e meropenem(16 pacientes). Na análise multivariada o esquema triplo (colistina , tigeciclina e meropenem) foi o de menor mortalidade, com 12,5% (2/16) de óbitos em 30 dias, e o único que permaneceu significativamente protetor na análise multivariada (OR 0,11; IC 95%.02–0,69, P =0,01). Ao analisar as 36 associações que envolviam carbapenêmicos, no caso meropenem, os melhores resultados foram nas associações cujo MIC para a droga era ≤ 4 mg/L, embora o

benefício tenha permanecido até MICs ≥ 16 mg/L. (87) Finalmente, outra coorte de 205 pacientes com infecções de corrente sanguínea por *K. pneumoniae* (79,5% destas produtoras de KPC) também encontrou menor mortalidade na terapia combinada: 44,4% versus 27,2%, $P= 0,018$. Na análise multivariada, monoterapia permaneceu como fator independente de risco para mortalidade (aHR 2,08, IC 95% 1,23- 3,51; $P 0,006$). As menores taxas de mortalidade foram encontradas em regimes combinados com carbapenêmicos. Quando associando outra droga com sensibilidade *in vitro*, os pacientes tratados com carbapenêmicos com MIC ≤ 8 mg/L apresentaram mortalidade de 19,3%, enquanto os que tinham MIC > 8 apresentaram 35,5% de mortalidade, reforçando os achados do estudo anterior quanto ao benefício de associação com carbapenêmicos especialmente se MICs mais baixos. (88) Estes dados contrastam com estudo recente que avaliou 118 pacientes com infecções por *K. pneumoniae* produtoras de KPC, sendo 78 bacteremias. Monoterapia foi usada em 57 pacientes e terapia combinada em 61- não foi encontrada diferença estatisticamente significativa de mortalidade entre os grupos na análise multivariada. (22)

Em contraste com os resultados majoritariamente favoráveis dos estudos clínicos em infecções por *Klebsiella pneumoniae*, os estudos que avaliaram bacilos Gram negativos não-fermentadores falharam até o momento em mostrar benefício estatisticamente significativo da terapia antimicrobiana combinada. Dois ensaios clínicos randomizados avaliaram o efeito da combinação de colistina e rifampicina com colistina isoladamente em infecções por *A. baumannii* XDR. O primeiro avaliou 43 pacientes com pneumonia associada à ventilação que receberam colistina 300mg/dia (ajustada conforme função renal) em monoterapia ou associada a rifampicina 600mg/dia por sonda nasogástrica. A mortalidade foi de 14 em 22 (63,6%) no grupo de monoterapia comparado a 8 de 21 (38,1%) no grupo de terapia combinada ($P=0,171$). Houve maior erradicação microbiológica no grupo da terapia combinada ($P=0,029$). Embora o estudo não tenha tido poder para mostrar um benefício estatisticamente significativo desta combinação, os dados sugerem claramente um melhor desfecho no grupo de terapia combinada.(89) Posteriormente outro ensaio clínico randomizado multicêntrico avaliou 210 pacientes criticamente enfermos que foram alocados para receber colistina intravenosa na dose de 2×10^5 UI a cada 8 horas isoladamente ou associada a 600mg de rifampicina intravenosa a cada 12 horas. A mortalidade em 30

dias não diferiu entre os grupos ($P=0,97$), embora a erradicação bacteriana tenha se mostrado superior no grupo da terapia combinada ($P=0,034$).⁽⁹⁰⁾

Outras combinações antibióticas foram também avaliadas no tratamento de infecções por *A.baumannii*. Estudo retrospectivo realizado em 27 centros da Turquia incluiu 36 pacientes que receberam colistina em monoterapia e 214 que receberam terapia combinada. A combinação mais frequente foi com carbapenêmicos (47,7%). Não houve diferença no desfecho primário (mortalidade em 14 dias) entre os grupos ($P=0,14$) nas análises uni e multivariada e antes e após pareamento por *propensity score*. Foi encontrada erradicação microbiológica significativamente maior no grupo de terapia combinada. Além disso, houve menor mortalidade intrahospitalar no grupo de terapia combinada na análise univariada (52,3% versus 72,2%; $P=0,03$). Quando comparadas as associações: colistina e carbapenêmico, colistina e sulbactam, colistina e outro agente, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na mortalidade entre os grupos.⁽⁹¹⁾ Outro estudo incluindo 101 pacientes com sepse por *A.baumannii*, dos quais 68 (67,3%) receberam monoterapia (colistina ou carbapenêmicos) e 33 (32,7%) terapia combinada (mais frequentemente colistina e tigeiclina) não mostrou diferença na mortalidade em 30 dias entre os grupos. Neste estudo foram consideradas terapias combinadas apenas quando houvesse ação para ambos os agentes *in vitro*, ou, quando a associação fosse feita com carbapenêmicos com um MIC < 32 mg/L. ⁽⁹²⁾

O benefício da associação de glicopeptídeos e colistina foi avaliado em 2 estudos retrospectivos.^(93;94) Em apenas um destes estudos foi encontrado efeito protetor significativo desta associação na análise multivariada de pacientes que sobreviveram por período ≥ 5 dias após o início do tratamento. ⁽⁹⁴⁾

O caráter observacional destes estudos, somado à variabilidade no desfecho primário avaliado e principalmente a heterogeneidade na definição de terapia combinada, com inclusão de diferentes combinações e classes de drogas, limitam conclusões definitivas quanto a real ausência de benefício da terapia de associação.

4 JUSTIFICATIVA

Considerando 1) o crescente uso das polimixinas pelo aumento mundialmente importante na prevalência de bacilos Gram negativos somente sensíveis a essa classe de drogas; 2) o ainda escasso entendimento dos fatores relacionados à nefrotoxicidade e a sua incidência; 3) o fato de maior parte dos estudos terem avaliado apenas colistina, com ainda poucos dados em relação à polimixina B e de estudos comparativos entre as drogas, considerando que diferenças de farmacocinética entre elas possam influenciar no potencial de nefrotoxicidade; e 4) a sugestão de eficácia clínica inferior das polimixinas em relação a outros antibióticos no tratamento de infecções graves por bacilos Gram negativos multirresistentes com o potencial benefício do uso de terapias combinadas; é de grande importância um estudo para avaliar adequadamente a nefrotoxicidade das polimixina B comparada a colistina utilizando uma classificação padronizada e avaliando os fatores que contribuem para a mesma, além da resposta clínica a estas drogas quando utilizadas para diferentes sítios de infecção.

5 OBJETIVOS

Avaliar comparativamente a nefrotoxicidade e desfechos clínicos em pacientes tratados com polimixina B e colistina .

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar nefrotoxicidade através do critério de RIFLE em pacientes em uso de polimixina B ou colistina.
2. Identificar fatores de risco para nefrotoxicidade, definida pelo critério de RIFLE, em pacientes em uso de polimixina B ou colistina.
3. Avaliar a mortalidade em 30 dias de pacientes tratados com polimixina B ou colistina.
4. Avaliar o impacto da nefrotoxicidade na mortalidade em 30 dias.

6. REFERÊNCIAS

- (1) Zavascki AP. Polymyxins for the treatment of extensively-drug-resistant Gram-negative bacteria: from pharmacokinetics to bedside. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014 May;12(5):531-3.
- (2) Abdelraouf K, He J, Ledesma KR, Hu M, Tam VH. Pharmacokinetics and renal disposition of polymyxin B in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 Nov;56(11):5724-7.
- (3) Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, Dakum P, Charurat ME, Gilliam BL. Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* 2013 Nov;57(9):1300-3.
- (4) 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 Jul;65(1):80-7.
- (5) Phe K, Lee Y, McDanel PM, Prasad N, Yin T, Figueroa DA, et al. In vitro assessment and multicenter cohort study of comparative nephrotoxicity rates associated with colistimethate versus polymyxin B therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2014 May;58(5):2740-6.
- (6) Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis* 2014 Jul 1;59(1):88-94.
- (7) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004 Aug;8(4):R204-R212.
- (8) Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(2):R31.
- (9) Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care* 2009;13(3):211.
- (10) Dubrovskaya Y, Prasad N, Lee Y, Esaian D, Figueroa DA, Tam VH. Risk factors for nephrotoxicity onset associated with polymyxin B therapy. *J Antimicrob Chemother* 2015 Feb 3.
- (11) Nandha R, Sekhri K, Mandal AK. To study the clinical efficacy and nephrotoxicity along with the risk factors for acute kidney injury associated with parenteral polymyxin B. *Indian J Crit Care Med* 2013 Sep;17(5):283-7.
- (12) Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, Kamei LK, Rocha JL, Zavascki AP. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int J Antimicrob Agents* 2014 Apr;43(4):349-52.

- (13) Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Oct;54(10):4503-5.
- (14) Gauthier TP, Wolowich WR, Reddy A, Cano E, Abbo L, Smith LB. Incidence and predictors of nephrotoxicity associated with intravenous colistin in overweight and obese patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 May;56(5):2392-6.
- (15) Hartzell JD, Neff R, Ake J, Howard R, Olson S, Paolino K, et al. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin (colistimethate sodium) treatment at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* 2009 Jun 15;48(12):1724-8.
- (16) 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 Nov;53(9):879-84.
- (17) Rocco M, Montini L, Alessandri E, Venditti M, Laderchi A, De PG, et al. Risk factors for acute kidney injury in critically ill patients receiving high intravenous doses of colistin methanesulfonate and/or other nephrotoxic antibiotics: a retrospective cohort study. *Crit Care* 2013;17(4):R174.
- (18) Sorli L, Luque S, Grau S, Berenguer N, Segura C, Montero MM, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis* 2013;13:380.
- (19) Temocin F, Erdinc S, Tulek N, Demirelli M, Bulut C, Ertem G. Colistin- Associated Nephrotoxicity and Risk Factors. *Jpn J Infect Dis* 2015 Feb 13.
- (20) 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 Oct;65(10):2231-7.
- (21) Mendes CA, Cordeiro JA, Burdmann EA. Prevalence and risk factors for acute kidney injury associated with parenteral polymyxin B use. *Ann Pharmacother* 2009 Dec;43(12):1948-55.
- (22) de Oliveira MS, de Assis DB, Freire MP, Boas do Prado GV, Machado AS, Abdala E, et al. Treatment of KPC-producing Enterobacteriaceae: suboptimal efficacy of polymyxins. *Clin Microbiol Infect* 2015 Feb;21(2):179-7.
- (23) Kvitko CH, Rigatto MH, Moro AL, Zavascki AP. Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2011 Jan;66(1):175-9.
- (24) Paul M, Bishara J, Levcovich A, Chowers M, Goldberg E, Singer P, et al. Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2010 May;65(5):1019-27.
- (25) 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 Apr;41(2):321-8.
- (26) Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013 Dec;11(12):1333-53.

- (27) Yu Z, Qin W, Lin J, Fang S, Qiu J. Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. *Biomed Res Int* 2015;2015:679109.
- (28) Azad MA, Roberts KD, Yu HH, Liu B, Schofield AV, James SA, et al. Significant accumulation of polymyxin in single renal tubular cells: a medicinal chemistry and triple correlative microscopy approach. *Anal Chem* 2015 Feb 3;87(3):1590-5.
- (29) 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 Sep;54(9):3783-9.
- (30) 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 Mar;54(3):1117-24.
- (31) 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 Sep;65(9):1984-90.
- (32) 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 Jul;55(7):3284-94.
- (33) Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* 2013 Aug;57(4):524-31.
- (34) Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, et al. Pharmacokinetics of polymyxin B in patients on continuous venovenous haemodialysis. *J Antimicrob Chemother* 2013 Mar;68(3):674-7.
- (35) Oliveira MS, Prado GV, Costa SF, Grinbaum RS, Levin AS. Polymyxin B and colistimethate are comparable as to efficacy and renal toxicity. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009 Dec;65(4):431-4.
- (36) Ni W, Cai X, Wei C, Di X, Cui J, Wang R, et al. Efficacy of polymyxins in the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a systematic review and meta-analysis. *Braz J Infect Dis* 2015 Mar;19(2):170-80.
- (37) 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 Mar 1;54(5):670-80.
- (38) Liu Q, Li W, Feng Y, Tao C. Efficacy and safety of polymyxins for the treatment of *Acinetobacter baumannii* infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(6):e98091.
- (39) Chuang YC, Cheng CY, Sheng WH, Sun HY, Wang JT, Chen YC, et al. Effectiveness of tigecycline-based versus colistin- based therapy for treatment of

- pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a critical setting: a matched cohort analysis. *BMC Infect Dis* 2014;14:102.
- (40) Bialvaei AZ, Samadi KH. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 2015 Apr;31(4):707-21.
 - (41) Monaco M, Giani T, Raffone M, Arena F, Garcia-Fernandez A, Pollini S, et al. Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Euro Surveill* 2014;19(42).
 - (42) Bialvaei AZ, Samadi KH. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 2015 Apr;31(4):707-21.
 - (43) Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009-2012. *Int J Antimicrob Agents* 2014 Apr;43(4):328-34.
 - (44) Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012 Aug;73(4):354-60.
 - (45) Harris TL, Worthington RJ, Hittle LE, Zurawski DV, Ernst RK, Melander C. Small molecule downregulation of PmrAB reverses lipid A modification and breaks colistin resistance. *ACS Chem Biol* 2014 Jan 17;9(1):122-7.
 - (46) Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 2013 Jun;51(6):1678-84.
 - (47) Lee SY, Shin JH, Lee K, Joo MY, Park KH, Shin MG, et al. Comparison of the Vitek 2, MicroScan, and Etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of bloodstream isolates of *Acinetobacter* species from a Korean university hospital. *J Clin Microbiol* 2013 Jun;51(6):1924-6.
 - (48) Dai C, Li J, Li J. New insight in colistin induced neurotoxicity with the mitochondrial dysfunction in mice central nervous tissues. *Exp Toxicol Pathol* 2013 Sep;65(6):941-8.
 - (49) Holloway KP, Roupael NG, Wells JB, King MD, Blumberg HM. Polymyxin B and doxycycline use in patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in the intensive care unit. *Ann Pharmacother* 2006 Nov;40(11):1939-45.
 - (50) Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM, Pancholi P, Della-Latta P, Hammer SM, et al. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2004 Aug;54(2):566-9.
 - (51) Weinstein L, Doan TL, Smith MA. Neurotoxicity in patients treated with intravenous polymyxin B: Two case reports. *Am J Health Syst Pharm* 2009 Feb 15;66(4):345-7.
 - (52) Pohlmann G. Respiratory arrest associated with intravenous administration of polymyxin B sulfate. *JAMA* 1966 Apr 11;196(2):181-3.

- (53) Shrestha A, Soriano SM, Song M, Chihara S. Intravenous colistin-induced acute respiratory failure: A case report and a review of literature. *Int J Crit Illn Inj Sci* 2014 Jul;4(3):266-70.
- (54) Wunsch H, Moitra VK, Patel M, Dzierba AL. Polymyxin use associated with respiratory arrest. *Chest* 2012 Feb;141(2):515-7.
- (55) Price DJ, Graham DI. Effects of large doses of colistin sulphomethate sodium on renal function. *Br Med J* 1970 Nov 28;4(5734):525-7.
- (56) Tallgren LG, Liewendahl K, Kuhlbaeck B. The Therapeutic Success and Nephrotoxicity of Colistin in Acute and Chronic Nephropathies with impaired Renal Function. *Acta Med Scand* 1965 Jun;177:717-28.
- (57) 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 Sep;56(9):4625-9.
- (58) Wallace SJ, Li J, Nation RL, Rayner CR, Taylor D, Middleton D, et al. Subacute toxicity of colistin methanesulfonate in rats: comparison of various intravenous dosage regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2008 Mar;52(3):1159-61.
- (59) Azad MA, Finnin BA, Poudyal A, Davis K, Li J, Hill PA, et al. Polymyxin B induces apoptosis in kidney proximal tubular cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2013 Jun 24.
- (60) Ghilissi Z, Hakim A, Mnif H, Ayadi FM, Zeghal K, Rebai T, et al. Evaluation of colistin nephrotoxicity administered at different doses in the rat model. *Ren Fail* 2013 Sep;35(8):1130-5.
- (61) Ozyilmaz E, Ebinc FA, Derici U, Gulbahar O, Goktas G, Elmas C, et al. Could nephrotoxicity due to colistin be ameliorated with the use of N-acetylcysteine? *Intensive Care Med* 2011 Jan;37(1):141-6.
- (62) Yousef JM, Chen G, Hill PA, Nation RL, Li J. Melatonin attenuates colistin-induced nephrotoxicity in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 Sep;55(9):4044-9.
- (63) Yousef JM, Chen G, Hill PA, Nation RL, Li J. Ascorbic acid protects against the nephrotoxicity and apoptosis caused by colistin and affects its pharmacokinetics. *J Antimicrob Chemother* 2012 Feb;67(2):452-9.
- (64) Dezoti FC, Watanabe M, Vattimo MF. Role of heme oxygenase-1 in polymyxin B-induced nephrotoxicity in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 Oct;56(10):5082-7.
- (65) Ozkan G, Ulusoy S, Orem A, Alkanat M, Mungan S, Yulug E, et al. How does colistin-induced nephropathy develop and can it be treated? *Antimicrob Agents Chemother* 2013 Aug;57(8):3463-9.
- (66) Keirstead ND, Wagoner MP, Bentley P, Blais M, Brown C, Cheatham L, et al. Early prediction of polymyxin-induced nephrotoxicity with next-generation urinary kidney injury biomarkers. *Toxicol Sci* 2014 Feb;137(2):278-91.
- (67) Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis* 2014 Oct 21.

- (68) Ko H, Jeon M, Choo E, Lee E, Kim T, Jun JB, et al. Early acute kidney injury is a risk factor that predicts mortality in patients treated with colistin. *Nephron Clin Pract* 2011;117(3):c284-c288.
- (69) Zusman O, Avni T, Leibovici L, Adler A, Friberg L, Stergiopoulou T, et al. Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013 Oct;57(10):5104-11.
- (70) Ly NS, Bulitta JB, Rao GG, Landersdorfer CB, Holden PN, Forrest A, et al. Colistin and doripenem combinations against *Pseudomonas aeruginosa*: profiling the time course of synergistic killing and prevention of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2015 May;70(5):1434-42.
- (71) Lora-Tamayo J, Murillo O, Bergen PJ, Nation RL, Poudyal A, Luo X, et al. Activity of colistin combined with doripenem at clinically relevant concentrations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro dynamic biofilm model. *J Antimicrob Chemother* 2014 Sep;69(9):2434-42.
- (72) Karaoglan I, Zer Y, Bosnak VK, Mete AO, Namiduru M. In vitro synergistic activity of colistin with tigecycline or beta-lactam antibiotic/beta-lactamase inhibitor combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Int Med Res* 2013 Dec;41(6):1830-7.
- (73) Mitsugui CS, Tognim MC, Cardoso CL, Carrara-Marroni FE, Botelho GL. In vitro activity of polymyxins in combination with beta-lactams against clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2011 Nov;38(5):447-50.
- (74) Hagihara M, Housman ST, Nicolau DP, Kuti JL. In vitro pharmacodynamics of polymyxin B and tigecycline alone and in combination against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(2):874-9.
- (75) Lim TP, Lee W, Tan TY, Sasikala S, Teo J, Hsu LY, et al. Effective antibiotics in combination against extreme drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibility to polymyxin B. *PLoS One* 2011;6(12):e28177.
- (76) Ni W, Cui J, Liang B, Cai Y, Bai N, Cai X, et al. In vitro effects of tigecycline in combination with colistin (polymyxin E) and sulbactam against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antibiot (Tokyo)* 2013 Dec;66(12):705-8.
- (77) Lee HJ, Bergen PJ, Bulitta JB, Tsuji B, Forrest A, Nation RL, et al. Synergistic activity of colistin and rifampin combination against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2013 Aug;57(8):3738-45.
- (78) Tascini C, Tagliaferri E, Giani T, Leonildi A, Flammini S, Casini B, et al. Synergistic activity of colistin plus rifampin against colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013 Aug;57(8):3990-3.
- (79) Safarika A, Galani I, Pistiki A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Time-kill effect of levofloxacin on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: synergism with imipenem and colistin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015 Feb;34(2):317-23.

- (80) Gordon NC, Png K, Wareham DW. Potent synergy and sustained bactericidal activity of a vancomycin-colistin combination versus multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Dec;54(12):5316-22.
- (81) O'Hara JA, Ambe LA, Casella LG, Townsend BM, Pelletier MR, Ernst RK, et al. Activities of vancomycin-containing regimens against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2013 May;57(5):2103-8.
- (82) Galani I, Orlandou K, Moraitou H, Petrikkos G, Souli M. Colistin/daptomycin: an unconventional antimicrobial combination synergistic in vitro against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2014 Apr;43(4):370-4.
- (83) Song JY, Cheong HJ, Lee J, Sung AK, Kim WJ. Efficacy of monotherapy and combined antibiotic therapy for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia in an immunosuppressed mouse model. *Int J Antimicrob Agents* 2009 Jan;33(1):33-9.
- (84) Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother* 2010 Jun;65(6):1119-25.
- (85) Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect* 2011 Dec;17(12):1798-803.
- (86) Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 Apr;56(4):2108-13.
- (87) Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012 Oct;55(7):943-50.
- (88) Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(4):2322-8.
- (89) Aydemir H, Akduman D, Piskin N, Comert F, Horuz E, Terzi A, et al. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Epidemiol Infect* 2013 Jun;141(6):1214-22.
- (90) Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De CM, Murino P, et al. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis* 2013 Aug;57(3):349-58.
- (91) Batirel A, Balkan II, Karabay O, Agalar C, Akalin S, Alici O, et al. Comparison of colistin-carbapenem, colistin-sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014 Aug;33(8):1311-22.

- (92) Lopez-Cortes LE, Cisneros JM, Fernandez-Cuenca F, Bou G, Tomas M, Garnacho-Montero J, et al. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: analysis of a multicentre prospective cohort. *J Antimicrob Chemother* 2014 Nov;69(11):3119-26.
- (93) Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Gutierrez-Pizarraya A, Espejo-Gutierrez de TE, Artero-Gonzalez ML, Corcia-Palomo Y, et al. Clinical efficacy and safety of the combination of colistin plus vancomycin for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Chemotherapy* 2013;59(3):225-31.
- (94) Petrosillo N, Giannella M, Antonelli M, Antonini M, Barsic B, Belancic L, et al. Clinical experience of colistin-glycopeptide combination in critically ill patients infected with Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(2):851-8.

7. ARTIGO 1

“Risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with polymyxin B and influence of AKI on mortality: a multicenter prospective cohort study”

Artigo publicado no periódico: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2015; 70: 1552 – 1557

**Risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with
polymyxin B and influence of AKI on mortality: a multicenter
prospective cohort study**

**Maria Helena RIGATTO,¹ Tainá F. BEHLE,² Diego R. FALCI,³ Thiela
FREITAS,³ Natane T. LOPES,⁴ Mariá NUNES,⁴ Leonardo W. COSTA,⁴
Alexandre P. ZAVASCKI^{5,*}**

¹Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ²Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St., Porto Alegre, 90.035-903, Brazil; ³Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil; ⁴Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ⁵ Department of Internal Medicine, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre Brazil.

Running Title: AKI with polymyxin B: risk and mortality

Keywords: polymyxin B; nephrotoxicity; acute kidney injury; mortality; colistin

*Corresponding Author: Alexandre P. Zavascki. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90.035-903, Brazil.

Phone/fax: +55 (51) 33598152, e-mail: azavascki@hcpa.ufrgs.br

Abstract

Objectives: To assess risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with polymyxin B, a last resort antibiotic against Gram-negative bacteria, with focus on dose, and to determine the impact of AKI on mortality of these patients.

Methods: A multicenter prospective cohort study was performed including patients ≥ 18 -years treated with intravenous polymyxin B for ≥ 48 hours. The primary outcome was AKI defined by RIFLE criteria. Secondary outcome were 30-day mortality and Failure stage of AKI. Multivariate analysis with Cox regression model was performed. The probability of developing AKI was determined in a logistic regression model.

Results: Four-hundred and ten patients were included. AKI occurred in 189 (46.1%) patients. Polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was a risk factor for AKI: adjusted Hazard Ratio (HR) 1.95, 95% CI 1.31-2.89, $P=0.01$. Higher weight and age were also independently associated with AKI. The probability of developing AKI significantly increases with doses between 150-199mg/day, regardless the patients' weight, with no significant increase with higher doses. Higher weight also increases the risk in patients receiving the same daily doses. AKI was barely associated with increased risk for 30-day mortality (adjusted HR 1.35, 95% CI 0.99-1.85, $P=0.06$), while ≥ 150 mg/day did not increase this risk despite its association with AKI.

Conclusions: Polymyxin B total dose is highly related with the risk of AKI, regardless of patient's weight. Thirty-day mortality tended to be higher in patients who developed AKI. The relation among dose, AKI and mortality must be further investigated in studies specifically designed to evaluate this latter outcome.

Introduction

Infections by extensively-drug-resistant Gram-negative bacteria are a growing problem worldwide posing severe therapeutic challenges to clinicians.^{1,2} Owing to the lack of new antibiotics, polymyxins (polymyxin B and colistin) gained special importance in the last fifteen years since they are the last-resort treatment against most infections by these organisms.³⁻⁶ Nephrotoxicity, however, is the major adverse effect of these antibiotics determining further difficulties in the management of these infections.⁷⁻¹⁶

Acute kidney injury (AKI) rates in patients receiving polymyxins widely range from 20 to 60%, even using standardized criteria such as RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss, End stage renal disease) or AKIN (Acute Kidney Injury Network) to define AKI.⁸⁻¹⁷ This broad range actually indicates that there are many determinants of these rates. Indeed, several risk factors have been identified, mostly in studies addressing colistin methanesulfonate (CMS)/colistin,^{7, 11-14} with less studies evaluating polymyxin B.^{8, 10, 11, 17} However, major differences in the pharmacokinetics (PK) of CMS/colistin and polymyxins B preclude direct extrapolation of clinical data from one to another.^{18,19} Additionally, previous studies were all retrospective and some have limited number of patients, both factors impair a more in deep analysis of determinants of AKI in these patients.

Notably, dose, one of the most important risk factor for AKI^{7, 8, 10, 12-14, 17, 18} have been addressed by different forms in each study. Most analyzed calculated dose by mg (or international units)/kg^{7, 8, 13, 14, 18} while others considered actual received doses,^{8,10,12,17} but the relation between calculated doses and actual doses, along with some patients characteristics, such as baseline creatinine clearance and weight, have not been assessed so far. In addition, previous studies with polymyxin B evaluated risk

factors for AKI in patients receiving adjusted doses for decreased creatinine clearance, a practice no longer recommended since total polymyxin B clearance is not affected by renal function.¹⁹ This fact may potentially underestimate AKI rates and decrease the impact of dose on such outcome.

Finally, it has been shown that minimal increases in creatinine are associated with worse outcomes, including mortality.²⁰ Nonetheless, the influence of AKI in patients receiving polymyxins, commonly for life-threatening infections, has not yet been investigated.

In this study we aim to evaluate risk factors for AKI in patients treated with polymyxin B, with particular emphasis on dose, and to assess the influence of developing this adverse event during therapy on mortality.

Patients and methods

Study design, settings and participants

This was a multicenter prospective cohort study performed at three tertiary-care teaching hospitals in Porto Alegre, Brazil. All patients aged ≥ 18 years who received intravenous polymyxin B from 1 February 2013 to 31 January 2014 were eligible for the cohort. Patients were excluded if they received polymyxin B for a period < 48 h, were on renal replacement therapy, had a creatinine clearance ≤ 10 mL/min at the beginning of polymyxin B therapy or did not have serum creatinine collected after the beginning of polymyxin B therapy. In patients who had more than one treatment with polymyxin B only the first course was analyzed. Therapy was at the discretion of the attendant physician. Institutional protocols recommended doses of 1.5 to 3.0 mg/kg/day in two

divided administrations. Loading doses and dose adjustment according to creatinine clearance were not recommended. The study was approved by the local ethics committee of each hospital.

Variables and definitions

The primary outcome was the development of AKI during treatment with polymyxin B, assessed by RIFLE criteria.²¹ Baseline creatinine was that measured on the day that polymyxin B was initiated. Secondary outcomes were 30-day mortality and the development of renal failure by RIFLE. Subgroup analysis, *a priori* defined, were performed in patients who have and have not been admitted at intensive care unit (ICU) in the beginning of therapy and in those with baseline creatinine clearance above and below 60mL/min.

Variables potentially related to AKI were assessed, including: age; gender; weight; body mass index (BMI); baseline creatinine clearance (estimated by Cockcroft- Gault formula); Charlson comorbidity score²² and the presence of specific comorbid conditions associated with AKI, such as diabetes and cardiovascular disease; use of other nephrotoxic drugs or nephrotoxic contrast before the development of AKI; ICU admission, use of vasoactive drugs and mechanical ventilation at the beginning of polymyxin B therapy.

Dosages were evaluated as average daily dose of polymyxin B (sum of total daily dose each day divided by the number of days until the outcome: development of any degree of AKI or the end of therapy for those who have not developed AKI) and daily dose by mg/kg/day. Average daily doses were further categorized in ≥ 150 mg/day and ≥ 200 mg/day, according to the incidence of AKI in each dose group (see below) and to the finding of a previous study.¹⁷

Statistical analysis

All the statistical analysis was carried out using SPSS for windows, version 18.0. Bivariate analysis was performed separately for each of the variables. *P* values were calculated using the χ^2 or Fisher's exact test for categorical variables and the Student's *t*-test or the Wilcoxon rank-sum test for continuous variables. Covariates were compared between patients that developed or not any degree of AKI by RIFLE criteria, those with a *P* value ≤ 0.2 were included in a Cox proportional hazards model in a forward stepwise regression. Variables were checked for confounding and collinearity. Variables with a *P* value ≤ 0.10 were maintained in the model. Death and end of polymyxin B therapy were the censoring events in the Cox regression model. The probability of presenting any AKI according to the dose of polymyxin B was determined in a logistic regression model, including all variables of the final Cox regression model.

To evaluate the effect of AKI in 30-day mortality, a Cox proportional hazards model was performed, including variables with a *P* value ≤ 0.2 in bivariate analysis for the outcome. Bivariate and multivariate analysis was also performed to assess risk factors for renal failure by RIFLE.

Proportional hazards assumption was graphically checked inspecting the $\log[-\log(S)]$ plot. Tests for interactions were not performed. All tests were two-tailed and a *P* value ≤ 0.05 was considered significant.

Results

A total of 686 patients received polymyxin B during the study period. Of these, 276 were excluded, resulting in a total of 410 patients included for analyses (Figure1). The

mean age of patients was 64.0 ± 16.9 years, 58.7% were male and the mean weight was 66.2 ± 16.2 kg. The presumed or confirmed sites of infection were: respiratory tract (264, 64.4%), bloodstream infections (47, 11.5%), urinary tract (45, 11.0%), abdominal (31, 7.6%), skin and soft tissue (11, 2.7%), other sites (20, 4.9%) and sepsis without a defined primary site (28, 6.8%). Two-hundred forty-seven (60.2%) patients had bacterial isolates recovered in cultures requested by the attendant physician; the remaining 163 (39.8%) had negative culture results or this exam was not requested. The most commonly recovered bacteria was *Acinetobacter baumannii* (150, 60.7%), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (45, 18.2%), *Klebsiella pneumonia* (42, 17.0%), *Escherichia coli* (5, 2.0%) and *Enterobacter aerogenes* (5, 2.0%). The mean polymyxin B daily dose by mg/kg was 2.4 ± 0.69 and a median average daily dose of 150mg (Interquartile Range [IQR], 140-187). The follow-up of patients under treatment with polymyxin B ranged from 2 to 45 days.

Any degree of AKI occurred in 189 (46.1%) patients; of these, 92 (48.7%) were classified as Risk, 45 (23.8%) as Injury and 52 (27.5%) as Failure. The median time to develop AKI was 6 days (IQR, 3-10). The incidence of AKI according to median average daily dose was: 32.0% (33 of 103) in patients receiving <150 , 54.0% (109 of 202) in those receiving 150-199 and 44.8% (47 of 105) in those receiving ≥ 200 mg, $P=0.001$. The incidence of AKI did not significantly differ among different categories of average doses by mg/kg/day: 53 (28.0%) with <2 mg/kg/day, 57 (30.2%) with 2-2.49 mg/kg/day, 52 (27.0%) with 2.5-2.99 mg/kg/day and 28 (14.8%) with ≥ 3 mg/kg/day), $P=0.16$. The mean \pm SD of dose by mg/kg/day according to RIFLE classes were: no AKI= 2.48 ± 0.70 , Risk= 2.36 ± 0.72 , Injury= 2.30 ± 0.65 and Failure= 2.42 ± 0.62 , $P=0.31$

The bivariate analysis for AKI is shown in Table 1. In multivariate analysis, polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was an independent risk factor for AKI, as older age

and higher weight (Table 2). Changing weight for BMI or adding polymyxin B daily dose by mg/kg/day did not significantly change the final results. The predicted probability of developing any degree of AKI, according to polymyxin B dose and weight, is shown in Figure 2.

Subgroup analysis

Of the 222 patients at ICU, 111(50.0%) developed AKI. Polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was independently associated with AKI: Hazard Ratio (HR), 3.42; 95% CI, 1.58-7.43; $P=0.002$, adjusting for the same variables that remained in the main model. Of the 188 patients outside the ICU, AKI occurred in 78 (41.5%). Polymyxin B dose ≥ 150 mg/day presented a trend toward association with AKI (HR, 1.65; 95%CI, 0.99-2.75; $P=0.054$).

Two-hundred and twenty patients had a baseline creatinine clearance <60 mL/min: 98 (44.6%) developed AKI. Polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was independently associated with AKI (HR, 2.51, 95%CI, 1.45-4.36, $P=0.001$). In patients (n=190) with baseline creatinine clearance ≥ 60 mL/min, 91 (47.9%) developed AKI. Dose ≥ 150 mg/day was not significantly associated with an increased risk for AKI (HR, 1.38; 95%CI, 0.78-2.43; $P=0.27$).

Secondary outcomes

The 30-day mortality rate was 42.0% (172 of 410). The development of AKI was significantly associated with 30-day mortality: 52.3% (90 of 172) versus 41.6% (99 of 238), $P=0.04$. Age ($P<0.001$), ICU admission ($P<0.001$), mechanical ventilation ($P<0.001$), use of vasoactive drug ($P<0.001$), Charlson comorbidity index ($P=0.001$), lower baseline creatinine clearance ($P=0.001$), polymyxin B dose ($P=0.158$) were also potentially related to 30 day-mortality in bivariate analysis and were evaluated in Cox regression model (Table 3).

Fifty two (12.7%) of 410 patients developed Failure by RIFLE. Time to develop Failure was 6.5 (IQR, 3-12) days. The incidence of Failure was: 1.7% (2 of 115) in patients receiving <150mg/day, 16.8% (33 of 196) in those receiving 150-199 mg/day and 17.2% (17 of 99) in those receiving ≥ 200 mg/day, $P < 0.001$.

Factors potentially related to Failure in bivariate analysis were polymyxin B dose ≥ 150 mg/day ($P < 0.001$), polymyxin median daily dose ($P = 0.001$), weight ($P = 0.002$), mechanical ventilation ($P = 0.008$), ICU admission ($P = 0.059$), BMI ($P = 0.094$), use of vasoactive drugs ($P = 0.184$), age ($P = 0.187$) and polymyxin B dose ≥ 200 mg/day ($P = 0.187$). In multivariate analysis, polymyxin B dose ≥ 150 mg was strongly associated with development of Failure, along with higher weight (Table 4). The predicted probability of developing Failure, according to polymyxin B dose and weight, is shown in Figure 3.

Discussion

Our study showed that polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was associated with higher risk of developing any degree of AKI and renal failure regardless of patients' weight, which was also an independent risk factor. This risk did not significantly increase with doses ≥ 200 mg/day. It was also demonstrated that the development of AKI tended to increase 30-day mortality rates.

The finding that polymyxin B dose ≥ 150 mg/day significantly increased the risk of AKI by approximately 2-fold regardless of patients' weight is of paramount importance, since it may have major clinical implications and also contributes to understand the mechanisms of renal damage of polymyxins. The predicted probability determined by the logistic regression model corroborates the findings of the Cox regression analysis and both suggest that there might be a total daily dose toxicity threshold (150mg/day in

our study), since the higher AKI rates with doses equal or above this threshold are not dependent on the patient's weight and do not significantly increase if the dose is further augmented. Previous studies using standardized criteria have also described a significant effect of high dose regimens on the development of AKI,^{8, 10} but none have analyzed total daily dose adjusted for patients' weight.

Our findings are in accordance with experimental demonstrations that the kidney damage results from the accumulation of polymyxin B in the organ owing to high reabsorption rates of this drug, notably by the proximal tubular cells in the renal cortex.^{23, 24} Additionally, it has been shown that tubular reabsorption of polymyxin B seems to be a saturable non-passive mechanism.¹⁸ In other words, proximal tubular cells have a limited capacity of polymyxin B reabsorption; thus, polymyxin B concentrations above the threshold reabsorption capacity of tubular cells would be reabsorbed at lower rates, consequently resulting in a decreased additional toxicity.

The hypothesis of a more "toxic polymyxin B dose threshold" is also supported by the remarkably low incidence of renal failure, which is supposed to represent a greater extent of kidney damage, in patients receiving daily doses <150mg (1.7%) regardless of the patients' weight. It is important to consider, however, that this specific total daily dose threshold of 150mg may only be valid if polymyxin B is administered in two split doses over an 1 to 4-hours infusion (infusion durations in our study), because more fractionated or continuous infusions of polymyxin B results in higher accumulation of this antibiotic in the kidney,¹⁸ potentially determining higher AKI rates.

Another important finding of our study was that patients developing any degree of AKI had higher risk of 30-day mortality. So far, only higher crude mortality rates in patients who develop AKI had been reported.^{10, 14, 17} However, despite the association of polymyxin B dose \geq 150mg/day with increased risk of AKI and the fact that patients

who developed AKI had higher mortality rates, in multivariate model, patients receiving a dose ≥ 150 mg/day slightly tended to have lower 30-day mortality rates. This suggests that the benefit of receiving higher doses may overcome the risk of developing AKI. A protective effect of dose in mortality regardless of development of AKI has previously been found in a retrospective study.¹⁷ This finding may be explained by the fact that these higher doses will result in higher area under the concentration-time curves (AUC) and, since free AUC/ MIC is the PK/pharmacodynamic (PD) index that best predicts polymyxins activity, these patients would more likely have polymyxin B blood concentrations nearer to the PK/PD target.¹⁹ In fact, since polymyxins B clearance is not dependent of creatinine clearance, dose adjustment for decreased creatinine clearance will result in lower AUC, potentially resulting in worse outcomes. Nevertheless, it should be noted that this study was not designed to assess the impact of dose, either by total dose or by mg/kg, on mortality rates, but only to evaluate if this dose associated with increased risk of AKI could also result in higher mortality. Some important variables that might affect 30-day mortality such as combination therapy, time to appropriate therapy, antibiotic susceptibility, among others were not evaluated in this study; thus, we prefer a more conservative interpretation of these results stating that, despite the increased risk for AKI, polymyxin B dose ≥ 150 mg/day was at least not harmful at 30-days.

In our study, higher weight was also independently associated with increased risk of AKI. This finding has also been previously reported with polymyxin B⁸ and CMS/colistin.¹⁴ However, our findings indicate that the association of weight with AKI is not dependent on the dose administered. Interestingly, the probabilities of any degree of AKI or Failure in patients receiving a dose ≥ 150 mg/day of polymyxins B were increased in patients with higher weight. The reasons for this increased risk of AKI in

patients with higher weight must be further investigated since it was not dose-dependent.

Older age is a known risk factors for AKI²⁰ and have also been found in previous studies with polymyxins B and CMS/colistin.^{11, 14, 17, 25} In the subgroup of patients with creatinine clearance <60mL/min, the effect of dose on AKI was stronger than in patients with higher creatinine clearance. Considering that doses should not be adjusted according to renal function, it is expected that patients with previous renal impairment may be more susceptible to develop further injury. Finally, the more marked effect of dose observed in patients at ICU may be explained by an increased likelihood for the presence of other factors affecting renal function in these patients that might not be fully captured by the variables analyzed .

Our study was limited by the lack of PK evaluation. Nonetheless, considering that our findings about doses were based in analysis that considered the patients' weight, a covariate that was shown to affect polymyxin B total body clearance,¹⁹ we believe this limitation does not preclude our conclusions. Nonetheless, it may be important in future studies addressing the effect of weight in the risk of AKI. We have also not excluded patients with worsening renal function previously to polymyxin B therapy. However, if it has occurred, there is no particular reason to believe that it might have occurred differently in distinct dosage groups; moreover, the inclusion of baseline creatinine clearance in the model have likely adjusted for any confounding effect of such not measured potentially existent event.

In conclusion, we presented findings of major importance for the clinical management of patients treated with polymyxin B: nephrotoxicity depends on total daily dose regardless of patients' weight. Higher risk for AKI was observed with total daily doses between 150 and 199, with no significant increase with higher total daily

doses. Baseline characteristic of the patients such as age and, notably, weight significantly increased the risk of AKI. Additionally, developing any degree of AKI during treatment with polymyxin B increased the risk of overall mortality, but the doses determining increased risk for AKI did not increase this risk and may even be a protective factor. Further studies are necessary to evaluate the impact of dose on mortality considering the effect of AKI on this outcome.

Acknowledgements

A. P. Z. is a research fellow from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil (305263/2011-0).

Funding

This study was supported by “Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre”, “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS)” and CNPq.

Transparency declarations

None to declare.

References

1. Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, et al. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2014; **69**: 2305-9.
2. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; **11**: 1333-53.
3. Landman D, Georgescu C, Martin DA, et al. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev* 2008; **21**: 449-65.
4. 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.
5. Yahav D, Farbman L, Leibovici L, et al. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2012; **18**: 18-29.
6. 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.
7. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, et al. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis* 2011; **53**: 879-84.
8. Kubin CJ, Ellman TM, Phadke V, et al. Incidence and predictors of acute kidney injury associated with intravenous polymyxin B therapy. *J Infect* 2012; **65**: 80-7.
9. Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, et al. Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* 2013; **57**: 1300-3.
10. Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, et al. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int J Antimicrob Agents* 2014; **43**: 349-52.
11. Phe K, Lee Y, McDanel PM, et al. In vitro assessment and multicenter cohort study of comparative nephrotoxicity rates associated with colistimethate versus polymyxin B therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**: 2740-6.
12. Hartzell JD, Neff R, Ake J, et al. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin (colistimethate sodium) treatment at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* 2009; **48**: 1724-8.
13. Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, et al. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 4503-5.

14. Gauthier TP, Wolowich WR, Reddy A, et al. Incidence and predictors of nephrotoxicity associated with intravenous colistin in overweight and obese patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**: 2392-6.
15. Kwon JA, Lee JE, Huh W, et al. Predictors of acute kidney injury associated with intravenous colistin treatment. *Int J Antimicrob Agents* 2010; **35**: 473-7.
16. Vicari G, Bauer SR, Neuner EA, et al. Association between colistin dose and microbiologic outcomes in patients with multidrug-resistant gram-negative bacteremia. *Clin Infect Dis* 2013; **56**: 398-404.
17. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, et al. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 2010; **65**: 2231-7.
18. Abdelraouf K, Braggs KH, Yin T, et al. Characterization of polymyxin B-induced nephrotoxicity: implications for dosing regimen design. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**: 4625-9.
19. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* 2013; **57**: 524-31.
20. Chawla LS, Eggers PW, Star RA, et al. Acute kidney injury and chronic kidney disease as interconnected syndromes. *N Engl J Med* 2014; **371**: 58-66.
21. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; **8**: R204-R212.
22. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; **40**: 373-83.
23. Abdelraouf K, He J, Ledesma KR, et al. Pharmacokinetics and renal disposition of polymyxin B in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**: 5724-7.
24. Abdelraouf K, Chang KT, Yin T, et al. Uptake of polymyxin B into renal cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**: 4200-2.
25. Balkan I, Dogan M, Durdu B, et al. Colistin nephrotoxicity increases with age. *Scand J Infect Dis* 2014; **46**: 678-85.

Table 1. Potential risk factors for acute kidney injury (AKI).

Variables ^a	AKI (n= 189)	No AKI (n= 221)	<i>P</i>
Age, years	66.7±15.3	61.7 ±17.9	0.03
Gender, male	108 (57.1)	132 (59.7)	0.67
Weight, kg	68.7±15.7	64.0±16.3	0.03
Body mass index, kg/m ²	24.8±5.3	23.4±5.8	0.01
Estimated baseline creatinine clearance (mL/min)	68.9±48.7	69.0±45.6	0.32
Cardiovascular disease	123 (65.1)	116 (52.5)	0.01
Diabetes mellitus	41 (21.7)	49 (22.2)	0.99
Charlson score	2 (1-4)	2 (1-6)	0.03
Other nephrotoxic drugs	123 (65.1)	153 (69.2)	0.37
Vancomycin	91(48.1)	107 (48.4)	0.99
Aminoglycoside	15 (7.9)	22 (10.0)	0.59
Furosemide	58 (30.7)	71 (32.1)	0.84
NSAID	0	2 (0.9)	0.50
Amphotericin B	5 (2.6)	2 (0.9)	0.26
Aciclovir/Ganciclovir	8 (4.2)	14 (6.3)	0.47
Use of nephrotoxic contrast	21 (11.1)	24 (10.9)	0.99
Vasoactive drugs	53 (28.0)	54 (24.4)	0.47

ICU admission	111 (58.7)	111 (50.2)	0.11
Mechanical ventilation	85 (45.0)	86 (38.9)	0.25
Polymyxin B daily dose,mg	160.1±36.2	154.7±40.7	0.16
Polymyxin B mg/kg/day	2.4±0.67	2.5±0.70	0.09
Polymyxin B dose≥150mg/day, mg	156 (82.5)	151 (68.3)	0.001
Polymyxin B dose≥200mg/day, mg	47 (24.9)	59 (26.7)	0.76

NSAID, Non-steroid anti-inflammatory drugs; ICU, intensive care unit.

^a Data are presented as number (%), mean ±SD or median (interquartile range)

Table 2. Cox-proportional hazards regression model for acute kidney injury.

Variables ^a	HR (95%CI)	<i>P</i>
Polymyxin B dose \geq 150mg/day	1.95 (1.31-2.89)	0.001
Age, years	1.02 (1.01-1.03)	0.01
Weight (kg)	1.01 (1.00-1.02)	0.04
Intensive care unit admission	1.09 (0.81-1.47)	0.57
Estimated baseline creatinine clearance (mL/min)	1.00 (1.00-1.01)	0.63

HR, Hazard ratio.

^a Estimated baseline creatinine clearance and intensive care unit were also forced into this model for adjustment of potential residual confounding.

Table 3. Cox-proportional hazards regression model for renal failure.^a

Variables ^b	HR (95%CI)	P
Polymyxin B dose \geq 150mg/day	9.81 (2.37-40.62)	0.002
Age, years	1.00 (0.98-1.02)	0.85
Weight, kilograms (kg)	1.03 (1.01-1.04)	0.001
Intensive care unit admission	1.36 (0.75-2.44)	0.31
Estimated baseline creatinine clearance (mL/min)	0.99 (0.99-1.00)	0.14

Abbreviations: HR, Hazard ratio.

^a According RIFLE criteria²¹

^b Estimated baseline creatinine clearance and intensive care unit were also forced into this model for adjustment of potential residual confounding.

Table 4. Cox-proportional hazards regression model for 30-day mortality.

Variables ^a	HR (95%CI)	<i>P</i>
Acute kidney injury	1.35 (0.99-1.85)	0.06
Dose \geq 150mg/day	0.74 (0.51-1.07)	0.11
Vasoactive drug	1.58 (1.10-2.27)	0.01
ICU admission	1.70 (1.16-2.50)	0.01
Estimated baseline creatinine clearance (mL/min)	0.99 (0.98-0.99)	0.001
Charlson	1.10(1.04-1.17)	0.002
Age, years	1.01 (1.00-1.02)	0.19

ICU, intensive care unit.

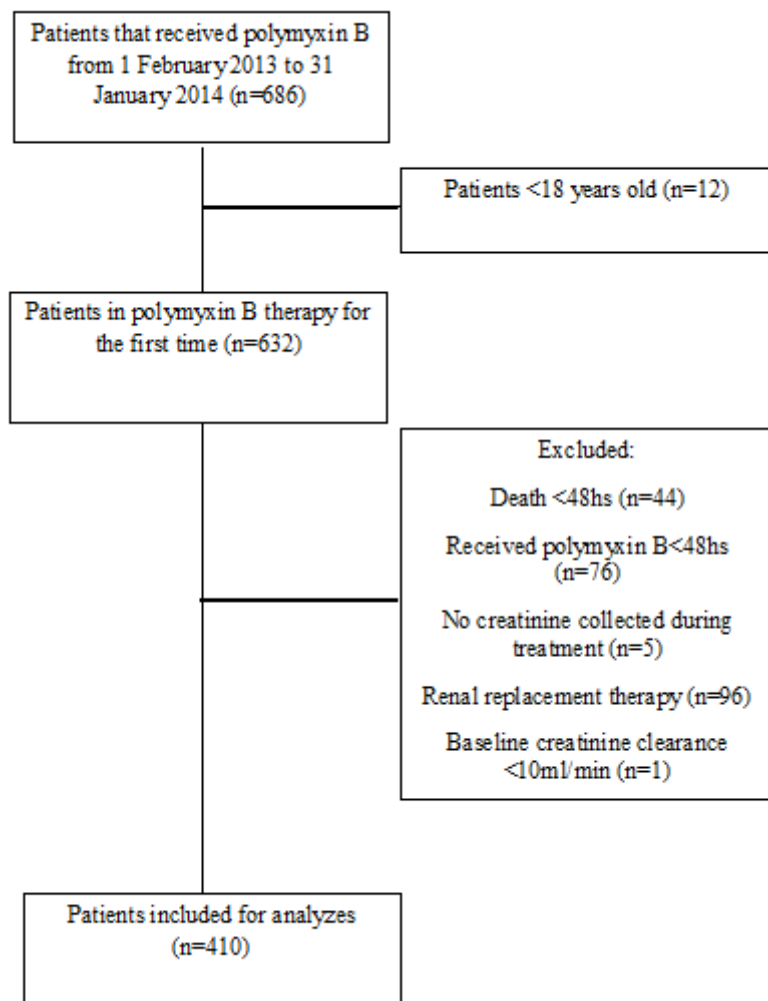


Figure 1. Flow chart of number of eligible and excluded patients.

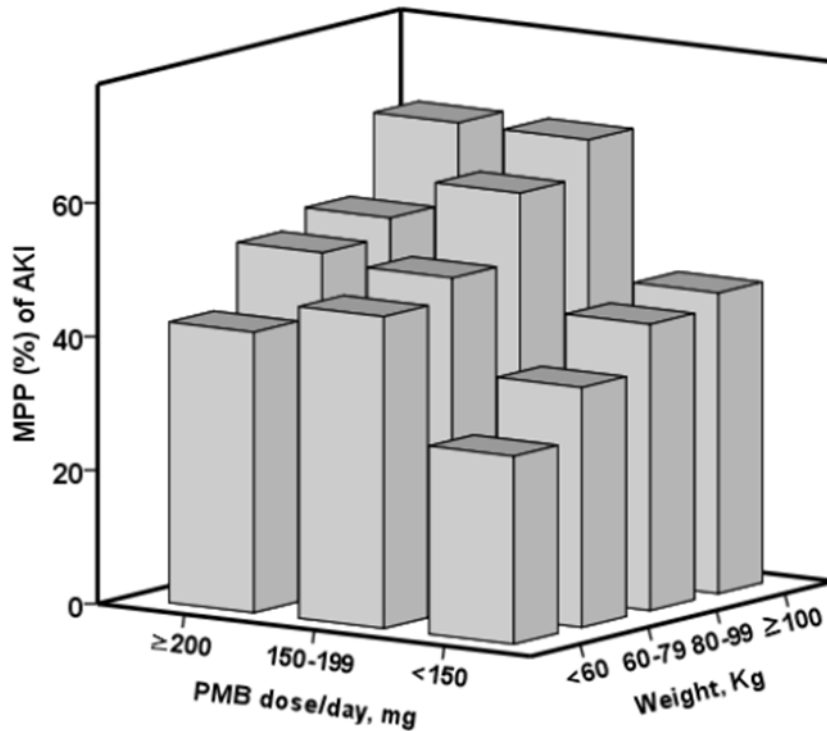


Figure 2. Mean predicted probability (MPP) of developing acute kidney injury (AKI) according to polymyxin B (PMB) dose and weight as determined by logistic regression model adjusting for dose, weight, age, baseline creatinine clearance and intensive care unit admission. MPP of AKI significantly increases (Two-way ANOVA) in patients with polymyxin B doses ≥ 150 mg ($P < 0.0001$) and with higher weight ($P < 0.0001$; MPP tended to increase in higher weight patients receiving doses ≥ 150 mg ($P = 0.11$)). MPP (%) of AKI \pm SD according to weight (kg) and dose (mg) were: < 60 : $< 150 = 28.1 \pm 9.8$ (n=55), 150-199= 46.7 ± 8.9 (n=68), $\geq 200 = 42.0 \pm 10.4$ (n=17); 60-79: $< 150 = 35.9 \pm 9.1$ (n=40), 150-199= 49.9 ± 9.1 (n=105), $\geq 200 = 51.4 \pm 8.1$ (n=57); 80-99: $< 150 = 42.8 \pm 6.9$ (n=7), 150-199= 60.1 ± 7.5 (n=21), $\geq 200 = 54.1 \pm 11.6$ (n=25); and ≥ 100 : $< 150 = 45.0 \pm 21.5$ (n=2), 150-199= 65.6 ± 11.1 (n=5), $\geq 200 = 65.8 \pm 11.4$ (n=8).

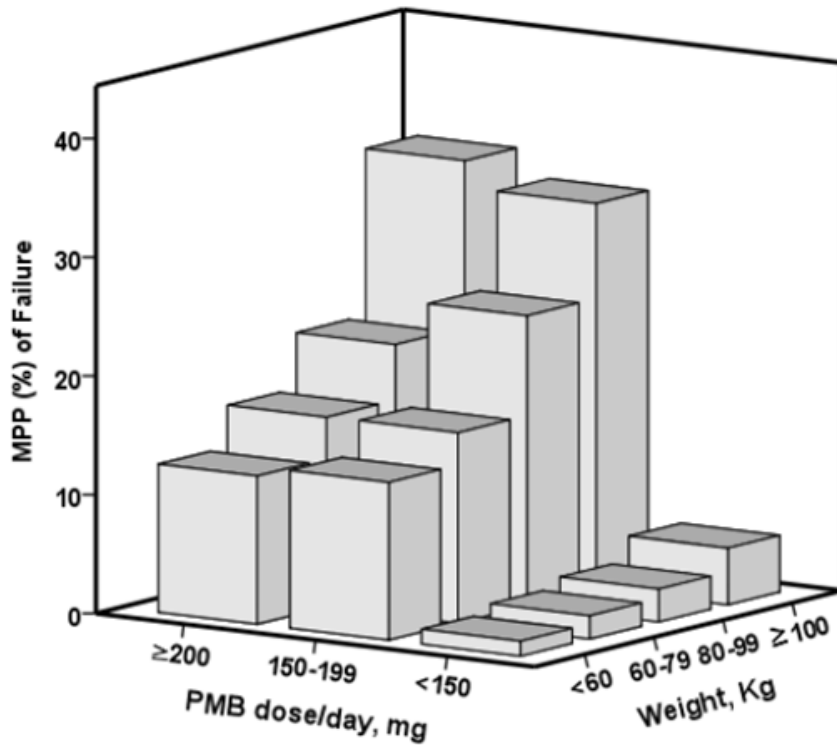


Figure 3. Mean predicted probability (MPP) of developing Failure by RIFLE²¹ criteria, according to polymyxin B (PMB) dose and weight, as determined by logistic regression model adjusting for dose, weight, age, baseline creatinine clearance and intensive care unit admission. MPP of Failure significantly increases (Two-way ANOVA) in patients with polymyxin B doses ≥ 150 mg ($P < 0.0001$) and with higher weight ($P < 0.0001$); MPP (%) of Failure significantly increases in higher weight patients receiving doses ≥ 150 mg ($P < 0.0001$). MPP of Failure \pm SD according to weight (kg) and dose (mg) were: < 60 : $< 150 = 1.3 \pm 0.3$ (n=58), $150-199 = 13.3 \pm 3.1$ (n=65), $\geq 200 = 12.5 \pm 2.5$ (n=17); $60-79$: $< 150 = 2.0 \pm 0.6$ (n=44), $150-199 = 16.0 \pm 3.9$ (n=104), $\geq 200 = 16.0 \pm 4.4$ (n=54); $80-99$: $< 150 = 2.8 \pm 0.6$ (n=9), $150-199 = 24.4 \pm 3.9$ (n=22), $\geq 200 = 20.7 \pm 4.7$ (n=22); and ≥ 100 : $< 150 = 4.8 \pm 1.6$ (n=3), $150-199 = 32.4 \pm 5.9$ (n=5), $\geq 200 = 34.7 \pm 11.8$ (n=7).

8. ARTIGO 2

“Renal failure in patients treated with colistin versus polymyxin B: a multicenter prospective cohort study”

Artigo submetido ao periódico *Clinical Infectious Diseases*- em revisão.

Renal failure in patients treated with colistin versus polymyxin B: a multicenter prospective cohort study

Maria Helena Rigatto,¹ Maura S. Oliveira,^{2,3} Lauro V. Perdigão-Neto,^{2,3} Anna S. Levin,^{2,3} Claudia M. Carrilho,⁴ Marcos Toshiyuki Tanita,⁴ Felipe F. Tuon,⁵ Douglas E. Cardoso,⁵ Tainá F. Behle,⁶ Thiela Freitas,⁷ Natane T. Lopes,⁸ Diego R. Falci,^{7,9} Alexandre P. Zavascki^{9,10}

¹Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ²Department of Infection Control of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; ³Department of Infectious Diseases, Laboratório de Investigação Médica - LIM 54 and Instituto de Medicina Tropical, University of São Paulo, Brazil São Paulo, Brazil; ⁴Infectious Disease Service, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil; ⁵Infectious Diseases Service, Universidade Federal de Curitiba, Brazil; ⁶Infectious Diseases Service, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil; ⁷Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil; ⁸Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ⁹Infectious Diseases Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; ¹⁰Department of Internal Medicine, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre, Brazil.

Running Title: Renal failure in CMS vs PMB

Keywords: colistin, polymyxin B; acute kidney injury; renal failure; nephrotoxicity; dose; cohort study; mortality

Corresponding Author: Alexandre P. Zavascki. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90.035-903, Brazil. Phone/fax: +55 (51) 33598152, e-mail: azavascki@hcpa.ufrgs.br

Summary of the article's main point: The study shows that colistin, administered as colistimethate sodium, is associated with significantly higher rates of renal failure compared to polymyxin B, regardless of patients' baseline creatinine clearance. Polymyxin B may be the preferred polymyxin in patients with other risk factors for nephrotoxicity.

ABSTRACT

Background. Colistin and polymyxin B (PMB) are last resort antibiotics to treat infections by extensively-drug-resistant Gram-negative bacteria. Nephrotoxicity is the main adverse effect of both. It is not clear whether there are differences in nephrotoxicity rates between these two antibiotics.

Methods. A multicenter prospective cohort study was performed including patients ≥ 18 -years treated with colistimethate sodium (CMS) for ≥ 48 hours matched in an 1:2 ratio with PMB-treated patients, according to their baseline creatinine clearance. The primary outcome was renal failure (RF) by RIFLE criteria. Multivariate analysis with Cox regression model was performed.

Results. Two-hundred and forty three patients were included: 81 in CMS and 162 in PMB groups. The mean daily dose was 4.2 ± 1.3 mg/kg and 2.4 ± 0.6 mg/kg of colistin base activity and PMB, respectively. The overall incidence of RF was 23.5%: 38.3% in CMS and 16.1% in PMB group, $P < .001$. In multivariate analysis, CMS therapy was an independent risk factor for RF (Hazard Ratio, 2.96, 95% Confidence Interval, 1.68-5.22, $P < .001$), along with intensive care unit admission, higher weight and older age. The incidence of RF was higher in CMS group regardless the patients' baseline creatinine clearance. Patients who developed RF presented higher 30-mortality rates (50.9%, 29/57 patients) than those who did not present this outcome (15.1%, 28/186), $P = .004$; but CMS- (30.9%) and PMB-treated (35.8%) patients had similar 30-day mortality rates, $P = .53$.

Conclusions. CMS presented significantly higher rates of RF compared to PMB-treated patients. PMB may be the preferred polymyxin in patients with other risk factors for nephrotoxicity.

Extensively drug-resistant Gram-negative bacteria (XDR-GNB) is a major public health concern worldwide, imposing challenges to currently available antimicrobial therapy. Both polymyxins, B and E (colistin) has resurged as agents of last resort to treat infections by XDR-GNB [1], but despite treatment with these drugs, mortality is usually high [2-4]. Undesirably, nephrotoxicity is the main adverse effect of both, with rates of acute kidney injury (AKI) ranging from 20-60%, according recent studies using standardized criteria to evaluate nephrotoxicity [5-10]. Furthermore, the development of AKI during therapy has been associated with even worse prognosis for patients with XDR-GNB treated with polymyxins [2, 10-12]. Therefore, it is quite important to know whether one polymyxin may be more nephrotoxic than another in the clinical context.

Colistin, administered as the pro-drug colistimethate sodium (CMS), is more frequently used worldwide, while polymyxin B (PMB) has been restricted mainly to some parts of the US, Brazil, Malaysia, India and Singapore [1]. However, recent studies have suggested that CMS may be more nephrotoxic than polymyxin B [5, 9], but owing to many other factors that affect the rates of AKI, especially at early stages (risk or injury of RIFLE criteria [13]), highly distinct rates have been observed in different studies, [5, 9, 10, 12] and this issue remains unsolved.

In this study, we compare the rates of renal failure defined by RIFLE criteria, which reflects a higher degree of kidney damage, between CMS/colistin and PMB, matching patients according to their baseline creatinine clearance.

Methods

Study design, settings and participants

This was a multicenter prospective cohort study performed at six teaching hospitals in Brazil. CMS/colistin (thereafter referred only as CMS) was available in three hospitals and PMB in other three. Patients ≥ 18 years receiving intravenous CMS or PMB from 1 February 2013 to 31 January 2014 were eligible for the study. Exclusion criteria were: polymyxin treatment for < 48 h, creatinine clearance ≤ 10 mL/min or renal replacement therapy at the beginning of polymyxin, treatment with polymyxins prior to study beginning or absence of follow-up evaluation of serum creatinine. CMS patients were matched in a 1:2 ratio with polymyxin B patients [12] according to baseline creatinine clearance (calculated by *Cockcroft- Gault* formula with a tolerance of ± 25 ml/min). Patients with creatinine clearance > 90 ml/min were random and freely matched. Only the first polymyxin treatment was considered.

Therapy management was at the discretion of the attendant physician. Loading doses and dose adjustment according to creatinine clearance were recommended only for CMS [14, 15]. The study was approved by the local ethics committee of each hospital, which waived the need to obtain informed consent.

Variables and definitions

The primary outcome was the development of renal failure during treatment with polymyxin, assessed by RIFLE criteria [13]. Thirty-day mortality was a secondary outcome. Variables potentially related to RF were: age; gender; weight; body mass index; Charlson comorbidity score [16] and the presence of specific comorbid conditions associated

with AKI, such as diabetes and cardiovascular disease; use of other nephrotoxic drugs or nephrotoxic contrast before the development of RF; intensive care unit (ICU) admission, use of vasoactive drugs at the beginning of PMB therapy.

Statistical analysis

All the statistical analysis was carried out using SPSS for windows, version 18.0.

P values were calculated using the χ^2 or Fisher's exact test for categorical variables and the Student's *t*-test or the Wilcoxon rank-sum test for continuous variables in bivariate analysis. Covariates were compared between CMS and PMB and between patients who developed or not developed renal failure. Variables with a $P \leq .2$ were included in a Cox proportional hazards model in a forward stepwise regression. Variables with a $P \leq .10$ were maintained in the model. Proportional hazards assumption was graphically checked inspecting the log[-log(S)] plot. All tests were two-tailed and a $P \leq .05$ was considered significant.

Results

A total of 518 patients were eligible for the study: 108 received CMS and 410 PMB. Of CMS patients, 37 were excluded, resulting in a total of 81 CMS patients who were matched with 162 polymyxin B patients, totalizing 243 patients analyzed (the characteristics of all PMB-treated patients are described elsewhere [12]). The baseline characteristics of each group are described in Table 1.

The mean daily dose by mg/kg was 4.2 ± 1.3 and 2.4 ± 0.6 of colistin base activity (CBA; 1mg of CBA ~30000IU of CMS) and PMB, respectively. Median average daily dose was

300mg (Interquartile Range [IQR], 267-300) of CBA and 150mg (IQR, 140-200) of PMB. Twenty-four patients (29.6%) in CMS group received a loading dose of the antibiotic, compared to none in PMB group. Median treatment duration was 13 days (IQR, 10-15) with CMS and 11 days (IQR 7-14) with PMB.

The overall incidence of renal failure was 23.5% (57 of 243) during polymyxins therapy: 38.3% (31 patients) in CMS and 16.1% (26 patients) in PMB group (RR, 2.0; 95%CI, 1.5-2.8; $P<.001$). Any degree of AKI occurred in 138 (56.8%) of the 243 patients and it was significantly higher in the CMS (59 patients, 72.8%) than in PMB group (79, 48.8%), $P=.001$. The other CMS and PMB patients who presented AKI were classified as Risk: 20 (24.7%) and 33 (20.4%), or as Injury: 8 (9.9%) and 20 (12.4%), respectively.

The bivariate analysis for renal failure is shown in Table 2. In multivariate analysis, CMS therapy was an independent risk factor for renal failure, along with ICU admission, higher weight and older age (table 3). The incidence of renal failure was higher in CMS group regardless the baseline creatinine clearance strata (Figure 1).

The overall 30-day mortality was 34.1% (83 of 243): 30.9% (25 of 81 patients) and 35.8% (58 of 162 patients) in CMS and PMB groups, respectively, $P=.53$. Patients who developed renal failure presented higher 30-mortality rates (50.9%, 29/57 patients) than those who did not presented renal failure (29.0%, 54/186 patients), $P=.004$.

Discussion

In our study, patients with similar baseline creatinine clearance treated with CMS presented significantly higher rates of RF than those treated with PMB. The increased risk remained after adjustment for other important covariates associated with this outcome, such as

weight, age and ICU admission. In fact, higher rates of RF with CMS was observed in distinct categories of baseline creatinine clearance, despite the lower mean doses of CBA in patients with decreased creatinine clearance and similar mean doses of PMB regardless the renal function. These findings are of paramount importance since they suggest that CMS, the most commonly used polymyxin to treat infections by XDR-GNB, may be more nephrotoxic than PMB.

Our study corroborates the findings of recent studies comparing AKI rates between CMS and PMB, which also demonstrated higher rates in patients treated with CMS [9, 17]. Nonetheless, the main outcome of these studies was any degree of AKI as defined by RIFLE, which, although properly controlled for other covariates, may be subject to residual confounding. We chose to evaluate RF as a primary outcome because it is less susceptible to smaller variations in creatinine values that can occur as consequence of other innumerable determinants [18].

Additionally, differently from previous studies, we analyzed patients treated according to the most recent pharmacokinetic recommendations, including loading doses for CMS [14], and no adjustment of PMB doses according to creatinine clearance [15]. It might be possible that the low doses of PMB in patients with decrease creatinine clearance could, at least partially, explain the lower rates of AKI found in PMB-treated patients in previous studies. Our study showed that even with usual doses, prescribed regardless of creatinine clearance, PMB still presented lower rates of RF. Actually, although CMS (here presented as CBA) and PMB doses cannot be directly compared, low doses of one agent can decrease the incidence of AKI, since dose of any polymyxin have been found as the major risk for nephrotoxicity [6-12]. In previous studies, suboptimal doses of PMB were prescribed to most patients [5, 9] and it may have affected at some degree AKI rates of these patients,

potentially contributing to the lower risk for AKI compared to CMS-treated patients.

However, since in our study doses may be considered adequate for both polymyxins according to most recent pharmacokinetic studies [19], this factor has unlikely biased our findings.

Loading doses were administered in 29.6% of CMS-treated patients from our study and it likely contributed to the high overall rate of RF in these patients (38.3%), since these patients presented significantly higher rates of RF (66.7%) compared with those not receiving a loading dose (26.3%, $P=.001$; data not shown). However, results were not different when patients who received loading doses were excluded from the analysis (adjusted HR, 1.96; 95% CI, 1.0-4.4; $P=.05$; data not shown) and, finally, loading doses of CMS are mandatory to achieve faster and adequate conversion of CMS into colistin in the beginning of therapy [20].

Regardless of dose issues, we raised two hypothesis for the increased rates of nephrotoxicity with CMS, since both colistin and PMB have been shown to present similar *in vitro* toxicity to renal cells [9]. First, it is possible that, even if minimal when compared to colistin, CMS may contribute to additional injury to renal cells. Another explanation is regarded to the pharmacokinetic/toxicodynamic profile of CMS/colistin: an increased toxicity could be related to the flatter plasma concentration curves of colistin, determined by the slow conversion of CMS into the active drug [14, 21], when compared to the spiked curves of PMB administered after an one-hour infusion[15]. It has been shown that a prolonged exposure to relatively low PMB concentrations, determined by a more fractionated dose regime, resulted in higher concentrations of the drug in rat kidneys, leading to a larger extent of kidney damage [22]. The flatter concentration curves of colistin actually resemble those determined by a more fractionated drug administration and this

may lead to a higher extent of colistin reabsorption by the proximal tubular cells [23]. Although, both hypothesis are plausible they required proper investigation to be further considered.

Although developing RF increased the risk of mortality, as showed in other studies [10, 12], the crude 30-day mortality was not significantly distinct between CMS and PMB-treated patients. Nevertheless, since our study was not designed to compare mortality between polymyxins, the relation among polymyxins, development of RF and death should be further investigated.

Our study was limited because CMS-treated patients were not from the same centers of those receiving PMB. However, we performed a sensitivity analysis, excluding one center each time in the multivariate model to account for center bias and the results remained consistent, showing significantly higher rates of RF in CMS group in all models (data not shown).

In summary, our study showed that CMS-treated patients presented higher rates of RF than PMB-treated patients, regardless of the baseline renal function. Our findings suggests that the combination CMS-colistin is more nephrotoxic than PMB, which may be the preferred polymyxin in patients with other risk factors for nephrotoxicity.

Acknowledgments

We thank Leonardo Lopes and Mariá Nunes for the collaboration in clinical data collection.

Financial support

This study was supported by “Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre”, “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS)” and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil. A. P. Z. and F. F. T. are research fellows of CNPq.

Potential conflicts of interest

All authors: none to declare.

References

- (1) Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis* **2014**; 59:88-94.
- (2) 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.
- (3) 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.
- (4) Paul M, Bishara J, Levcovich A, et al. Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. *J Antimicrob Chemother* **2010**; 65:1019-27.
- (5) Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, Dakum P, Charurat ME, Gilliam BL. Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* **2013**; 57:1300-3.
- (6) Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother* **2010**; 54:4503-5.
- (7) Hartzell JD, Neff R, Ake J, et al. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin (colistimethate sodium) treatment at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* **2009**; 48:1724-8.
- (8) 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.
- (9) Phe K, Lee Y, McDanel PM, et al. In vitro assessment and multicenter cohort study of comparative nephrotoxicity rates associated with colistimethate versus polymyxin B therapy. *Antimicrob Agents Chemother* **2014**; 58:2740-6.
- (10) Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, Kamei LK, Rocha JL, Zavascki AP. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int J Antimicrob Agents* **2014**; 43:349-52.
- (11) Gauthier TP, Wolowich WR, Reddy A, Cano E, Abbo L, Smith LB. Incidence and predictors of nephrotoxicity associated with intravenous colistin in overweight and obese patients. *Antimicrob Agents Chemother* **2012**; 56:2392-6.
- (12) Rigatto MH, Behle TF, Falci DR, et al. Risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with polymyxin B and influence of AKI on mortality: a multicentre prospective cohort study. *J Antimicrob Chemother*, **2015**. doi 10.1093/jac/dku561

- (13) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* **2004**; 8:R204-R212.
- (14) 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.
- (15) Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* **2013**; 57:524-31.
- (16) Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* **1987**; 40:373-83.
- (17) Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, Dakum P, Charurat ME, Gilliam BL. Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis* **2013**; 57:1300-3.
- (18) Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care* **2009**; 13:211.
- (19) Zavascki AP. Polymyxins for the treatment of extensively-drug-resistant Gram-negative bacteria: from pharmacokinetics to bedside. *Expert Rev Anti Infect Ther* **2014**; 12:531-3.
- (20) Nation RL, Li J, Cars O, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis* ,**2014**.
- (21) 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.
- (22) 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.

Table 1. Baseline characteristics of colistimethate sodium (CMS) and polymyxin B (PMB) groups

Variables	CMS (n=81)	PMB (n=162)	<i>P</i>
Gender,male	56 (69.1)	99 (61.1)	.28
Age, years	52.2±17.8	63.2±16.3	<.001
Weight, kg	70.8±13.5	67.2±16.9	.07
Body Mass index	25.2±4.0	23.9±6.1	.05
Other nephrotoxic drug	68 (84.0)	115 (71.0)	.04
Aminoglycoside	10 (12.3)	18 (11.1)	.94
Vancomycin	48 (59.3)	73 (45.1)	.05
NSAID	1 (1.2)	0	.33
Furosemide	32 (39.5)	46 (28.4)	.10
Amphotericin B	0	2 (1.2)	.55
Aciclovir/Ganciclovir	11 (13.6)	11 (6.8)	.13
Nephrotoxic contrast	7 (8.6)	20 (12.3)	.52
Vasoactive drug	25 (30.9)	41 (25.3)	.44
ICU admission	59 (72.8)	80 (49.4)	.001
Cardiovascular disease	16 (19.8)	97 (59.9)	<.001
Diabetes	11 (13.6)	24 (14.8)	.95
Charlson	1 (0-2)	2 (1-4)	<.001

Data are presented as number (%), mean ±SD or median (interquartile range).

Abbreviations: NSAID, Non-steroid anti-inflammatory drugs; ICU, intensive care unit.

Table 2. Potential risk factors for renal failure according to RIFLE score.

Variables	Renal Failure		<i>P</i>
	Yes (n=57)	No (n=186)	
Gender,male	37 (64.9)	118 (63.4)	.96
Age, years	61.3±13.5	59.0±18.6	.30
Weight, kg	72.1±15.5	67.2±15.9	.042
Body Mass index	25.6±5.2	24.0±5.5	.048
Other nephrotoxic drug	46 (80.7)	137 (73.7)	.37
Aminoglycoside	7 (12.3)	21 (11.3)	.99
Vancomycin	30 (52.6)	91 (48.9)	.74
NSAID	0	1 (0.5)	.99
Furosemide	17 (29.8)	61 (32.8)	.80
Amphotericin B	1 (1.8)	1 (0.5)	.42
Aciclovir/Ganciclovir	4 (7.0)	18 (9.7)	.79
Nephrotoxic contrast	6 (10.5)	21 (11.3)	.99
Vasoactive drug	21 (36.8)	45 (24.2)	.08
ICU admission	45 (78.9)	94 (50.5)	<.001
Cardiovascular disease	25 (43.9)	88 (47.3)	.76
Diabetes	9 (15.8)	26 (14.0)	.90
Charlson	1 (1-3)	2 (2-4)	.08
Antibiotic (CMS)	31 (54.4)	50 (26.9)	<.001

Data are presented as number (%), mean ±SD or median (interquartile range)

Abbreviations: NSAID, Non-steroid anti-inflammatory drugs; ICU, intensive care unit; CMS, colistimethate sodium.

Table 3. Cox-proportional hazards regression model for renal failure by RIFLE score.

Variable	HR	95%CI	<i>P</i>
Antibiotic (CMS)	2.96	1.68-5.22	<.001
ICU	2.17	1.13-4.20	.019
Weight (kg)	1.02	1.00-1.04	.012
Age (years)	1.03	1.01-1.04	.003

Abbreviations: HR, Hazard ratio; CI, confidence interval; CMS, colistimethate sodium.

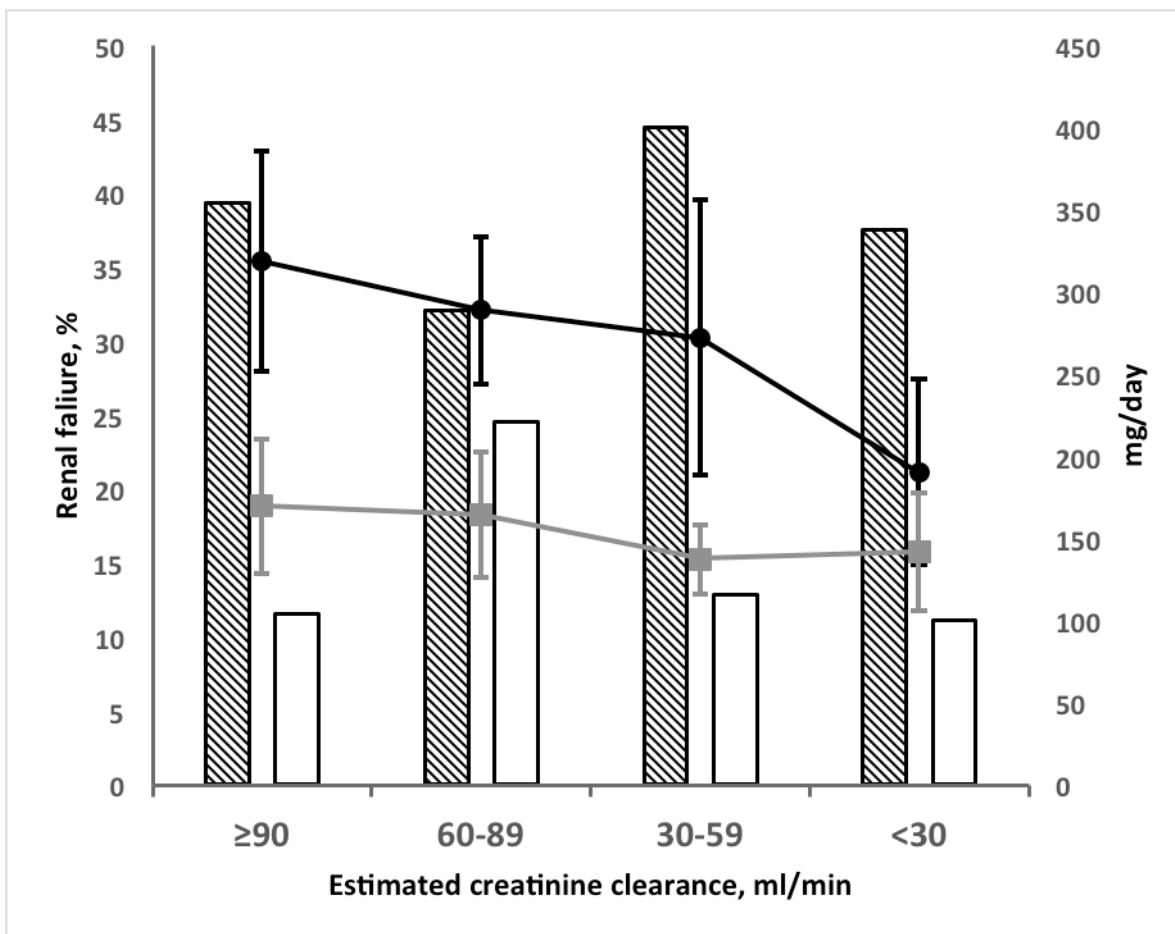


Figure 1. Incidence of renal failure (RF) in colistimethate sodium (CMS)- and polymyxin B (PMB)-treated patients in distinct categories of estimated baseline creatinine clearance. Incidence of RF in patients with creatinine clearance ≥ 90 ml/min were 39.3% (11/28 patients) and 11.5% (6/52); 60-89 ml/min: 32.0% (8/25) and 24.5% (13/53); 30-59 ml/min: 44.4% (8/18) and 12.8% (5/39); and < 30 ml/min: 37.5% (3/8) and 11.1% (2/18) in CMS (striped bars) and PMB (white bars) groups, respectively. Mean daily dose \pm SD (mg) of colistin base activity (black line) and PMB (grey line), respectively, in patients with creatinine clearance ≥ 90 ml/min were 318.4 ± 67.3 and 169.3 ± 41.2 ; 60-89 ml/min: 288.7 ± 44.9 and 164.2 ± 38.0 ; 30-59: $271.9 \pm 137.1 \pm 21.3$; and < 30 ml/min: 190.2 ± 56.8 and 141.7 ± 35.8

9. ARTIGO 3

“Polymyxin B in combination with other antimicrobials versus polymyxin B in monotherapy in critically ill patients with *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* infections.”

Artigo submetido ao periódico *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*- em revisão.

Polymyxin B in combination with *in vitro* non-susceptible antimicrobials versus polymyxin B in monotherapy in critically ill patients with *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* infections

Maria Helena Rigatto,^a Fabiane J. Vieira,^b Laura C. Antochevis,^b Tainá F. Behle,^c Natane T. Lopes,^d Alexandre P. Zavascki,^{c,e} #

Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil ^a; School of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre Brazil ^b; Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil ^c; Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre Brazil ^d; Department of Internal Medicine, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre Brazil ^e

Running Head: Polymyxin B in combination versus monotherapy

#Corresponding Author: Alexandre P. Zavascki. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90.035-903, Brazil. Phone/fax: +55 (51) 33598152, e-mail: azavascki@hcpa.edu.br

Abstract

There is no clinical evidence supporting polymyxin B in combination with another antimicrobial for infections by extensively-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa*. We developed a cohort study in two intensive-care units from teaching hospitals evaluating patients treated with intravenous polymyxin B for ≥ 48 h for severe *A. baumannii* or *P. aeruginosa* infections. Covariates potentially associated with 30-day mortality were evaluated in a Cox proportional hazards model. A total of 101 patients were included: 33 (32.7%) treated with polymyxin B in combination with an *in vitro* non-susceptible antimicrobial and 68 (67.3%) with polymyxin B in monotherapy. The overall 30-day mortality was 59.4% (60 patients): 42.4% (14 of 33) and 67.6% (46 of 68), $P=0.03$, in combination and monotherapy groups, respectively. The mortality rates were 18.5/1000 patients-day and 36.4/1000 patients-day, $P=0.02$, in combination and monotherapy groups, respectively. Combination therapy was independently associated with lower 30-day mortality (Hazard Ratio, 0.33; 95% Confidence Interval 0.17-0.64; $P=0.001$). Creatinine clearance ≥ 60 ml/min was also protective factor while a higher APACHE score and polymicrobial infection were associated with increased mortality. The results did not change after adding a propensity score for prescribing combination therapy into the model. The protective effect remained when only combination with β -lactam or carbapenem were considered, and in both subgroups of patients: with *A. baumannii* and with low respiratory tract infections. To our knowledge, this was the first clinical study to show a benefit of combination over monotherapy with polymyxin B for severe extensively-drug-resistant *A. baumannii* or *P. aeruginosa* infections.

Keywords: polymyxin B; *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter baumannii*; carbapenem resistance; mortality; intensive care unit

The emergence of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (GNB) in the last decade, mostly driven by carbapenemases-producing strains, importantly changed the epidemiology of hospital-acquired infections (1). Carbapenem-resistant GNB frequently present an extensively-drug-resistant (XDR) profile (2) and these isolates have been an increasing public health concern worldwide (1,2). Among XDR bacteria, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* are pathogens of major clinical and epidemiological importance, notably in intensive care unit (ICU) patients (3,4).

Since the discovery of new anti-GNB agents has dried out, polymyxins, both B and E (colistin), has re-emerged in clinical practice as agents of last resort against XDR-A. *baumannii* and *P. aeruginosa* (5,6). However, despite the *in vitro* activity of polymyxins, some factors, such as a possible limited clinical efficacy and the potential for resistance emergence during treatment along with a relatively strong pre-clinical support, have lead many physicians to prescribe combination therapy, mostly a polymyxin combined with a second agent, for patients infected by XDR-GNB, including *A. baumannii* and *P. aeruginosa* (1,7). Nonetheless, there is no clinical study supporting the use of combination schemes as the standard of care for the treatment of these infections. Indeed, two clinical trials failed to find distinct clinical outcomes in patients treated with colistin alone compared to colistin plus rifampicin in patients with *A. baumannii* infections (1,2).

So far, the strongest clinical evidence suggesting that combination of antibiotics may be superior to monotherapy comes from cohort studies assessing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia* bloodstream infections (10,11). In these studies, combination therapy

was defined as treatment with two *in vitro* active drugs and nothing could be concluded about the role of combining a second agent with documented *in vitro* resistance. Furthermore, these studies did neither evaluated *A. baumannii* nor *P. aeruginosa*. Notably, although there are studies evaluating combination therapy against XDR-*A. baumannii*, only one study included infections by XDR-*P. aeruginosa* (12).

Additionally, several shortcomings have been identified in studies that evaluated combination therapy against these GNB: the potential for indication bias, the use of multiple distinct drug combinations, and the possible suboptimal use of polymyxins (actually all studies were performed with colistin), considering recent developments in pharmacokinetic knowledge of these antibiotics (1,7).

In this study, we aimed to compare polymyxin B in combination with an *in vitro* non-susceptible antimicrobial with polymyxin B in monotherapy against *A. baumannii* or *P. aeruginosa* infections in critically-ill patients, addressing the potential for indication bias.

MATERIALS AND METHODS

Study design, settings and participants

We performed a retrospective analysis of a cohort study at two tertiary-care teaching hospitals in Porto Alegre, Brazil. All patients admitted at intensive care unit, aged ≥ 18 years from 1 February 2013 to 31 January 2014, who received at least one dose of polymyxin B dose for the treatment infections by *A. baumannii* or *P. aeruginosa* were eligible for the cohort. Patients were excluded if they received polymyxin B for < 48 h or

died within this period, had an *a priori* defined non-severe infection (skin and soft tissue or lower urinary tract infections), combination schemes with a second *in vitro* active drug, had an infection caused by a polymyxin B-resistant isolate or did not have susceptibility to polymyxin B evaluated. In patients who had more than one treatment with polymyxin B, only the first course was considered. Therapy was at the discretion of the attendant physician and all data were retrieved from medical records. Institutional protocols recommended doses of 1.5 to 3.0mg/kg/day in two divided administrations. Dose adjustment according to creatinine clearance was not recommended, according to recent pharmacokinetic data on polymyxin B (13). Loading doses were still not part of the institutional protocols during the study period. The study was approved by the local ethics committee of each hospital.

Variables and definitions

The primary outcome was 30-day mortality. The onset of infection was considered the day that the culture that yielded the growth of isolates was collected. Combination therapy was considered the association of a second antimicrobial with anti-*Acinetobacter* or anti-*Pseudomonas* activity with *in vitro* non-susceptibility to this antimicrobial, within the first 48 hours of polymyxins B initiation and for at least 48 hours. Variables potentially related to mortality were age; gender; weight; body mass index; bacteria; site of infection, defined according to CDC criteria (14), with the exception of pneumonia which was defined by the following criteria: the presence of positive cultures for *A. baumannii* or *P. aeruginosa* recovered from purulent respiratory secretions (purulence was considered if >25 neutrophils and <10 epithelial cells per high power field were present) either from endotracheal aspirates (>10⁶ cfu/ml) or from bronchoalveolar lavage (>10⁴ cfu/ml) plus the

presence of a radiographic infiltrate that was new or progressive, along with the presence of two or more of the following criteria: fever (temperature $>38^{\circ}\text{C}$) or hypothermia (temperature $<36^{\circ}\text{C}$), purulent sputum, leukocytosis ($>10,000$ cells/ mm^3) or leukopenia ($<4,000$ cells/ mm^3) or a decline in oxygenation; ventilator-associated pneumonia was defined as pneumonia occurring in patients at mechanical ventilation for >48 hours and ventilator-associated tracheobronchitis was defined by the same criteria but in the absence of a pulmonary infiltrate; polymicrobial infections; Charlson comorbidity score (15) and the presence of specific comorbid conditions; creatinine clearance at the onset of therapy (estimated by Cockcroft-Gault Equation); APACHE II score (16) at the beginning of polymyxin B therapy; length of ICU admission previous to infection; use of vasoactive drugs and mechanical ventilation at the beginning of polymyxin B therapy; time to start polymyxin B; and polymyxin B dose. Dosages were evaluated as average daily dose of polymyxin B (sum of total daily dose each day divided by the number of days until the outcome or end of therapy) and by mg/kg/day.

Microbiology

All isolates were identified by the Vitek system (bioMérieux, Marcy-l'Etoile/France). Susceptibility was determined by disk-diffusion method for all antimicrobials and interpreted according to CLSI criteria (17), with the exception of polymyxin B for *A. baumannii* and rifampicin. MICs of polymyxin B were determined by broth microdilution or Etest® (bioMérieux) and a MIC ≤ 2 mg/L was considered susceptible. Etest® was used to determine the MIC for carbapenems and broth microdilution for rifampicin (>4 mg/L= resistance).

Statistical analysis

All the statistical analysis was carried out using SPSS for windows, version 18.0. Bivariate analysis was performed separately for each of the variables. *P* values were calculated using the χ^2 or Fisher's exact test for categorical variables and the Student's t-test or the Wilcoxon rank-sum test for continuous variables. Kolmogorov-Smirnov test was performed to assess for normal distribution. Covariates with a *P* value ≤ 0.2 were included in a Cox proportional hazards model in a forward stepwise regression. Variables with a *P* value ≤ 0.10 were maintained in the model.

In order to adjust for potential confounding of indication, we compared variables between combination and monotherapy therapies. Variables with *P* values ≤ 0.20 were further included in the Cox model for mortality. A propensity score were also created in a logistic regression model, including these latter variables and was tested in the final model.

Proportional hazards assumption was graphically checked inspecting the log[-log(S)] plot. Collinearity was assessed. Tests for interactions were not performed. All tests were two-tailed and a *P* value ≤ 0.05 was considered significant.

RESULTS

A total of 101 patients were included in the study (Figure1). The mean age of patients was 65.2 ± 15.7 years, 55.4% were male and the mean weight was 70.1 ± 18.2 kg. The sites of infection were: respiratory tract (82, 81.2%), primary bloodstream infections (9, 8.9%), intra-abdominal (6, 5.9%), upper urinary tract (4, 4.0%). Ten patients (9.9%) had bacteremia complicating a primary site of infection. So, for analysis purpose, 19 (18.8%) patients were considered to have bacteremia. Most infections were caused by *A. baumannii*

(83, 82.2%), and the other 18 (17.8%) by *P. aeruginosa*. All isolates presented the XDR susceptible profile and none was resistant to polymyxin B. MICs of polymyxin B were determined in 88 isolates and the MIC₅₀ and MIC₉₀ were 0.25 and 1 mg/L, respectively, ranging from 0.03 to 2mg/L.

The mean polymyxin B daily dose by mg/kg was 2.3 ± 0.6 and the median average daily dose was 150mg (Interquartile Range [IQR], 150-160). Thirty (29.7%) received doses of <2 mg/kg/day of polymyxin B, 63 (62.4%) received doses between 2-2.99mg/kg/day and 8 (7.9%) doses ≥ 3 mg/kg/day.

The overall 30-day mortality was 59.4% (60 patients). The median time to death was 12 days (IQR, 7-19). Thirty-three (32.7%) patients were treated with polymyxin B in combination and 68 (67.3%) with polymyxin B in monotherapy. The 30-day mortality in patients receiving combination and monotherapy were 42.4% (14 of 33) and 67.7% (46 of 68), $P=0.03$, respectively. After the onset of infection, the mortality rates were 18.5/1000 patients-day and 36.4/1000 patients-day, $P=0.02$ (Log Rank; Figure 2), in combination and monotherapy groups, respectively.

Median MICs of polymyxin B were similar between combination and monotherapy groups: 0.25 mg/L (Interquartile Range, ≤ 0.125 -0.50) and 0.25 mg/L (≤ 0.125 -1), $P=0.75$, respectively. The characteristics of patients receiving combination and monotherapy are shown in table 1. Polymicrobial infection ($P=0.02$), *A. baumannii* infections ($P=0.19$), connective tissue disease ($P=0.17$), polymyxin B daily dose ($P=0.17$) were selected for inclusion in the Cox regression model and for creation of propensity score.

The bivariate analysis for mortality is shown in Table 2. In multivariate analysis, combination therapy was independently associated with lower 30-day mortality. A creatinine clearance ≥ 60 ml/min was also protective factor, while a higher APACHE II score and polymicrobial infection were associated with increased mortality (Table 3). Models were also performed forcing time to initiate polymyxin B therapy, in order to adjust for potential residual confounding, and with the propensity score. Both were neither significant nor modified by more than 10% the β coefficients of any variable in the model.

A total of 31 (93.9%) of the 33 patients from combination group initiated the combined antibiotic at the same time of polymyxin B, one (2.6%) within the first 24 hours and one (2.6%) within 48 hours of polymyxin B initiation. These latter patients received meropenem and ampicillim-sulbactam respectively. The description of combination schemes are displayed in Table 4.

Subgroup analysis

Combination therapy was also beneficial if only combination with a β -lactam or a carbapenem were considered, and in the subgroup of patients with *A. baumannii* infections and with low respiratory tract infections (Table 5). There was no difference between combination and monotherapy in patients with bacteremia (Table 5). Three (16.5%) of 18 patients with *P. aeruginosa* infections received combination therapy and all survived, while 30-day mortality was 93.3% (14 of 15) in those treated with monotherapy ($P=0.005$). The absence of death in combination group precluded a multivariate analysis.

DISCUSSION

Our study found a highly protective effect of polymyxin B in combination with an *in vitro* non-susceptible antibiotic on 30-day mortality of patients with XDR *A. baumannii* and *P. aeruginosa* infections. To our knowledge, this was the first study to demonstrate a beneficial effect of a polymyxin in combination for infections by these organisms and the first to found such effect combining a second drug without *in vitro* susceptibility.

Indeed, most patients in combination group received a β -lactam; from these, most were treated with carbapenems (all except one, who received imipenem, were treated with meropenem). As expected, both analyses including only β -lactam and only carbapenems showed very similar protective effect on mortality. Considering that almost all patients receiving combinations actually received a β -lactam, along with the results of subgroup analysis, we believe that the results of this cohort study could be more properly generalized to polymyxin B schemes containing an antibiotic of this class, mainly a carbapenem, in combination. Noteworthy, with the exception of one isolate of *A. baumannii* with a meropenem MIC= 4mg/L (a 30-day non-survivor), all other isolates presented high-level resistance to carbapenems.

The demonstration that the effect of combination therapy did not rely on the activity of a second antimicrobial with *in vitro* susceptibility is of paramount importance. First, because in clinical practice, polymyxins-only-susceptible GNB, particularly *A. baumannii* and *P. aeruginosa*, is a quite common, if not the most common, phenotype of these XDR organisms (1). Second, because it suggests that a synergic action might have occurred *in vivo*, possibly resulting in a more potent microbiological action (18), since with the high-level resistance to carbapenems (most MICs >32mg/L) presented by the isolates, the

pharmacokinetic/pharmacodynamic target is unlikely attained even with high-dose extended infusion schemes (19).

One strength of this study was that we aimed to control for the potential for indication bias, either by evaluating variables potentially associated with combination therapy use one by one in the multivariate model or by including a propensity score into the model, created with these same variables. As neither variables differing between combination and monotherapy groups, with the exception of polymicrobial infection, remained in the final model nor the propensity score changed any variable in the final model, we believe that our main results were not affected by indication bias.

Another difference from previous studies was that polymyxin B dose and time to initiation of therapy (this later forced into the model) were considered in the analysis. Nonetheless, none was associated with the outcome. Differently from a previous study (20), the lack of association between dose and outcome was most likely due to the fact that there was a low variability in polymyxin B dose regimes, with most receiving doses between 2 and 3 mg/kg/day. Ultimately, this indicates that our results may not be explained by distinct polymyxin B dose regimes between combination and monotherapy. It should also be strengthened that doses were prescribed according to recent recommendations (13), and no adjustment for renal dysfunction was performed. Finally, in our study, polymyxin B was compared with polymyxin B plus a second antimicrobial, while most previous studies have compared several combination schemes (with and without polymyxins) against other distinct antimicrobials alone (7).

The protective effect was also found in the subgroup of patients with *A. baumannii* infections and, despite the low number of infections, there was a remarkable difference in mortality in the few patients treated with combination compared to monotherapy for *P.*

aeruginosa infections. In the subgroup of patients with respiratory tract infections, combination therapy remained protective in the multivariate model. In fact, since most patients had infections at this site, we believe that our results may be more readily and safely generalized to patients with respiratory tract infection, especially because we did not find a significantly protective effect of combination therapy in the group of patients with non-respiratory infections (data not shown). Finally, there was no difference between the therapeutic strategies in bacteremic patients. However, the low number of patients included in this subgroup precluded any definitive conclusion.

The study was limited by the small number of patients with *P. aeruginosa* infections that ultimately hamper the evaluation of this subgroup in multivariate analysis. We could also not have polymyxin B MICs of all *P. aeruginosa* isolates; however, all proved to be susceptible by disk-diffusion method, which is recommended by the CLSI. Additionally, some isolates were not tested for polymyxin B by broth microdilution but by E-test. However, although E-test may not precisely correlate with broth microdilution, many studies have found excellent rates of categorical agreement between these methods (21-23). Therefore, we believe that it unlikely biased our results. Finally, there were many exclusions of patients who were treated for <48 hours or died within the first 48h of therapy. However, we believe that these exclusions have also unlikely affected our results. First, because patients receiving at least one dose of polymyxin B for *A. baumannii* or *P. aeruginosa* were initially selected for the study, regardless of the antimicrobial susceptibility profile of the isolates; and, posteriorly, when it was available to clinician, treatment was changed to another agent in 56 patients. Additionally, the exclusion of patients dying before 48 hours of therapy had been previously defined based on the rationale that deaths occurring within this period would be very unlikely related to the

treatment itself (either combination or monotherapy), including because the steady-state of polymyxin B is reached after 48 hours of therapy (13).

In summary, our study showed that the combination of polymyxin B with an *in vitro* non-susceptible antimicrobial, mainly carbapenems, was able to significantly and importantly decrease the risk of mortality in critically-ill patients infected by XDR *A. baumannii* or *P. aeruginosa*. Nonetheless, although the magnitude of the protective effect of combination therapy found in our study was clinically important, while randomized clinical trials are not available, we believe that further cohort studies addressing important confounding factors are necessary before adopting combination therapy as the standard of care for all patients with such infections.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Leonardo Lopes and Mariá Nunes for the collaboration in clinical data collection.

The study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil and “Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.”

REFERENCES

- (1) **Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB.** 2013. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* **11**: 1333-53.
- (2) **Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Lijequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Webet JT, Monnet DL.** 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* **18**: 268-81.
- (3) **Spellberg B, Bonomo RA.** 2014. The deadly impact of extreme drug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Crit Care Med* **42**: 1289-91.
- (4) **Kollef MH, Chastre J, Fagon JY, François B, Niederman MS, Rello J, Torres A, Vincent JL, Wunderink RG, Go KW, Rehm C.** 2014. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* **42** :2178-8
- (5) **Nation RL, Velkov T, Li J.** 2014. Colistin and Polymyxin B: Peas in a Pod, or Chalk and Cheese? *Clin Infect Dis* **59**:88-94
- (6) **Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL.** 2007. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* **60**:1206-15.
- (7) **Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, Mouton JW, Tacconelli E, Theuretzbacher U, Mussini C, Leibovivi L.** 2014. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* **69**:2305-9.

- (8) **Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De Cristoforo M, Murino P, Bassetti M, Malacarne P, Petrosillo N, Galdieri N, Mocavero P, Corcione A, Viscoli C, Zarrilli R, Gallo C, Utili R.** 2013. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis* **57**:349-58.
- (9) **Aydemir H, Akduman D, Piskin N, Comert F, Horuz E, Terzi A, Kokturk F, Ornek T, Celebi G.** 2013. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Epidemiol Infect* **141**:1214-22.
- (10) **Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M.** 2012. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* **55**:943-50.
- (11) **Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A.** 2014. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* **58**:2322-8.
- (12) **Falagas ME, Rafailidis PI, Kasiakou SK, Hatzopoulou P, Michalopoulos A.** 2006. Effectiveness and nephrotoxicity of colistin monotherapy vs. colistin-meropenem combination therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Microbiol Infect* **12**:1227-30.

- (13) **Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, Behle TF, Saitovitch D, Wang J, Forrest A, Nation RL, Zavascki AP, Li J.** 2013. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis* **57**:524-31.
- (14) **Horan TC, Andrus M, Dudeck MA.** 2008. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* **36**:309-32.
- (15) **Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR.** 1987. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* **40**:373-83.
- (16) **Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE.** 1985. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* **13**:818-29.
- (17) **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M100-S21. Wayne, PA, USA: CLSI; 2011.
- (18) **Bergen PJ, Bulman ZP, Saju S, Bulitta JB, Landersdorfer C, Forrest A, Li J, Nation RL, Tsuji BT.** 2015. Polymyxin combinations: pharmacokinetics and pharmacodynamics for rationale use. *Pharmacotherapy*. **35**:34-42.
- (19) **Roberts JA, Kirkpatrick CM, Roberts MS, Robertson TA, Dalley AJ, Lipman J.** 2009. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo

- dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother* 64:142-50.
- (20) **Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP.** 2010. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 65:2231-7.
- (21) **Lat A, Clock SA, Wu F, Whittier S, Della-Latta P, Fauntleroy K, Jenkins SG, Saiman L, Kubin CJ.** 2011. Comparison of polymyxin B, tigecycline, cefepime, and meropenem MICs for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* by broth microdilution, Vitek 2, and Etest. *J Clin Microbiol.* 49:1795-8.
- (22) **Girardello R, Bispo PJ, Yamanaka TM, Gales AC.** 2012. Cation concentration variability of four distinct Mueller-Hinton agar brands influences polymyxin B susceptibility results. *J Clin Microbiol* 50:2414-8.
- (23) **Lee SY, Shin JH, Lee K, Joo MY, Park KH, Shin MG, Suh SP, Ryang DW, Kim SH.** 2013. Comparison of the Vitek 2, MicroScan, and Etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of bloodstream isolates of *Acinetobacter* species from a Korean university hospital. *J Clin Microbiol.* 51:1924-6.

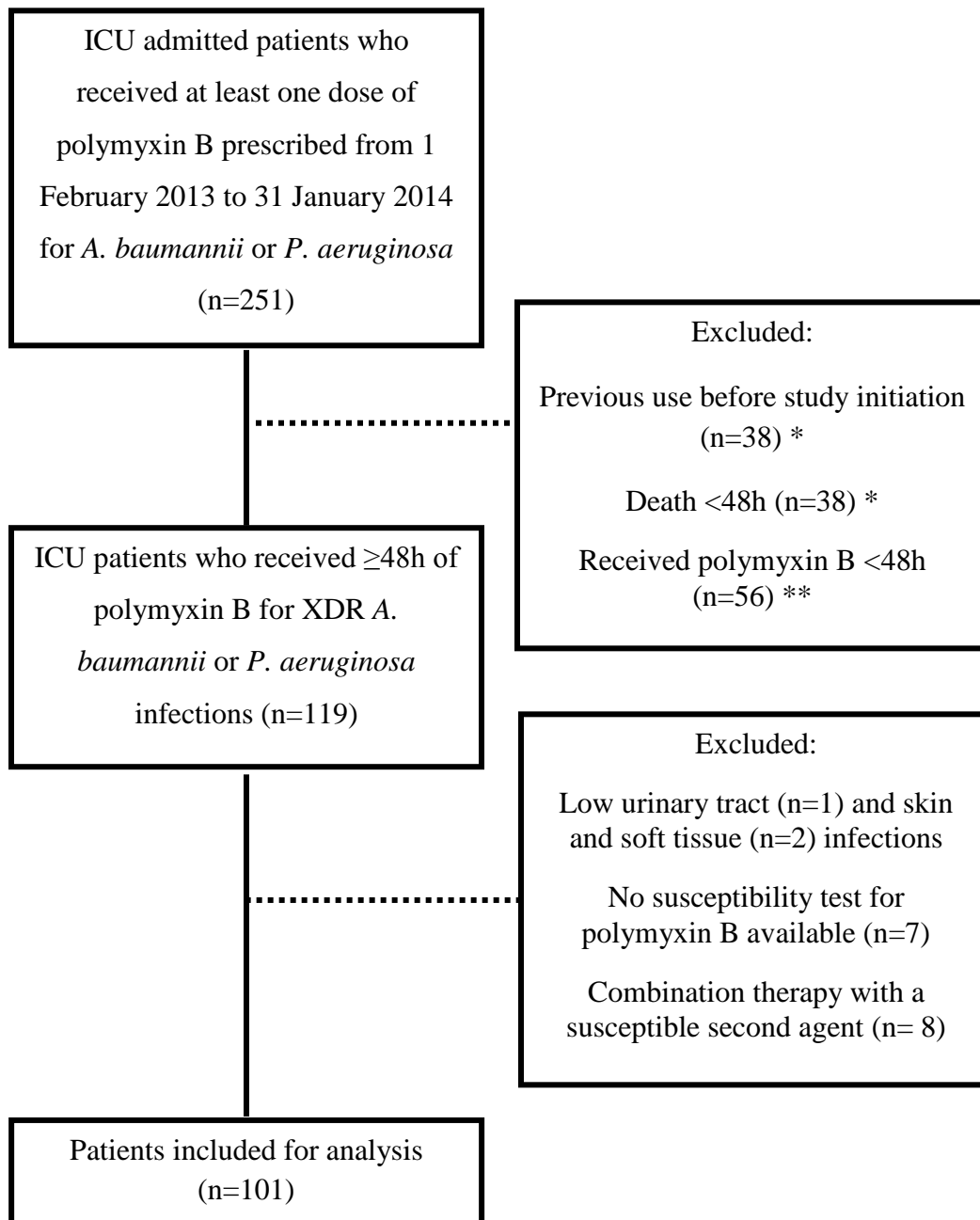


Figure 1. Flowchart with the number of eligible included and excluded patients.

* Including patients with infections by *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* also susceptible to antimicrobials other than polymyxin B.

** Patients with infections by *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* infections also susceptible to antimicrobials other than polymyxin B, who changed treatment for other agent after the results of antimicrobial susceptibility tests were available.

ICU= intensive care unit; XDR= extensively-drug-resistant.

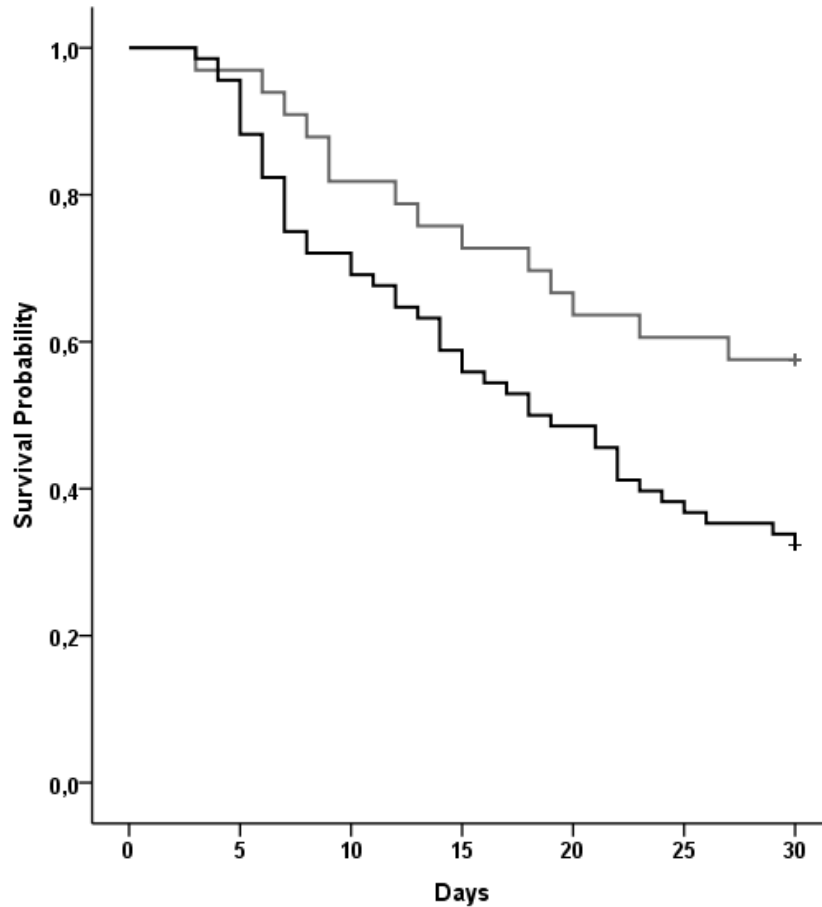


Figure 2. Survival curves of patients receiving polymyxin B in combination with *in vitro* non-susceptible antimicrobials (grey line) and in monotherapy (black line) for severe infections by extensively-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa*. Mortality rates were 18.5/1000 patients-day and 36.4/1000 patients-day, $P=0.02$, in combination and monotherapy groups, respectively.

TABLE 1 Characteristics of patients receiving combination and monotherapy antimicrobial regimes^a

Variable	Combination (n=33)	Monotherapy (n=68)	P
Gender (male)	18 (54.5)	38 (55.9)	0.99
Age, years	62.7±15.6	66.5±15.7	0.56
Weight, kg	72.1±20.6	69.1±16.9	0.43
Body Mass Index	26.2±6.5	25.3±5.9	0.88
Estimated Creatinine Clearance, ≥60 mL/min	11 (33.3)	20 (29.4)	0.86
Hospital, A	32 (97.0)	62 (91.2)	0.51
Bacteria, <i>A. baumannii</i>	30 (90.9)	53 (77.9)	0.19
Primary site of infection			
Primary bloodstream infection	4 (12.1)	5 (7.4)	0.47
Respiratory infection ^b	25 (75.8)	57 (83.8)	0.33
Abdominal infection	3 (9.1)	3 (4.4)	0.63
Upper urinary tract infection	1 (3.0)	3 (4.4)	0.99
Bacteremia	5 (15.2)	14 (20.6)	0.70
Polymicrobial infection	11 (33.3)	8 (11.8)	0.02
Comorbidities			
Cardiovascular disease	22 (66.7)	43 (63.2)	0.91
Pulmonary disease	5 (15.2)	19 (27.9)	0.24
Central Nervous system disease	8 (24.2)	18 (26.5)	0.99
Liver disease	3 (9.1)	5 (7.4)	0.71
Dialysis	6 (18.2)	11 (16.2)	0.99

Gastrointestinal disease	1 (3.0)	4 (5.9)	0.90
Connective tissue disease	0 (0)	5 (7.4)	0.17
Diabetes	9 (27.3)	12 (17.6)	0.39
Neoplasia	5 (15.2)	8 (11.8)	0.87
Lymphoproliferative disease	1 (3.0)	3 (4.4)	0.99
HIV/AIDS	2 (6.1)	7 (10.3)	0.71
Charlson	2 (1-5)	2 (1-3.75)	0.76
APACHE II (polymyxin B onset)	20.8±7.4	19.5±6.4	0.34
Length of ICU stay before polymyxin B initiation	11 (5.5-16)	8.5 (6-16.75)	0.93
Vasoactive drug	19 (57.6)	30 (44.1)	0.29
Mechanical ventilation	27 (81.8)	53 (77.9)	0.85
Time to start polymyxin B, days ^c	2 (0-3)	2 (0-3)	0.72
Polymyxin B mg/kg/d	2.2±0.5	2.3±0.6	0.61
Polymyxin B dose, mg/d	153.5±22.0	152.5±34.3	0.17

^aData are presented as number (%), mean ±SD or median (25th percentile–75th percentile).

^bTwenty-seven with pneumonia, 47 with ventilator associated pneumonia and 8 with ventilator associated traqueobronchitis.

^cTime=zero means polymyxin B empirical therapy.

TABLE 2 Potential risk factors for 30-day mortality in patients treated with polymyxin B ^a

Variable	30-day Mortality		P
	Yes (n=60)	No (n=41)	
Gender (male)	32 (53.3)	24 (58.5)	0.75
Age, years	66.0±16.4	64.1±14.7	0.76
Weight, kg	71.1±19.7	68.6±15.1	0.51
Body Mass Index	26.1±6.6	24.8±5.2	0.10
Estimated Creatinine Clearance, _{≥60} mL/min	12 (20)	19 (46.3)	0.01
Hospital, A	56 (93.3)	38 (92.7)	0.99
Bacteria, <i>A. baumannii</i>	46 (76.7)	37 (90.2)	0.11
Primary site of infection			
Primary bloodstream infection	7 (11.7)	2 (4.9)	0.31
Respiratory infection	48 (80.0)	34 (82.9)	0.91
Abdominal infection	2 (3.3)	4 (9.8)	0.22
Upper urinary tract infection	3 (5.0)	1 (2.4)	0.65
Bacteremia	14 (23.3)	5 (12.2)	0.25
Polymicrobial infection	11 (18.3)	8 (19.5)	0.99
Comorbidities			
Cardiovascular disease	40 (66.7)	25 (61.0)	0.71
Pulmonary disease	17 (28.3)	7 (17.1)	0.29
Central Nervous system disease	16 (26.7)	10(24.4)	0.98
Liver disease	5 (8.3)	3 (7.3)	0.99
Dyalisis	9 (15.0)	8 (19.5)	0.75
Gastrointestinal disease	2 (3.3)	3(7.3)	0.39

Connective tissue disease	3 (5.0)	2 (4.9)	0.99
Diabetes	12 (20.0)	9 (22.0)	0.99
Neoplasia	8 (13.3)	5 (12.2)	0.99
Lymphoproliferative disease	4 (6.7)	0 (0)	0.14
HIV/AIDS	5 (8.3)	4 (9.8)	0.99
Charlson	2 (1-4.75)	1 (1-4)	0.16
APACHE II (polymyxin B onset)	21.3±5.2	17.9±8.1	0.01
Length of ICU stay before polymyxin B initiation	8 (5.25-17.75)	10 (6-16)	0.31
Vasoactive drug	32 (53.3)	17 (41.5)	0.33
Mechanical ventilation	50 (83.3)	30 (73.2)	0.32
Combination therapy (CT)	14 (23.3)	19 (46.3)	0.03
Time to start polymyxin B, days ^b	2 (0-2.75)	2 (0-3)	0.81
Polymyxin B mg/kg/d	2.2 ±0.5	2.3±0.6	0.59
Polymyxin B dose, mg/d	153.4±34.7	152.0±24.1	0.17

^aData are presented as number (%), mean ±SD or median (25th percentile–75th percentile).

^bTime=zero means polymyxin B empirical therapy.

TABLE 3 Cox - proportional hazards regression model for 30-day mortality ^a

Variable	HR	95%CI	P
Combination Therapy	0.33	0.17-0.64	0.001
APACHE II (polymyxin B onset)	1.06	1.02-1.10	0.005
Creatinine Clearance ≥ 60 ml/min	0.42	0.22-0.81	0.009
Polymicrobial infection	2.01	1.01-4.0	0.05

HR=Hazard ratio; CI= confidence interval.

^a The inclusion of time to initiate therapy ($P=0.33$) and the propensity score ($P=0.36$) in the model did not change the results of the other variables. The propensity score for prescribing combination therapy included polymicrobial infection, *Acinetobacter baumannii* infections, connective tissue disease, polymyxin B daily dose in a logistic regression model using a parsimonious backward stepwise method (Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test: χ^2 -square= 5.182; $P=0.64$).

TABLE 4 Antimicrobials used in combination with polymyxin B

Antimicrobial ^a	n=33	Daily dose	Baseline Creatinine Clearance, L/min	30-day mortality n=14 (42.4%)
meropenem	23 (69.7)	3g (2-3) ^b	52.3 (27.5-80.5) ^b 7 in dialysis	11 (47.8)
imipenem	1 (3.0)	500mg	24.4	1 (100)
ampicillin-sulbactam	3 (6.4)	6g, 9g, 12g	14.1, 27.3, 103.4	0
piperacillin-tazobactam	2 (4.3)	9g , 13.5g	33.4, 54.2	1 (50.0)
rifampin	1 (3.0)	900mg	35.0	1 (100)
amikacin	3 (9.1)	1000mg	62.9/ 81.9/ 161.1	0 (0)

^a All except one (MIC=4mg/L for meropenem and classified as “intermediate”) were resistant according to CLSI (18); rifampicin MIC >16mg/L.

^b Median daily dose (interquartile range)

TABLE 5 Hazard ratio of combination therapy for 30-day mortality in the subgroup analysis

Subgroup ^a	N	HR	95% CI	P
Combination with a β -lactam ^b	97	0.33	0.17-0.66	0.002
Combination with carbapenem ^c	92	0.40	0.20-0.81	0.01
<i>Acinetobacter baumannii</i> infections	83	0.44	0.22-0.87	0.018
Low respiratory tract infection	82	0.31	0.14-0.66	0.003
Bacteremia	19	0.58	0.11-3.12	0.52

HR=Hazard ratio; CI= confidence interval.

^a Adjusted for APACHE II at polymyxin B onset, creatinine clearance ≥ 60 ml/min and polymicrobial infection.

^b Twenty-four patients received a carbapenem, 3 ampicillin-sulbactam, 2 piperacillin-tazobactam..

^c Twenty-three patients received meropenem and one imipenem.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi mostrado a partir deste trabalho, e pela primeira vez, que a nefrotoxicidade da polimixina B depende da dose média diária, independente do peso e da relação de mg/kg utilizada da droga. Maior risco de nefrotoxicidade foi encontrado com doses entre 150-199mg de polimixina B, sem aumento significativo com doses maiores- sugerindo uma dose máxima de tolerância renal.

Quando comparado as duas polimixinas disponíveis para uso clínico, foi mostrado maiores taxas de falência renal em pacientes em uso de colistina comparado à polimixina B. Isso ocorreu independente da função renal de base dos pacientes. Estes dados foram inovadores uma vez que mostraram que colistina teve um pior perfil nefrotóxico mesmo quando considerado falência renal como desfecho primário. A falência renal é menos susceptível a fatores de confusão que podem influenciar estágios iniciais de comprometimento da função renal. Além disso, as maiores taxas de nefrotoxicidade de colistina ocorreram mesmo tendo sido usado doses plenas de polimixina B - não ajustada para a função renal- em todos os pacientes. Estes dados sugerem que polimixina B pode ser a polimixina de escolha em pacientes com outros fatores de risco para nefrotoxicidade.

Foi mostrado pela primeira vez em um estudo clínico a redução de mortalidade ao combinar um segundo agente antimicrobiano com polimixina B no tratamento de *A. baumannii* ou *P. aeruginosa*, em pacientes criticamente enfermos. Este dado veio em concordância com achados prévios de estudos *in vitro* que sugeriam aumento da atividade bactericida destas drogas em combinação. Estes achados servem de base para condução de futuros ensaios clínicos randomizados.

Este estudo elucidou pontos importantes no entendimento da nefrotoxicidade por polimixinas e nos fatores que influenciam o desfecho clínico dos pacientes em uso destas drogas. A contribuição científica destes achados tem um papel fundamental na otimização do uso destas drogas e servem de base para novos estudos.

11. ANEXOS

QUESTIONÁRIO DE PESQUISA

Nefrotoxicidade de polimixinas: fatores de risco e comparação entre polimixina B e colistina

- 1) Nome: _____ Sexo (m) (f) Idade: _____ anos
 Hospital: _____ Registro: _____ Leito: _____
 Data da Internação Hospitalar: ____ / ____ / ____
- 2) Peso: _____ Altura: _____ Peso Ideal= IMC=
- 3) Droga utilizada : Polimixina B () Colistina ()
- 4) Sítio da infecção: pulmonar: [Pneumonia () traqueobronquite () PAV () TBAV ()] urinário: [ITU baixa () PNA ()] CVC () corrente sanguínea: [bacteremia primária () secundária a outro foco ()] intra abdominal () SNC () Pele /partes moles () Infecção de Sítio Cirúrgico ()
 Outro _____ ()
- Procedimento cirúrgico PARA o tratamento da infecção S () N ()
- Retirada de CVC, se sítio CVC () Data da retirada: ____/____/____
- 5) Tratamento:
 Empírico () Germe isolado () Qual(is)? _____
 Material: _____ data do isolamento: ____/____/____
 MIC poli B _____ método _____
 MIC colistina _____ método _____
 perfil de sensibilidade: imipenem () meropenem () aztreonam piperacilina-tazobactama ()

cefepima () ceftazidima () cefalotina () ciprofloxacino () amicacina ()

gentamicina () tigeciclina () doxiciclina () ampicilina-sulbactama () outro ()

6) Infecção polimicrobiana? sim () não () se sim, germe: _____

- Perfil de Sensibilidade: _____

- Tratamento: _____

Data do início da polimixina B () / colistina (): _____ / _____ / _____

Data do término da polimixina : _____ / _____ / _____

Dose total cumulativa: _____

dose média total (dose cumulativa/ dias de uso) _____ Dose mg/kg/dia: _____

Posologia: _____

Se colistina: informar dose de colistina base (colestimetato) _____

Dose de ataque colistina S () N ()

Se sim, qual dose de ataque? _____

Marca (Laboratório da droga): _____

Diluição _____ mL Tempo de Infusão _____

7) Outra medicação durante o tratamento com polimixina :

Aminoglicosídeo S() N() qual? _____ dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

Vancomicina S() N() dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

AINE S() N() dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

Furosemida S() N() dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

Anfotericina S() N() qual? _____ dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

Antivirais S() N() qual? _____ dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

vasopressor S() N() dias de uso (concomitante ao uso de polimixina) _____

Outros

qual? _____ dias de uso _____

qual? _____ dias de uso _____

qual? _____ dias de uso _____

8) Exame com contraste nefrotóxico 2 dias antes do início ou durante o tratamento? S () N ()
Se sim, data __/__/__

9) Desfecho hospitalar: óbito () alta () data __/__/__

10) Óbito em 30 dias: S () N () não sei (alta antes de 30 dias, sem retorno posterior) ()

11) Internação em UTI no início do tratamento S () N ()

Se sim, data de internação __/__/__ data da alta _____/_____/_____

12) Ventilação mecânica no início do tratamento

sim () não () data de início __/__/__

13) Doença(s) de base: cardiovascular () pulmonar () SNC () hepatopatia ()

Insuficiência renal crônica () aparelho digestivo () tecido conjuntivo () DM ()

neoplasia maligna () doença linfoproliferativa () HIV/AIDS ()

Se doença linfoproliferativa ou neoplasia maligna- presença de neutropenia no início do tratamento (neutrófilos < 1000) S () N ()

14) Escore de comorbidade de CHARLSON _____

15) Se internado na UTI:

- Escore APACHE II (internação na UTI): _____
- Escore APACHE II (início do ATB) : _____

16) Infecções por outros microorganismos (em outro sítio) associada- durante o período de uso da polimixina? sim () não ()

- Se sim, sítio: _____ germe: _____
- Sensibilidade: _____
- Tratamento: _____

17) Culturas **do sítio de infecção** após início do tratamento: () S () N

Culturas positivas para o mesmo germe do início da infecção S () N ()

Se sim, citar datas _____

18) Antibioticoterapia prévia ao isolamento (14 dias)? sim () não ()

Se sim, qual (is)- anotar o último esquema utilizado? _____

19) Outra toxicidade reportada relacionada ao uso das polimixina S () N ()

- Neurotoxicidade
 - Convulsão S () N ()
 - Sintomas sensoriais S () N () quais _____
 - Sintomas motores S () N () quais _____
 - Sintomas autonômicos S () N () quais _____
- Hiperpigmentação cutânea S () N ()
- Outro S () N () qual? _____

20) Insuficiência renal crônica no início do tratamento S () N ()

Se sim, não precisa coletar os dados abaixo.

21) DCE (Cockcroft- Gault) no início do tratamento com polimixina _____ (se não houver creatinina coletada no DO, considerar a primeira creatinina anterior disponível)

22) Preencheu critérios no RIFLE OU AKIN S () N ()

Dia	Diurese 6hs	Diurese 12hs	Creatinina	AKIN	RIFLE
0					
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					

24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					

Obs:

-Marcar na tabela o dia em que preencheu os critérios para entrar no escore de RIFLE e AKIN e também o dia em que atingiu o pior valor do escore.

-Anotar os valores de creatinina, quando disponíveis, por 14 dias após o fim do tratamento

Orientações para a aplicação do questionário

1) Dados de identificação- registro dos dados do prontuário

2) Peso e Altura

- Nos pacientes de enfermaria- anotar os dados medidos (pela equipe de nutrição ou enfermagem)

- Nos pacientes de UTI ou restritos ao leito (sem condições de obter peso e altura) estimar peso e altura.

4) Sítio da infecção

-Registrar o sítio da infecção que motivou o uso de polimixina B ou colistina. Se infecção sem sítio definido especificar em “outros”.

-Sítio Respiratório

Utilizar os critérios da ATS para definir infecção respiratória

Pneumonia:

- infiltrado pulmonar novo em exame radiológico do tórax e pelo menos dois de três critérios clínicos:

- febre > 38°C ou hipotermia < 36 °C
- leucocitose (>12.000/ml) ou leucopenia (<4.000/ml)
- secreção purulenta no aspirado traqueal.

Traqueobronquite:

- Secreção respiratória purulenta, mais 1 dos abaixo:

- leucocitose (>12.000/ml) ou leucopenia (<4.000/ml)

- secreção purulenta no aspirado traqueal.

-Ausência de infiltrado novo em exame radiológico do tórax

PAV (Pneumonia associada à ventilação mecânica):

- Mesmos critérios para pneumonia com início após 48 horas de ventilação mecânica

TBAV (Traqueobronquite associada à ventilação mecânica):

- Mesmos critérios para traqueobronquite com início após 48 horas de ventilação mecânica

-Infecção urinária

ITU(Infecção de trato urinário baixo) :

- Sintomas (disúria, polaciúria, dor suprapúbica)
- EQU (Urina tipo1, exame comum de urina) com leucocitúria

PNA (Pielonefrite aguda)

- Sintomas acima associados a febre e /ou alterações em exame de imagem compatíveis

- CVC (Cateter Venoso Central)

Crescimento bacteriano em isolado em ponta de cateter

Critério de hemoculturas pareadas com diferencial de 2 horas para CVC.

- Bacteremia

- Primária – sem foco definido
- Secundária a outro foco de infecção (marcar o outro foco no item apropriado)

- Intra abdominal

Exame de imagem do abdome compatível ou procedimento cirúrgico confirmando foco abdominal

- SNC (Sistema Nervoso Central)

Exame de imagem compatível (abscesso..) ou alteração em exame líquórico sugestivo de meningite bacteriana.

-Pele /partes moles

Alterações clínicas compatíveis

- Infecção de Sítio Cirúrgico

Marcar se houver procedimento cirúrgico prévio no sítio da infecção. Marcar também o sítio no item apropriado.

5) Tratamento

-Se infecção microbiologicamente confirmada e realizado MIC para polimixina B ou colistina (na rotina do laboratório) registrar o MIC e o método realizado (vitek, e-test, microdiluição...)

10) Internação em UTI

Não – Não esteve internado em UTI em nenhum momento

No início do tratamento - Estava internado na UTI quando iniciou polimixina

Após o início do tratamento – Já tinha iniciado o tratamento quando foi para UTI

11)Ventilação mecânica durante o tratamento

Se estava em ventilação quando iniciou o tratamento ou se entrou em ventilação após o início do tratamento. Anotar a data.

13) Escore de comorbidade de CHARLSON

Table 1. Charlson Comorbidity Index Scoring System

Score	Condition
1	Myocardial infarction (history, not ECG changes only) Congestive heart failure Peripheral vascular disease (includes aortic aneurysm ≥ 6 cm) Cerebrovascular disease: CVA with mild or no residua or TIA Dementia Chronic pulmonary disease Connective tissue disease Peptic ulcer disease Mild liver disease (without portal hypertension, includes chronic hepatitis) Diabetes without end-organ damage (excludes diet-controlled alone)
2	Hemiplegia Moderate or severe renal disease Diabetes with end-organ damage (retinopathy, neuropathy, nephropathy, or brittle diabetes) Tumor without metastases (exclude if >5 y from diagnosis) Leukemia (acute or chronic) Lymphoma
3	Moderate or severe liver disease
6	Metastatic solid tumor AIDS (not just HIV positive)

NOTE. For each decade > 40 years of age, a score of 1 is added to the above score.

Abbreviations: ECG, electrocardiogram; CVA, cerebrovascular accident; TIA, transient ischemic attack; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; HIV, human immunodeficiency virus.

14) Se internado na UTI:

- a. Escore APACHE II (internação na UTI):
- b. Escore APACHE II (início do ATB)

Physiologic Variable	High Abnormal Range					Low Abnormal Range				Points
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4	
Temperature - rectal (°C)	≥41°	39 to 40.9°		38.5 to 38.9°	36 to 38.4°	34 to 35.9°	32 to 33.9°	30 to 31.9°	≤29.9°	
Mean Arterial Pressure - mm Hg	≥160	130 to 159	110 to 129		70 to 109		50 to 69		≤49	
Heart Rate (ventricular response)	≥180	140 to 179	110 to 139		70 to 109		55 to 69	40 to 54	≤39	
Respiratory Rate (non-ventilated or ventilated)	≥50	35 to 49		25 to 34	12 to 24	10 to 11	6 to 9		≤5	
Oxygenation: A-aDO ₂ or PaO ₂ (mm Hg) a. FIO ₂ ≥0.5 record A-aDO ₂ b. FIO ₂ <0.5 record PaO ₂	≥500	350 to 499	200 to 349		<200 PO ₂ >70	PO ₂ 61 to 70		PO ₂ 55 to 60	PO ₂ <55	
Arterial pH (preferred)	≥7.7	7.6 to 7.69		7.5 to 7.59	7.33 to 7.49		7.25 to 7.32	7.15 to 7.24	<7.15	
Serum HCO ₃ (venous mEq/l) (not preferred, but may use if no ABGs)	≥52	41 to 51.9		32 to 40.9	22 to 31.9		18 to 21.9	15 to 17.9	<15	
Serum Sodium (mEq/l)	≥180	160 to 179	155 to 159	150 to 154	130 to 149		120 to 129	111 to 119	≤110	
Serum Potassium (mEq/l)	≥7	6 to 6.9		5.5 to 5.9	3.5 to 5.4	3 to 3.4	2.5 to 2.9		<2.5	
Serum Creatinine (mg/dl) Double point score for acute renal failure	≥3.5	2 to 3.4	1.5 to 1.9		0.6 to 1.4		<0.6			
Hematocrit (%)	≥60		50 to 59.9	46 to 49.9	30 to 45.9		20 to 29.9		<20	
White Blood Count (total/mm ³) (in 1000s)	≥40		20 to 39.9	15 to 19.9	3 to 14.9		1 to 2.9		<1	
Glasgow Coma Score (GCS) Score = 15 minus actual GCS										
A. Total Acute Physiology Score (sum of 12 above points)										
B. Age points (years) ≤44=0; 45 to 54=2; 55 to 64=3; 65 to 74=5; ≥75=6										
C. Chronic Health Points (see below)										
Total APACHE II Score (add together the points from A+B+C)										

Chronic Health Points: If the patient has a history of severe organ system insufficiency or is immunocompromised as defined below, assign points as follows:

- 5 points for nonoperative or emergency postoperative patients
- 2 points for elective postoperative patients

Definitions: organ insufficiency or immunocompromised state must have been evident prior to this hospital admission and conform to the following criteria:

- **Liver** – biopsy proven cirrhosis and documented portal hypertension; episodes of past upper GI bleeding attributed to portal hypertension; or prior episodes of hepatic failure/encephalopathy/coma.
- **Cardiovascular** – New York Heart Association Class IV.
- **Respiratory** – Chronic restrictive, obstructive, or vascular disease resulting in severe exercise restriction (i.e., unable to climb stairs or perform household duties; or documented chronic hypoxia, hypercapnia, secondary polycythemia, severe pulmonary hypertension (>40 mmHg), or respirator dependency.
- **Renal** – receiving chronic dialysis.

- **Immunocompromised** – the patient has received therapy that suppresses resistance to infection (e.g., immunosuppression, chemotherapy, radiation, long term or recent high dose steroids, or has a disease that is sufficiently advanced to suppress resistance to infection, e.g., leukemia, lymphoma, AIDS).

15) Infecção polimicrobiana

Mais de uma bactéria isolada no sítio da infecção que motivou o uso de polimixina.

16) Infecções por outros microorganismos (em outro sítio) associada

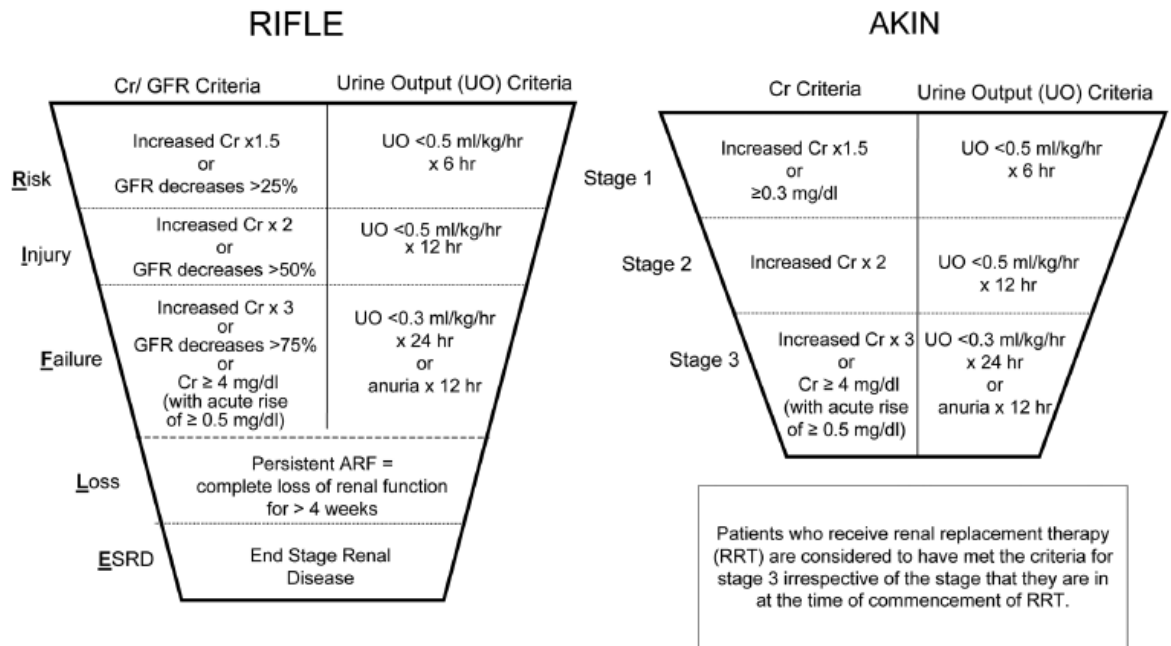
Infecções microbiologicamente confirmadas em sítio diferente do que motivou o uso da polimixina

Tabela

-Anotar os dados até o momento da alta do paciente

-Anotar a Proteína C Reativa, dose de vasopressor e diurese quando disponíveis.

Calcular os critérios de RIFLE e AKIN (para os pacientes sem diurese aferida, calcular baseado apenas na creatinina)



RIFLE and AKIN classifications for acute kidney injury. Risk–Injury–Failure–Loss–Endstage renal disease (RIFLE) and Acute Kidney Injury Network (AKIN) classifications for acute kidney injury (adapted from [6,7]). ARF, acute renal failure; Cr, creatinine; GFR, glomerular filtration rate.

23) Outra toxicidade reportada relacionada ao uso das polimixinas

Anotar, se reportado em prontuário, quaisquer outros efeitos adversos relacionados ao uso das polimixinas, detalhar.

Qualquer dúvida entrar em contato:

Maria Helena Rigatto

mhprigatto@gmail.com

Tel. (51) 92460185

