

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

Polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento da pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* .

Autora: Maria Helena da Silva Pitombeira Rigatto

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Zavascki

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2011

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

Polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento da pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* .

Autora: Maria Helena da Silva Pitombeira Rigatto

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Zavascki

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2011

### CIP - Catalogação na Publicação

da Silva Pitombeira Rigatto, Maria Helena  
Polimixina B em comparação com outros antibióticos  
no tratamento da pneumonia e traqueobronquite  
associadas à ventilação mecânica causadas por  
Pseudomonas aeruginosa ou Acinetobacter baumannii /  
Maria Helena da Silva Pitombeira Rigatto. -- 2011.  
88 f.

Orientador: Alexandre Zavascki.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2011.

1. Pseudomonas aeruginosa. 2. Acinetobacter  
baumannii. 3. Resistência a múltiplos medicamentos.  
4. Pneumonia associada a ventilação mecânica. 5.  
Polimixina B. I. Zavascki, Alexandre, orient. II.  
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Aos meus pais, Helena Pitombeira e Mario Rigatto, pelo amor  
que sempre dedicaram à medicina e à ciência.

Ao Marcelo, por todo o apoio durante esta caminhada...

## Agradecimentos

Ao Serviço de Infectologia da PUCRS, pelo amor que me ensinaram a ter à infectologia.

À equipe da Unidade de Terapia Intensiva do Hospital São Lucas da PUCRS pela receptividade durante todo o processo de coleta de dados.

À bolsista, Daniele Konzen, pelo empenho dedicado.

À bioquímica, Vanessa B.Ribeiro, pelo enorme apoio e paciência. Por tudo que me ensinou.

E, por fim, ao meu orientador Alexandre Zavascki, com toda minha admiração como médico e pesquisador, pelo apoio e incentivo contínuos, por me ajudar a olhar mais longe...

*“Diego não conhecia o mar. O pai, Santiago Kovadloff, levou-o para que descobrisse o mar... e foi tanta a imensidão do mar e tanto o seu fulgor, que o menino ficou mudo de beleza. E quando finalmente conseguiu falar, tremendo, gaguejando, pediu ao pai*

*- Me ajuda a olhar!”*

*Eduardo Galeano*

## Sumário

• Resumo.....	07
• <i>Abstract</i> .....	09
• Introdução.....	10
• Revisão da Literatura.....	15
1. <i>Acinetobacter baumannii</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
1.1. <i>Acinetobacter</i> .....	15
1.1.1. Microbiologia.....	15
1.1.2. Epidemiologia.....	16
1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
1.2.1. Microbiologia.....	18
1.2.2. Epidemiologia.....	20
1.3. Mecanismos de resistência antimicrobiana do <i>A.baumannii</i> e da <i>P.Aeruginosa</i> .....	19
1.3.1. Enzimas inativadoras das drogas.....	21
1.3.1.1. Beta- lactamases .....	21
1.3.1.2. Enzimas modificadoras aminoglicosídeos.....	25
1.3.2. Bombas de efluxo.....	26
1.3.3. Alterações de membrana.....	26
1.3.4. Modificações no sítio de ligação.....	27
2. Pneumonia e traqueobronquite associadas a ventilação mecânica.....	28

2.1. Pneumonia associada a ventilação mecânica.....	28
2.2. Traqueobronquite associada a ventilação mecânica.....	32
3. Polimixinas.....	34
• Justificativa.....	42
• Objetivos.....	43
• Referências Bibliográficas.....	44
• Artigo.....	57
• Considerações Gerais.....	82
1. Anexos.....	83
2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
3. Instrumento de Avaliação.....	86

## Resumo

Um estudo de coorte prospectivo foi realizado com o objetivo de comparar a eficácia da polimixina B à de outros antibióticos. Foram estudados pacientes com pneumonia ou traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Critérios de inclusão para este estudo foram idade igual ou superior a dezoito anos e uso de terapia antimicrobiana apropriada por período igual ou superior a 48 horas. O desfecho primário avaliado foi mortalidade em 30 dias. Variáveis clínicas foram comparadas entre os pacientes que utilizaram polimixina B e os que utilizaram outras drogas. O modelo de regressão de Cox foi realizado. Um total de 67 episódios ocorridos em 63 pacientes foi analisado: 45(67,2%) foram tratados com *polimixina B* e 22 (32,8%) com comparadores. A maior parte dos comparadores (72,7%) era de beta-lactâmicos. A maioria dos episódios foi de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV). As infecções foram causadas por *P. aeruginosa* em 28 casos (41,8%), por *A. baumannii* em 35 casos (52,2%) e por ambos em 4 casos (6%). A mortalidade geral em 30 dias foi de 44,8% (30 de 67): 53,3% (24 de 45) no grupo da polimixina B e 27,3% (6 de 22) no grupo dos comparadores ( $p=0,08$ ). A taxa de mortalidade no grupo da polimixina e comparadores foi de 65,6 e 12,0 por 1000 pacientes-dia, respectivamente ( $p=0,02$ ). A análise multivariada mostrou que o uso de polimixina B foi fator independente associado à mortalidade em 30 dias (*Hazard Ratio* ajustada, 4,3; Intervalo de Confiança de 95%, 1,39-13,03), após ajuste para tempo de internação hospitalar antes da infecção e aumento  $\geq$  100% da creatinina em relação ao valor basal durante o tratamento. O escore



APACHE II no início da infecção foi mantido no modelo final, embora não tenha atingido significância estatística, para ajuste de possível fator confundidor residual. Não houve diferenças significativas nos desfechos secundários, incluindo tempo de ventilação mecânica após terapia adequada, superinfecção e erradicação bacteriana nas secreções respiratórias. A terapia com polimixina B foi inferior comparada a outras drogas na pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por *P. aeruginosa* e *A. baumannii*.

## Abstract

To compare the efficacy of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia (VAP) and tracheobronchitis (VAT) by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*, a prospective cohort study was performed. Patients who received appropriate therapy for  $\geq 48$ h were analyzed. The primary outcome was 30-day mortality. A total of 67 episodes were analyzed: 45 (67.2%) treated with polymyxin B and 22 (32.8%) with comparators. Thirty-day mortality was 44.8%: 53.3% (24 of 45) in the polymyxin B group and 27.3% (6 of 22) in the comparator group,  $P=0.08$ . The mortality rates in the polymyxin B and comparator group were 65.6 and 12.0 per 1000-patients-day, respectively ( $P=0.02$ ). Treatment with polymyxin B was independently associated with 30-day mortality in multivariate model, with similar results in the subgroup of patients with VAP, suggesting that this antibiotic may be inferior to other drugs in the treatment of VAP and VAT by these organisms.

## Introdução

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é uma das formas mais comuns de infecção em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTIs), sendo a complicação infecciosa de mais elevada morbimortalidade nesses pacientes (1).

A *Pseudomonas aeruginosa* é um dos principais agentes etiológicos de infecções hospitalares em todo o mundo (2). O trato respiratório inferior é o sítio mais comum de infecção por esse agente, particularmente em pacientes sob ventilação mecânica (VM), sendo um dos principais agentes causadores de PAV (1;3). Na América Latina, principalmente no Brasil, é a terceira causa do total de infecções nosocomiais, e a primeira em infecções do trato respiratório inferior (4;5). Igualmente, o *Acinetobacter baumannii* é um dos agentes etiológicos mais frequentes de infecções hospitalares (6). Há alguns anos era uma causa comum de infecção somente em países tropicais, contudo, atualmente, tem se tornado um grande problema em todo o mundo (4;6).

Ambos patógenos, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, são bacilos Gram-negativos não-fermentadores que, além de estarem entre os principais causadores de infecções nosocomiais, sobretudo em pacientes em UTI sob VM, são singularmente problemáticos devido a uma combinação de resistência intrínseca a várias classes de drogas e a uma extrema habilidade para adquirir resistência a todos os tratamentos antimicrobianos disponíveis (7). A resistência adquirida a múltiplas drogas é um problema clínico e de saúde pública crescente em todo o mundo (2;4;8;9). Esse problema é ainda mais importante em países da América Latina, principalmente no Brasil, onde as

mais altas taxas de resistência, em *P. aeruginosa*, por exemplo, em relação a outras regiões do mundo, têm sido observadas (4). Em estudos realizados em hospitais universitários de Porto Alegre, observou-se elevada prevalência de resistência a múltiplas drogas em *P. aeruginosa* e *A. baumannii* (10-16). Adicionalmente, tem sido demonstrado que infecções por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* multirresistentes estão associadas a maior morbimortalidade em comparação com infecções por esses mesmos germes não multirresistentes (17-22).

Combinado a crescente prevalência de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes à múltiplos antimicrobianos, o desenvolvimento e a pesquisa de novos antimicrobianos capazes de responder a altura o problema representado por esses microorganismos é extremamente escasso. Conseqüentemente, novos fármacos lançados no mercado pela indústria farmacêutica destinados ao tratamento de bacilos Gram negativos é praticamente inexistente (9;23-27).

Devido a esta combinação de uma maior prevalência de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes à múltiplas drogas e escassa ou ausente pesquisa e lançamento de novos antimicrobianos com ação contra essas bactérias, tem havido nos últimos anos um crescente uso de antigos antimicrobianos, sobretudo as polimixinas (28-31). Abandonadas ou com uso extremamente restrito após a década de 70, as polimixinas, polimixina B e polimixina E (também denominada colistina), têm re-emergido na prática clínica, por falta de outras alternativas, no tratamento de infecções graves por essas bactérias (28-31).

Apesar do crescente uso das polimixinas no mundo inteiro para tratamento de infecções graves, principalmente em pacientes em UTI, o conhecimento sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica dessas drogas é limitado, principalmente em pacientes críticos (7;30;31). Além disso, as evidências sobre a eficácia clínica das polimixinas no tratamento de infecções graves por germes multirresistentes provêm, em sua grande maioria, de séries de casos, que embora sugiram que as mesmas possuam eficácia e toxicidade aceitáveis, apresentam diversas limitações, como a ausência de grupo controle e a frequente associação das polimixinas com outros agentes antimicrobianos, o que impede conclusões definitivas sobre o assunto (7;30-32).

Cinco estudos compararam o uso de colistina com outras drogas de eficácia conhecida contra *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, sobretudo carbapenêmicos, no tratamento de infecções por essas bactérias, principalmente em pacientes em UTI com PAV (33-37). Embora nenhum estudo tenha encontrado diferença significativa em relação a desfechos clínicos, reforçando a hipótese de que a eficácia das polimixinas no tratamento de infecções graves por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* deva ser semelhante a outras drogas, principalmente aos carbapenêmicos, importantes limitações desses trabalhos não permitem conclusões definitivas (32). Entre elas, incluem-se o caráter retrospectivo da maioria dos estudos, um número relativamente pequeno de participantes em quase todos, determinando um reduzido poder estatístico para a detecção de diferenças não tão acentuadas entre os grupos, e, por fim, a ausência de avaliação de e/ou controle para variáveis potencialmente confundidoras, como tempo para início dos antibióticos,

gravidade dos pacientes, adequação de dose, uso concomitante de outras drogas antibacterianas, entre outras (32).

Mais recentemente, três estudos compararam as polimixinas (polimixinas B ou colistina) com outros antibióticos no tratamento de infecções graves por bacilos Gram negativos resistentes aos carbapenêmicos (38-40). Todos estes estudos controlaram possíveis fatores de confusão, e encontraram o uso de polimixinas como fator independente, na análise multivariada, para maior mortalidade, contrastando com os estudos anteriores (38-40).

Estudo de nosso grupo de pesquisa sobre a farmacocinética da polimixina B em pacientes críticos com PAV por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* demonstrou que, com as doses correntemente recomendadas, as concentrações plasmáticas máximas não ligadas a proteínas (concentrações livre) de polimixina B são muito próximas ou, por vezes, inferiores as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) desses patógenos (41). Além disso, a baixa concentração da polimixina no tecido pulmonar torna ainda mais importante a avaliação da eficácia destas drogas em pacientes graves com infecções de trato respiratório (42-45). O achado de não erradicação da *P.aeruginosa* das secreções de vias aéreas de pacientes com PAV tratados com polimixina B (46), vem ao encontro com diversos modelos de infecção *in vitro*, que demonstram a persistência desses patógenos a despeito da presença desta droga em concentrações adequadas (47-49).

Considerando a importância clínica da PAV em pacientes criticamente enfermos, a alta prevalência de *P.aeruginosa* e *A. baumannii* como causadores desta infecção, o perfil cada vez mais prevalente de resistência destes germes

e as escassas opções terapêuticas para tratamento destas infecções, este estudo comparativo avaliando polimixina B em relação a outros antimicrobianos visa elucidar questões de eficácia clínica e desfechos microbiológicos com o uso desta droga.

## Revisão da Literatura

### 1- *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*

As bactérias do gênero *Acinetobacter* e *Pseudomonas*, embora já reconhecidas há muitos anos, têm ganhado importância clínica ao longo das décadas por apresentar papel central nas infecções nosocomiais, especialmente em unidades de terapia intensiva (UTIs). Aliado a isto, seus inúmeros mecanismos de resistência intrínseca e adquirida a múltiplas drogas as tem tornado um desafio terapêutico em todo o mundo (7).

#### 1.1- *Acinetobacter*

##### 1.1.1- Microbiologia

O gênero *Acinetobacter* refere-se a um grupo de bactérias caracterizadas por serem cocobacilos Gram-negativos aeróbicos, oxidase negativos, catalase positivos e sem motilidade. Provavelmente descrito pela primeira vez em 1908 como *Diplococcus mucosus*, sofreu inúmeras modificações taxonômicas até a classificação atual estabelecida em 1971 (50). A identificação de suas subespécies foi possível apenas mais recentemente com as técnicas de hibridização do ácido desoxiribonucleico (DNA). Pelo menos 21 espécies genômicas de *acinetobacter* já foram isoladas. O *Acinetobacter baumannii* corresponde a genoespécie 2, sendo esta a mais prevalente e mais associada à resistência antibiótica e à mortalidade (51). As genoespécies 3 e 13TU também tem sido descritas em surtos e infecções nosocomiais. Estas três espécies e o *A. calcoaceticus* são muito próximas genotipicamente e fenotipicamente difíceis de distinguir, e, portanto, são



referidas como complexo *A. calcoaceticus* - *A. baumannii*. O *A. baumannii* apresenta diversos clones caracterizados por sequências genômicas distintas, sendo alguns destes mais relacionados a surtos de infecção em diferentes regiões geográficas (52).

Este grupo de bactérias é encontrado amplamente na natureza devido à grande habilidade de utilizar variadas fontes de carbono para seu crescimento e por apresentar inúmeras vias metabólicas. O *Acinetobacter* pode ser isolado no solo, na água e em alimentos, resistindo à pasteurização ou congelamento dos mesmos. Tem a capacidade de sobreviver por meses em objetos inanimados, incluindo cateteres e outros objetos de uso médico hospitalar (50). A formação de biofilmes por *Acinetobacter*, que se caracteriza por um conjunto de bactérias unidas estruturalmente e envoltas em uma matriz polissacarídica e protéica produzida pelas mesmas, pode ocorrer em interfaces ar-líquido e sólido-líquido sendo três a quatro vezes mais comum no complexo *Acinetobacter baumannii* em relação a outras espécies e ocorre mais comumente a 25°C (53). A formação de biofilmes facilita a sua permanência em objetos de uso hospitalar, levando a infecções relacionadas a procedimentos invasivos (53).

#### 1.1.2- Epidemiologia

*Zeana et al* avaliaram colonização cutânea por *A.baumannii* em adultos saudáveis encontrando 10,4% de colonizados. O *Acinetobacter* identificado na comunidade pertence em geral a cepas diversas e perfil multissensível, ao contrário dos isolados nosocomiais que normalmente apresentam disseminação monoclonal ou cepas fortemente relacionadas (54). É a bactéria Gram-negativa mais comumente carregada na pele de profissionais da saúde. A

transmissão de *A. baumannii* multirresistente de pacientes colonizados para profissionais de saúde com contaminação das mãos, luvas e aventais foi avaliado por Morgan *et al* em unidades de terapia intensiva clínicas e cirúrgicas. Em um total de 199 interações entre profissionais e pacientes colonizados, 77 (38,7%) resultaram em contaminação de luvas e aventais e 9 (4,5%) em contaminação das mãos após a remoção das luvas, sendo os principais fatores de risco manipulação de feridas operatórias, vias aéreas e permanência por maior tempo no quarto de pacientes colonizados. Tais achados sugerem que o *A. baumannii* é mais facilmente transmitido do que *P.aeruginosa* multirresistente e possivelmente do que *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina e *Enterococcus* resistentes à vancomicina (55). O uso de clorexidina 4%, além de medidas de isolamento por contato, podem ser instituídas na tentativa de diminuir esta disseminação (56).

O *A. baumannii* tem aumentado sua prevalência em infecções nosocomiais em qualquer sítio, sendo o mais comum deles o trato respiratório (57). Resistência a múltiplas drogas tem sido documentada em taxas crescentes, estando associada a maior morbimortalidade (18). Em pneumonias hospitalares e associadas à ventilação mecânica, segundo os dados do *SENTRY Antimicrobial Surveillance Program* (1997-2008), o *Acinetobacter* foi o quinto patógeno mais prevalente, representando 6,8% das causas de infecção. Na América Latina a incidência de bacilos Gram negativos não fermentadores nestas infecções é ainda maior em relação ao resto do mundo (3). Uma revisão sistemática avaliando infecções adquiridas dentro das Unidades de Terapia Intensiva, internacionalmente, de 2005 a 2010, mostrou serem *Acinetobacter* e *Pseudomonas* os patógenos mais prevalentes (57).

Marra *et al* avaliaram 2.563 casos de infecções primárias de corrente sanguínea no Brasil, no período de de 2007 a 2010, sendo *Acinetobacter* o quarto principal patógeno, representando 11,4% dos casos (58). Martins *et al* estudaram a incidência de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos durante um surto de infecções por este agente na cidade de Porto alegre em um período de 12 meses. As taxas de infecção chegaram a 9 a cada 1.000 pacientes - dia. Oitos grupos clonais principais foram identificados por tipagem molecular, sendo que três destes estavam presentes em todos os hospitais, demonstrando sua habilidade de disseminação entre as diferentes instituições hospitalares (59).

Os fatores de risco para infecção por *A. baumannii* em unidades de terapia intensiva foram avaliados em diversos estudos e incluem uso de terapia antimicrobiana prévia de amplo espectro, escore APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) elevado, ventilação mecânica prolongada e não troca do tubo endotraqueal, procedimentos invasivos, bacteremia por outros microorganismos, além de colonização prévia por *Acinetobacter spp.* (18;60;61). A mortalidade das infecções causadas por *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos em unidades de terapia intensiva é próxima a 50%, sendo maior em relação às cepas carbapenêmico sensíveis (18). Fatores que explicam este achado são atraso na terapia antimicrobiana específica (62), dose e posologia inadequadas (63) e, conforme estudos mais recentes, possível menor eficácia da polimixina B, droga utilizada em infecções por germes multirresistentes, em relação a outras drogas (38-40).

## 1.2- *Pseudomonas aeruginosa*

### 1.2.1- Microbiologia

A *P. aeruginosa* é a principal espécie patogênica da família Pseudomonadaceae. É um bacilo Gram-negativo, não-fermentador, oxidase positiva, produtora de pigmento, especialmente piocianina e pioverdina, dando a característica coloração verde-azulada de suas colônias quando cultivada em meio sólido. Identificada inicialmente por *Luke* em 1862, em 1882 foi denominada *Bacillus pyocyaneus* por *Gessard*. Ganhou maior importância clínica a partir dos anos 60 quando foi reconhecida como um dos principais patógenos em infecções nosocomiais graves, notoriamente em pacientes imunocomprometidos (64).

Assim como o *A. baumannii*, a *P. aeruginosa* é encontrada na natureza no solo, na água, plantas ou colonizando animais ou humanos saudáveis. Metabolizam diversas fontes de carbono, e embora cresçam preferentemente em meio aeróbico, desenvolvem-se também em meio anaeróbico na presença de nitrato. Toleram temperaturas tão elevadas quanto 45° a 50°C e sobrevivem à destilação da água. Podem ser encontradas em equipamentos hospitalares que entrem em contato com meios úmidos como ventiladores mecânicos, soluções de limpeza, processadores de alimentos (64).

Importantes fatores de virulência são observados na *P. aeruginosa* que contribuem para torná-la um dos principais patógenos nosocomiais da atualidade. Fatores de adesão aos tecidos como o pili e o flagelo que além de aderência, lhe confere motilidade; fatores antifagocíticos como a sua membrana lipopolissacarídica e proteases que inativam a resposta imune do hospedeiro; produção de toxinas (exotoxina A, leucocidina, fosfolipases e

hemolisinas); fatores secretórios tipo III que injetam proteínas tóxicas dentro da célula do hospedeiro levando a lesão e morte celular e efeito tóxico endotelial da piocianina fazem parte dos seus mecanismos para maior virulência (65-67). Além destes, a *P. aeruginosa* apresenta capacidade de formação de biofilme contribuindo para a patogenicidade desta bactéria por menor penetração do antibiótico e resistência à fagocitose (68). A formação de biofilmes, somada à sua capacidade de sobreviver em ambientes pobres em oxigênio, desempenham papéis centrais na sua permanência colonizando pacientes portadores de fibrose cística e doença pulmonar obstrutiva crônica (69;70). A falha na erradicação microbiológica da *P. aeruginosa*, a despeito de terapia antimicrobiana adequada, é observada também em pneumonias graves e relacionadas à ventilação mecânica (46;71;72). Entre os fatores que podem explicar este achado estão a necessidade de maiores valores de AUC/MIC (áreas sob a curva sobre a concentração inibitória mínima do antibiótico) iniciais para erradicação, desenvolvimento de resistência e maior apoptose de neutrófilos pelos fatores secretórios tipo III (71).

### 1.2.2- Epidemiologia

A *P. aeruginosa* é uma das principais causas de infecções nosocomiais, especialmente em sítio respiratório, apresentando elevada morbimortalidade. Lambert *et al* avaliaram desfechos clínicos e resistência bacteriana em uma coorte com 119.699 pacientes internados em unidades de terapia intensiva, de 2005 a 2008, em 10 países europeus. A *P. aeruginosa* foi o agente mais frequente de infecções e foi fator de risco isolado para mortalidade em pneumonias com *Hazard Ratio (HR)* de 3,5 e em bacteremias com *HR* de 4

(73). Revisão recente da literatura, incluindo dados do SENTRY (1997-2008), mostrou a *P. aeruginosa* como segundo principal agente mundial de pneumonia relacionada à ventilação mecânica (21.8% dos casos), depois do *Staphylococcus aureus* (28% dos casos), sendo que na América Latina ocupa o primeiro lugar devido à maior prevalência de infecção por bacilos Gram-negativos não fermentadores em nosso continente (3).

Os fatores de risco para infecção por *P. aeruginosa* assemelham-se aos previamente citados para *A. baumannii*, entre eles está idade avançada, maior tempo de ventilação mecânica, APACHE II elevado na admissão da UTI, imunossupressão, comorbidades e uso prévio de antibióticos de amplo espectro (74). O perfil multirresistente da *P. aeruginosa* mostrou ser fator de risco independente para mortalidade (17;19;20).

### 1.3- Mecanismos de resistência antimicrobiana do *A. baumannii* e da *P. aeruginosa*

A *P. aeruginosa* e o *A. baumannii* compartilham a característica de serem intrinsecamente resistentes a múltiplas drogas, além de poderem apresentar inúmeros mecanismos de resistência contra virtualmente todos os antimicrobianos disponíveis comercialmente para seus tratamentos. Os mecanismos de resistência incluem enzimas inativadoras das drogas, bombas de efluxo, modificações na membrana externa e alteração de sítio alvo (7). As principais características de cada mecanismo estão descritas a seguir:

#### 1.3.1- Enzimas Inativadoras das Drogas

##### 1.3.1.1- Beta-lactamases

As beta-lactamases são enzimas que quebram o amido ligado ao anel beta-lactâmico inativando o antimicrobiano. Representam a principal causa de resistência aos agentes beta-lactâmicos. Nos bacilos Gram-negativos estas enzimas ficam concentradas no espaço periplasmático, hidrolizando os beta-lactâmicos antes de sua chegada ao sítio de ligação. Existem centenas de beta-lactamases descritas, com características moleculares e bioquímicas distintas. A primeira tentativa de classificá-las foi feita por Ambler, que as dividiu em 4 classes (A,B,C,D) segundo sua sequência de aminoácidos (75). Posteriormente, Bush-Jacoby-Medeiros propuseram uma nova classificação baseada nas características funcionais da enzima, mantendo uma correlação com a classificação de Ambler. Nesta, as enzimas são divididas em 3 grupos (1,2,3) com subdivisões conforme seu espectro de ação e inibição ou não por inibidores da beta-lactamase como o ácido clavulânico e o EDTA (75).

O grupo 1, correspondente à classe C de Ambler. É constituído por beta-lactamases tipo AmpC. Estas são enzimas cromossomais capazes de hidrolizar penicilinas, cefamicinas e oximinocefalosporinas. As taxas de hidrólise para cefalosporinas de quarta geração e carbapenêmicos são, em geral, muito baixas, mantendo-se a estabilidade destas drogas na presença da enzima. Na *P. aeruginosa* a produção de AmpC é induzível quando exposta à presença de antibióticos beta-lactâmicos, e as proteínas que controlam a liberação desta enzima são: AmpG, AmpD e AmpR. Mutações nestas últimas duas proteínas podem levar a uma produção desreprimida e contínua de AmpC, nestes casos podendo ter a sensibilidade diminuída inclusive para cefalosporinas de quarta geração e carbapenêmicos. No *A. baumannii* a expressão de AmpC não é induzível (76).

Os grupos 2b e 2c correspondem à classe A de Ambler. Estão presentes tanto na *P. aeruginosa* como *A. baumannii*. Constituem-se de enzimas que atuam sobre penicilinas e cefalosporinas de pequeno espectro, são transferidas por plasmídeos e normalmente inibidas por ácido clavulânico (77).

O grupo 2be também corresponde à classe A de Ambler. São as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL- *Extended spectrum beta-lactamases*), pois ampliam a ação do grupo anterior, também hidrolisando cefalosporinas de terceira e quarta geração, com descrições mais recentes de enzimas que ampliaram sua ação pra hidrólise inclusive de carbapenêmicos. Inicialmente foram identificadas nas enterobactérias, mas desde o início dos anos 90 já há descrição de isolados clínicos de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* produtores de ESBL (78).

O grupo 2d corresponde à classe D de Ambler, constituído pelas oxacilinas. Caracterizadas por alta atividade hidrolítica para cloxacilina, oxacilina e metilicilina, são codificadas por genes presentes em elementos genéticos móveis o que explica sua disseminação entre enterobactérias, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*. As oxacilinas de espectro estendido (ESBL) são resultado de mutações de enzimas iniciais de menor espectro, adquirindo capacidade hidrolítica ampliada, inclusive para oximino-cefalosporinas, e foram primeiro descritas na *P. aeruginosa*. As oxacilinas com atividade carbapenemase são mais comuns no *A.baumannii*, representam um dos principais mecanismos de resistência aos carbapenêmicos nestas bactérias (7). Embora a ação hidrolítica destas oxacilinas com atividade carbapenemase



seja fraca, se somada a outros mecanismos de resistência como bombas de efluxo e fechamento de canais porínicos, podem gerar concentrações inibitórias mínimas altas para carbapenêmicos (7).

*Mera et al* avaliaram 55.330 isolados de *A. baumannii* de 2002 a 2008 nos Estados Unidos da América (EUA) mostrando um aumento de 3,7 vezes na multirresistência (resistência a carbapenêmicos e mais duas classes de antimicrobianos) neste período (79). *Higgins et al* estudaram a epidemiologia molecular e a distribuição de genes de carbapenemase em 492 isolados de *A. baumannii* de vários continentes. A não susceptibilidade ao imipenem estava associada à presença intrínseca da beta-lactamase OXA-51 ou oxacilinasas com ação carbapenemase adquiridas como OXA-23, OXA-40 ou OXA-58. Os isolados foram agrupados em 8 clones principais incluindo os clones Europeus I, II e III. O clone II foi responsável por 246 isolados, sendo o mais prevalente nos EUA, Europa, Israel, Ásia, Austrália e África do Sul (80). No Brasil, os *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos são normalmente relacionados à beta-lactamase Oxa-23, com relatos de surtos desde 1999 (11;81-83). Estudo realizado em Porto Alegre avaliou dados clínicos e epidemiológicos de infecções por *A. baumannii* multirresistentes, durante 12 meses, nos hospitais locais, com tipagem molecular dos isolados e, em 99% destes, foi identificada a beta-lactamase OXA-23 (59). Recentemente uma nova beta-lactamase com capacidade hidrolítica para carbapenêmicos também da classe D, a OXA-143, foi detectada em isolados de *A. baumannii* em hemoculturas de pacientes internados em uma UTI. Essa nova beta-lactamase possui 63% de identidade com a OXA-23 e constitui o primeiro membro de um novo subgrupo cuja prevalência ainda deve ser determinada (5).

O grupo 2f corresponde à classe A de Ambler e é constituído pelas carbapenemases. A *Klesbsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), enzima capaz de conferir resistência a todos os beta-lactâmicos foi inicialmente descrita em enterobactérias, porém já foi identificada em vários isolados de *P.aeruginosa* e *A.baumannii*, especialmente na América Latina (84-87).

O grupo 3 corresponde à classe B de Ambler, constituído pelas metalo-beta-lactamases. Caracterizam-se por hidrolisar a maioria dos beta-lactâmicos, exceto o aztreonam. Ocorre mais comumente entre *A.baumannii* e *P.aeruginosa* em relação às enterobactérias (7). A resistência aos carbapenêmicos na *P.aeruginosa*, na maioria dos estudos brasileiros, varia de 40 a 59% e a metalo-beta-lactamase SPM-1 foi detectada em quase metade destes isolados, sendo a beta-lactamase mais comum no Brasil. A SPM-1 foi descrita originalmente em São Paulo, mas já foi detectada em várias regiões do país, estando, aparentemente, ainda restrita ao Brasil. Recentemente um isolado produtor de SPM-1 foi descrito na Europa, mas o paciente havia estado internado em um hospital brasileiro. Vale ressaltar que bactérias pertencentes ao mesmo clone SP foram isoladas em outras partes do mundo porém não há dados referentes à presença ou não da SPM-1 nestes isolados. Seu gene foi detectado em plasmídeos o que facilita a sua disseminação horizontal sendo um dado preocupante devido à imensa limitação terapêutica de seu perfil sensível apenas a colistina (5).

#### 1.3.1.2- Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos

Aminoglicosídeos são antibióticos inibidores da síntese protéica utilizados normalmente como adjuvantes na terapia para *P.aeruginosa* e *A.*

*baumannii*. Um dos principais mecanismos de resistência a estas drogas são as enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, que atuam diminuindo a sua afinidade de ligação às unidades ribossomais do RNA das bactérias. Estas enzimas estão presentes tanto na *P. aeruginosa* como no *A. baumannii*. Neste último, todas as principais enzimas desta classe já foram descritas, sendo altamente prevalentes nas cepas multirresistentes (7).

### 1.3.2- Bombas de Efluxo

As bombas de efluxo tem a propriedade de expulsar ativamente os antibióticos para fora da célula, levando a uma concentração inadequada da droga e, portanto, não efetiva. Na *P. aeruginosa* a hiperexpressão de bombas de efluxo está frequentemente relacionada à resistência a múltiplos antimicrobianos, explicando, por exemplo, a resistência intrínseca a tigeciclina devido aos sistemas de efluxo MexXY-OprM e MexAB-OprM. Outros substratos das bombas de efluxo tipo Mex são fluorquinolonas, penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos. As bombas MexAB-OprM tem a capacidade de expulsar o meropenem, mas não o imipenem e as MexXY-OprM expulsam cefepima mas não ceftazidima, o que explica algumas discrepâncias de antibiograma. O sistema de efluxo mais comumente presente no *A. baumannii* é o AdeABC que confere resistência aos aminoglicosídeos e sensibilidade reduzida a fluorquinolonas, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, trimetoprima e meropenem (7;88;89).

### 1.3.3- Alterações de Membrana

Os canais porínicos presentes na membrana celular são de fundamental importância para a entrada do antibiótico na célula bacteriana. A menor expressão destes canais porínicos pode levar a resistência a vários antibióticos, com é o caso do imipenem, que na perda de porina OprD, não tem penetração adequada na *P. aeruginosa* e no *A. baumannii* levando, muitas vezes, a elevação do seu MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). No *A. baumannii* a penetração de cefalosporinas pela membrana celular é menor em relação a *P. aeruginosa*, sendo uma das explicações possíveis o pequeno tamanho de suas porinas (7;90).

Alteração na permeabilidade celular é também um dos mecanismos de resistência do *A. baumannii* e da *P. aeruginosa* à colistina e polimixina, embora a resistência a estas drogas ainda seja rara (7). Estudo do SENTRY avaliou susceptibilidade a colistina e polimixina em 40.625 isolados de bacilos gram-negativos de todo o mundo e identificou taxas de resistência muito baixas, variando de <0,5% a 1,5% (4).

#### 1.3.4- Modificações de Sítio de Ligação

Alterações nas proteínas ligadoras da penicilina podem explicar resistência a beta-lactâmicos na *P. aeruginosa* e no *A. baumannii*. Embora existam alguns relatos de resistência por este mecanismo, parece ser uma forma incomum de resistência de importância clínica ainda não bem estabelecida. Modificações no sítio de ligação das fluorquinolonas por mutação dos genes *gyrA* e *parC* é o principal mecanismo de resistência a estes antimicrobianos tanto na *P. aeruginosa* como no *A.baumannii*, embora também possa resultar de hiperexpressão de bombas de efluxo. Alterações na

subunidade ribossomal 16S impedindo a ligação dos aminoglicosídeos pode levar a resistência a estas drogas, também por mudança de sitio de ligação (7).

## 2- Pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica

### 2.1- Pneumonia associada a ventilação mecânica

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) é a infecção mais comum adquirida em UTIs, afetando 10-20% dos pacientes em ventilação mecânica, com elevada morbimortalidade e aumento de custos (91). Conforme meta-análise recente, apresenta mortalidade atribuível em torno de 10 % (92).

A PAV é definida clinicamente como a presença de um infiltrado pulmonar novo em exame radiológico do tórax, em pacientes em ventilação mecânica há mais de 48 horas, associado a pelo menos dois de três critérios clínicos: febre  $> 38^{\circ}\text{C}$ , leucocitose ( $>12.000/\text{ml}$ ) ou leucopenia ( $<4.000/\text{ml}$ ) e/ou secreção purulenta no aspirado traqueal. O seu diagnóstico etiológico é definido, idealmente, pela realização de lavado broncoalveolar ou escovado protegido com crescimento bacteriano de  $>10^4$  unidades formadoras de colônia (ufc)/ml e  $>10^3$  ufc/ml, respectivamente. No entanto, a utilização de aspirado traqueal quantitativo com presença de polimorfonucleares e ponto de corte mais alto para definir crescimento bacteriano significativo ( $>10^5$  ufc/ml) tem-se tornado cada vez mais comum pela facilidade e menor custo do uso de uma técnica não invasiva (1). Embora os resultados sejam conflitantes na literatura, uma meta-análise mostrou não haver diferença de mortalidade quando comparados métodos não invasivos e invasivos no diagnóstico de PAV,

embora o uso de técnicas invasivas esteja associado à maiores modificações nos regimes antibióticos utilizados (93).

A adoção de escores na tentativa de unificar critérios clínicos e microbiológicos é uma estratégia para melhorar o diagnóstico de PAV. O *Clinical Pulmonary Infection Scores* (CPIS) pontua de 0-2 os seguintes critérios: febre, leucocitose, secreção traqueal purulenta, anormalidades radiológicas, oxigenação, podendo-se incluir a identificação da bactéria por Gram e cultura de secreção traqueal nos critérios. Um CPIS maior ou igual a 6 favorece a hipótese de pneumonia (94). No entanto, vários estudos sugerem sensibilidade e especificidade limitadas do CPIS, além de não ter sido validado em estudos com pacientes com injúria pulmonar aguda ou trauma. Embora mudanças no CPIS se correlacionem com desfechos na PAV, a relação da pressão parcial de oxigênio sobre a fração de oxigênio inspirada parece ser um melhor marcador para isso. Além disso, a variabilidade entre observadores pode ser alta na pontuação deste escore, tendo esta ferramenta, portanto, um papel ainda limitado para uso clínico e em pesquisa (95).

Alguns biomarcadores têm sido avaliados também no intuito de auxiliar no diagnóstico de PAV. Os biomarcadores mais estudados são a proteína C reativa (PCR) e a procalcitonina. Estudo prospectivo em pacientes com PAV mostrou que a PCR se correlaciona positivamente com variações na carga bacteriana avaliada pelo aspirado traqueal quantitativo e com a contagem total de leucócitos (96). Foi demonstrado também decréscimo da mesma quando instituídas terapias antimicrobianas adequadas, sugerindo que medidas sequenciais de PCR podem auxiliar no diagnóstico e antecipar se a terapia

antimicrobiana está apropriada (96). A procalcitonina quando comparada com a PCR e o CPIS demonstrou ter a maior acurácia no diagnóstico de PAV, e quando maior que 2,99 ng/ml e associada a um CPIS >6 elevou a especificidade a 100% (97). Embora estudos mostrem resultados promissores, o papel clínico destes biomarcadores em diagnosticar PAV ainda não é bem estabelecido, em parte pela variação dos métodos diagnósticos, pontos de corte, uso de antimicrobianos e população avaliada nos diversos estudos (98).

A *P. aeruginosa* e o *A. baumannii* estão entre os principais patógenos causadores de PAV em todo o mundo (3). No Brasil, a *P. aeruginosa* lidera como principal causa de PAV (5). Estudo do SENTRY (1997-2008) mostrou 5-10% a menos de susceptibilidade a antibióticos de amplo espectro em pacientes com PAV em relação à pneumonia nosocomial não relacionada a ventilação mecânica, além de um aumento anual de 1% nas taxas de resistência antimicrobiana de 2004 a 2008 (3). Isto tem profundo impacto na escolha terapêutica e no prognóstico destes pacientes. Uma revisão dos estudos que avaliaram o impacto da resistência bacteriana em Gram-negativos no desfecho clínico em UTIs, mostrou maior mortalidade e aumento de custos nas infecções por germes multirresistentes (99). Terapia empírica inicial inapropriada com consequente atraso no início do tratamento efetivo pode explicar, em parte, o pior prognóstico observado (17;20). As poucas opções terapêuticas disponíveis para estes germes, muitas vezes com eficácia clínica questionável ou pouco estudada, podem contribuir para estes achados, reforçando a necessidade de estudos comparativos entre as drogas.

A terapia antimicrobiana para PAV deve levar em consideração o tempo de internação do paciente, uso de antibiótico prévio e epidemiologia local em relação aos patógenos mais prevalentes e perfil de resistência bacteriana. A maioria dos *guidelines* recomenda terapia antimicrobiana combinada se o risco de infecção por patógeno multirresistente for considerado alto. Terapia de amplo espectro deve ser iniciada empiricamente no momento do diagnóstico de PAV e desescalada assim que disponível o resultado da cultura de secreção respiratória. O início precoce de terapia adequada está relacionado ao aumento de sobrevida (100). O uso inicial de antibióticos de amplo espectro não parece estar associado à alteração nos padrões de resistência bacteriana (101). O tempo de tratamento para PAV, de modo geral, é de 7-8 dias para a maioria dos patógenos e de 14 dias para bacilos Gram negativos não-fermentadores (102). O uso de biomarcadores, com determinação seqüencial de seus valores, também pode ser útil na definição do tempo de tratamento da PAV, podendo reduzir o tempo de uso de antibióticos mantendo a eficácia clínica do tratamento (96;103;104)

A determinação da gravidade e risco de mortalidade por episódio de PAV em um paciente foram estratificados por *Lisboa et al.* O escore PIRO desenvolvido na tentativa de avaliar a gravidade da PAV leva em consideração: 1) a predisposição do paciente a infecção, através da presença de comorbidades 2) o insulto, através da presença de bacteremia 3) a resposta, avaliada pela pressão sistólica < 90 mmHg e 4) a disfunção de órgão, pela presença de síndrome de angustia respiratória aguda (SARA) (105). Escores como *Sepsis-related Organ Failure Assessment* (SOFA) e APACHE II, que avaliam a gravidade de pacientes em unidades de terapia intensiva, embora



não específicos para PAV, tem uso clínico extenso e validado, sendo os escores mais usados em estudos clínicos (106).

Estratégias têm sido implementadas na tentativa de reduzir os índices de PAV. A adoção de rotinas como elevação da cabeceira do leito a 30°, uso de clorexidine gel para descontaminação orofaríngea, pausas na sedação, aspiração de secreção subglótica e protocolos de desmame precoce tem demonstrado diminuir as taxas de PAV (107;108). Além disto, uso de antimicrobianos tópicos para descontaminação de trato digestivo e respiratório mostrou ser efetivo na redução de PAV (109). O possível papel do uso de pravastatina na prevenção de PAV tem sido avaliado, com resultados favoráveis, porém, mais estudos são necessários (110). Outras estratégias para redução de PAV em avaliação são cobertura antimicrobiana para o tubo orotraqueal com canais de sucção intermitente de secreção, controle da pressão do *cuff* assim como modificação do seu formato evitando o escape de líquido, lateralização do paciente (posição de *Trendelenburg* lateral) para evitar aspiração de secreção. O custo-benefício destas últimas medidas ainda não está bem definido (111-113). A adoção de *bundles* de prevenção, garantindo a adesão da equipe a estas medidas através de *checklists* e monitoramento continuado, parece ser mais efetiva do que qualquer medida isoladamente (108;114;115). Estima-se que aproximadamente 55% dos casos de PAV possam ser prevenidos adotando-se estas medidas, no entanto o objetivo de eliminar os casos de PAV é provavelmente irreal (114;116).

## 2.2- Traqueobronquite Associada à Ventilação Mecânica

A traqueobronquite associada à ventilação mecânica (TAV) é o processo intermediário entre a colonização do trato respiratório e a PAV. É uma síndrome clínica definida pelos mesmos critérios utilizados para PAV (febre ou hipotermia, leucocitose ou leucopenia e secreção respiratória purulenta), com bactérias isoladas em cultura do aspirado traqueal quantitativo ( $>10^5$  ufc/ml), lavado broncoalveolar ( $> 10^4$  ufc/ml) ou escovado protegido ( $>10^3$  ufc/ml) , porém sem a presença de infiltrado novo em exame radiológico do tórax. A diferenciação entre TAV e PAV nem sempre é fácil na prática clínica, já que nas fases iniciais da PAV o infiltrado novo pode não estar aparente na radiografia de tórax, sendo visível apenas no exame tomográfico. Além disso, nos pacientes com infiltrados pré-existentes, insuficiência cardíaca com congestão pulmonar, atelectasias, pneumonia prévia ou síndrome da angustia respiratória a identificação de um infiltrado novo pode ser difícil. Estima-se que 2,7 a 10% dos pacientes em ventilação mecânica apresentem TAV. Os agentes microbiológicos causadores de TAV assemelham-se aos da PAV, com alta prevalência de *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes. Bacilos Gram- negativos multirresistentes tem tido incidência frequente (117). Essa infecção está relacionada a piores desfechos clínicos com aumento de mortalidade (118). O tratamento da TAV permite uma abordagem precoce da infecção de trato respiratório, impedindo a progressão da mesma para PAV, diminuindo o tempo de ventilação mecânica e reduzindo mortalidade na UTI. A duração do tratamento para TAV não é bem definida na literatura, mas é provável que tratamentos mais curtos sejam possíveis já que iniciado precocemente, antes de dano tecidual extenso (117;119-121).

### 3- Polimixinas

A polimixina B e a polimixina E, também denominada colistina, são lipopolíptidos policatiônicos desenvolvidos há mais de 50 anos. Tem ação antimicrobiana para bacilos Gram-negativos aeróbicos. Eles agem na membrana externa e citoplasmática bacteriana, interagindo com fosfolípidos e levando a um aumento de permeabilidade e conseqüente morte celular. Sua ação bactericida é rápida. As duas polimixinas de uso parenteral descritas na literatura são a polimixina B e a polimixina E (colistina- normalmente formulada como colistimetato de sódio) (122). As polimixinas B e E parecem ser comparáveis em termos de eficácia e toxicidade renal (123).

O uso das polimixinas foi abandonado por um longo período por preocupações em relação a sua toxicidade renal, e re-emergiu nos últimos anos como terapia de resgate no tratamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes, especialmente *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, baseado em experiências empíricas e séries de casos (7). Mais recentemente, estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos têm sido realizados para melhor avaliação da ação destas drogas. Estudos *in vitro* mostram uma atividade bactericida da polimixina B dependente da concentração da droga. No entanto, a atividade bactericida precoce pode ser seguida de recrescimento bacteriano mesmo com concentrações da droga acima da MIC. Uma explicação possível para este fenômeno seria a emergência de cepas resistentes. Embora este seja um achado preocupante *in vitro*, ainda não foi demonstrado *in vivo* até o momento (7).

Estudos que avaliaram a farmacocinética da polimixina B endovenosa mostraram que após a administração das doses atualmente recomendadas

(1,5-2,5 mg/kg/dia) o nível sérico máximo atingido variava de 2 a 14 µg/ml e que a ligação protéica da droga é de, aproximadamente, 90%, portanto a concentração de droga livre fica próxima ou inferior ao MIC de susceptibilidade ( $\leq 2$  µg/ml) (41). Além do achado de concentrações séricas subótimas, estudos que avaliaram a concentração pulmonar da colistina mostram que esta é ainda menor ou até mesmo indetectável no lavado broncoalveolar (42-45). O uso da colistina inalatória na tentativa de elevar a sua concentração no epitélio pulmonar tem sido avaliada em estudos em modelo animal e séries de casos, mostrando resultados promissores com aumento de sua concentração em até quatro vezes no tecido pulmonar e aumento da atividade bactericida local, com menor nefrotoxicidade (124-126). No entanto, estudo de caso-controle retrospectivo e, mais recentemente, um ensaio clínico randomizado falharam em mostrar benefício clínico da colistina inalatória (127;128). Além disso, relatos de pneumonite por hipersensibilidade à colistina inalatória reforçam a necessidade de atenção a possíveis efeitos adversos desta via de administração (129). Estudos randomizados maiores ainda são necessários para definir o papel do uso inalatório da colistina.

A dose ideal de polimixina B intravenosa também não é definida. *Elias et al* realizaram coorte retrospectiva de 276 pacientes tratados por pelo menos 72 horas com esta droga e mostrou mortalidade significativamente menor no grupo que utilizou polimixina B em dose igual ou superior a 200 mg/dia, mesmo tendo este grupo apresentado maior nefrotoxicidade. Não foi possível, neste estudo, definir a melhor dose por kilograma (kg) de peso, já que este não estava disponível para a maioria dos pacientes. No entanto, o valor adotado de 200mg/dia corresponde a 2,85 a 2,5 mg/kg/dia em pacientes pesando 70 e 80

kg, respectivamente, com valores proporcionais ainda maiores em pacientes com menos de 70kg. Portanto, com poucas exceções, a maioria dos pacientes recebeu a dose mínima de 2,5mg/kg/dia recomendada (63). Estudos maiores ainda são necessários para definir a melhor dose e forma de administração desta droga. Até o momento, estudos *in vitro* e em modelo animal têm mostrado que a relação entre a área sob a curva e a concentração inibitória mínima (*fAUC/MIC*) parece ser o melhor parâmetro de farmacocinética e farmacodinâmica para a administração da polimixina B (42;130;131). Entretanto, estudos em humanos ainda não confirmaram estes achados. O que se pode afirmar até o momento é que, provavelmente, as doses mais altas possíveis devem ser administradas, principalmente em bactérias com  $MIC \geq 2\mu\text{g/ml}$ .

A nefrotoxicidade relacionada ao uso das polimixinas relatada em estudos mais antigos em taxas em torno de 50% tem sido reavaliada em estudos mais recentes. A nefrotoxicidade parece estar diretamente relacionada com a dose utilizada da droga (63;132;133). *Hartzell et al* avaliaram a toxicidade renal de pacientes em uso de colistina intravenosa, 45% dos pacientes apresentaram algum grau de dano renal e 21% interromperam o tratamento por este motivo (133). *Elias et al* encontraram 26,4% de dano renal moderado e 10,6% dano grave em pacientes tratados com polimixina B intravenosa (63). Neurotoxicidade é um efeito adverso menos comum, mas também relatado com o uso de polimixina (134).

A associação de outros antibióticos com polimixina tem sido estudada em modelos *in vitro* com resultados promissores. Combinações com

rifampicina, tigeciclina, vancomicina e teicoplanina, tem mostrado sinergismo em modelos experimentais de infecções por *A. baumannii* multirresistente (135-137). Estudos de associação de antibióticos *in vivo* ainda são necessários para definir melhor o papel desta estratégia.

A resistência da *P. aeruginosa* e *A. baumannii* à polimixina B e colistina ainda é rara, tendo sido relatada em <0,5-1,5% em estudo do SENTRY, tendo permanecido em taxas estáveis, exceto para *Klebsiella pneumoniae* que apresentou crescente resistência na América Latina e na Ásia (4). A detecção de resistência às polimixinas na *P.aeruginosa* pode ser feita por disco de difusão, *E-test*, microdiluição ou sistema automatizado VITEK 2, embora a microdiluição seja o padrão ouro (138). O *A. baumannii* não tem valor de referência padronizado no teste por disco de difusão para polimixina, sendo necessária a realização de *E-test* ou microdiluição.

O principal mecanismo de resistência dos Gram-negativos às polimixinas é a perda do lipídeo A da membrana lipopolissacarídica, impossibilitando, portanto, a primeira ligação das polimixinas à membrana bacteriana. A perda do lipídeo A ocorre por mutações nos sistemas regulatórios de peptídeos da membrana, sendo estes: PhoA-PhoQ, PmrA-PmrB-PmrC e, na *P. aeruginosa*, ParR-ParS (139-144). Estudo em modelo animal mostrou que o *A. baumannii* com resistência a colistina por mutação do pmrB, apresenta também menor virulência, capacidade competitiva e de formação de colônias. Isso talvez explique a baixa incidência e disseminação de *A. baumannii* resistente a colistina (145).

O uso das polimixinas re-emergiu como opção de resgate no tratamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes, muitas vezes sem outra opção terapêutica disponível. Portanto, esta droga não passou pelos processos regulatórios requeridos na atualidade. A avaliação de sua eficácia e efetividade foi feita inicialmente por séries de casos, e mais recentemente, estudos comparativos com outros antibióticos.

Os primeiros estudos realizados comparando polimixina B ou colistina com outras drogas mostraram eficácia semelhante entre os grupos (32). *Garnacho- Montero et al* avaliaram prospectivamente pacientes com PAV, sendo 21 deles tratados com colistina a 14 com imipenem, encontrando mortalidade de 62% e 64%, respectivamente ( $p>0,05$ ) (33). *Reina et al* realizaram coorte prospectiva incluindo pacientes com infecção adquirida após 48 horas de internação em unidade de terapia intensiva, de qualquer sítio, causadas por *A. baumannii* ou *P. aeruginosa*. Foram incluídos 55 pacientes no grupo da colistina e 130 no grupo comparador, não sendo encontrada diferença na mortalidade entre os grupos, 29% *versus* 24%, respectivamente ( $p>0,05$ ) (36). *Hachem et al* avaliaram pacientes com câncer, com infecções por *P. aeruginosa* multi-resistente, comparando 31 pacientes tratados com colistina (21 internados em UTIs) e 64 pacientes tratados com beta-lactâmicos ou quinolonas (37 internados em UTI), encontrando mortalidade de 61% e 47%, respectivamente ( $p=0,19$ ) (34). *Rios et al*, em estudo retrospectivo, compararam pacientes com PAV causada por *A. baumannii* ou *P. aeruginosa*: 31 destes tratados com colistina e 30 tratados com carbapenêmicos. Foi encontrada mortalidade de 52% e 43%, respectivamente ( $p= 0.69$ ) (37). *Kallel et al*, também em estudo retrospectivo, compararam pacientes com PAV

causada por *A. baumannii* ou *P. aeruginosa* tratados com colistina ou imipenem, 60 em cada braço, com mortalidade de 48% versus 62% , respectivamente, também sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0.7$ ) (35).

Importantes limitações desses trabalhos, no entanto, não permitem conclusões definitivas. Entre elas incluem-se o caráter retrospectivo da maioria dos estudos, um número relativamente pequeno de participantes em quase todos, determinando um reduzido poder estatístico para a detecção de diferenças não tão acentuadas entre os grupos, e, por fim, a ausência de avaliação de e/ou controle para variáveis potencialmente confundidoras, como tempo para início dos antibióticos, gravidade dos pacientes, adequação de dose, uso concomitante de outras drogas antibacterianas, entre outras. Apenas 3 destes estudos avaliaram especificamente pacientes com pneumonia associada a ventilação mecânica, sendo apenas um deles prospectivo.

Estudos mais recentes, em contraste com os anteriores, tem sugerido maior mortalidade nos pacientes tratados com polimixinas em infecções graves por bacilos Gram-negativos.

*Oliveira et al* realizaram estudo retrospectivo, comparando pacientes tratados com ampicilina-sulbactam e polimixinas, com infecções nosocomiais por *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos de qualquer sítio, excluindo infecções de trato urinário. A análise multivariada mostrou serem fatores independentes de mortalidade: escore APACHE II, choque séptico, atraso no início do tratamento, insuficiência renal e uso de polimixina (39).



*Paul et al* realizaram coorte prospectiva, em pacientes com infecção microbiologicamente confirmada. Foram incluídos pacientes com pneumonia, infecção de trato urinário, infecção de sitio cirúrgico, meningite e bacteremias, tratados apropriadamente com colistina *versus* imipenem, meropenem ou ampicilina–sulbactam. Duzentos pacientes foram incluídos no grupo da colistina e 295 no grupo dos comparadores. Na análise multivariada, o uso de colistina foi associado a maior mortalidade cumulativa em geral, *Hazard ratio* (HR) 1,27, (intervalo de confiança de 95% [IC 95%] 1,01-1,6) e em pacientes com bacteremia, HR 1,65 ([IC 95%] 1,18-1,31). A nefrotoxicidade, ajustada para outros fatores de risco, também foi mais comum no grupo da colistina, HR 3,31 ([IC95%] 1,54-7,08). Este estudo sugere, portanto, uma menor efetividade associada à maior toxicidade da colistina em relação a outros antibióticos (40).

Finalmente, *Kvitko at al*, em coorte retrospectiva de pacientes com bacteremia por *P. aeruginosa*, compararam o tratamento com polimixina B em relação a outros antibióticos. O uso de polimixina B foi fator independente relacionado à mortalidade em análise multivariada, HR 1,91 ([IC95%] 1,05-3,45), estando seu uso também relacionado a uma maior taxa de aumento de 100% da creatinina durante o tratamento ( $p=0,002$ ) (38).

Todos estes estudos recentes, desenhados de maneira a controlar possíveis fatores de confusão, apontam as polimixinas como fatores relacionados a um pior desfecho com aumento de mortalidade, ao contrário do que mostraram os estudos anteriores. Estes achados são preocupantes devido ao crescente número de bacilos Gram negativos sensíveis apenas às polimixinas, e reforçam a necessidade de um melhor entendimento da

farmacocinética e farmacodinâmica destas drogas na tentativa de otimizar o seu uso clínico.

## Justificativa

Considerando o crescente uso das polimixinas pelo aumento mundialmente importante na prevalência de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* somente sensíveis a essa classe de drogas, os preocupantes achados de estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos, e os recentes estudos clínicos sugerindo uma menor eficácia das polimixinas no tratamento de infecções graves, é de grande importância um estudo prospectivo para avaliar adequadamente a eficácia desses antimicrobianos em PAV e TAV por serem o principal sítio de infecção para qual esse agentes antimicrobianos são utilizados.

## Objetivos

### Objetivo Geral

Avaliar desfechos clínicos e microbiológicos em pacientes com PAV por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* tratados com polimixina B em comparação com outros antibióticos.

### Objetivos específicos

1. Avaliar a mortalidade em 30 dias de pacientes com PAV por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* tratados com polimixina B em comparação com outros antibióticos;
2. Avaliar o efeito de variáveis clínicas e microbiológicas, potenciais confundidoras, nos desfechos clínicos citados no item acima;
3. Avaliar desfechos microbiológicos (erradicação bacteriana e superinfecção) em pacientes com PAV por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* tratados com polimixina B em comparação com outros antibióticos.
4. Avaliar a toxicidade da polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento de pacientes com PAV por *P. aeruginosa* e *A. baumannii*

## Referências Bibliográficas

- (1) Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005 Feb 15;171(4):388-416.
- (2) Nordmann P, Naas T, Fortineau N, Poirel L. Superbugs in the coming new decade; multidrug resistance and prospects for treatment of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* in 2010. *Curr Opin Microbiol* 2007 Oct;10(5):436-40.
- (3) Jones RN. Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *Clin Infect Dis* 2010 Aug 1;51 Suppl 1:S81-S87.
- (4) Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). *J Antimicrob Chemother* 2011 Sep;66(9):2070-4.
- (5) Rossi F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. *Clin Infect Dis* 2011 May;52(9):1138-43.
- (6) Munoz-Price LS, Weinstein RA. Acinetobacter infection. *N Engl J Med* 2008 Mar 20;358(12):1271-81.
- (7) Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picao RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010 Jan;8(1):71-93.
- (8) Paterson DL. The role of antimicrobial management programs in optimizing antibiotic prescribing within hospitals. *Clin Infect Dis* 2006 Jan 15;42 Suppl 2:S90-S95.
- (9) Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Jr., Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006 Mar 1;42(5):657-68.
- (10) Martins AF, Zavascki AP, Gaspareto PB, Barth AL. Dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1-like and IMP-1-like metallo-beta-lactamases in hospitals from southern Brazil. *Infection* 2007 Dec;35(6):457-60.
- (11) Martins AF, Kuchenbecker R, Sukiennik T, Boff R, Reiter KC, Lutz L, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme: dissemination in Southern Brazil. *Infection* 2009 Oct;37(5):474-6.

- (12) Zavascki AP, Cruz RP, Goldani LZ. High rate of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* at a tertiary-care teaching hospital in southern Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004 Oct;25(10):805-7.
- (13) Zavascki AP, Gaspareto PB, Martins AF, Goncalves AL, Barth AL. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo- $\beta$ -lactamase in a teaching hospital in southern Brazil. *J Antimicrob Chemother* 2005 Dec;56(6):1148-51.
- (14) Zavascki AP, Barth AL, Gaspareto PB, Goncalves AL, Moro AL, Fernandes JF, et al. Risk factors for nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamase in two tertiary-care teaching hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2006 Oct;58(4):882-5.
- (15) Zavascki AP, Goldani LZ, Goncalves AL, Martins AF, Barth AL. High prevalence of metallo-beta-lactamase-mediated resistance challenging antimicrobial therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian teaching hospital. *Epidemiol Infect* 2007 Feb;135(2):343-5.
- (16) Zavascki AP, Barth AL, Goldani LZ. Nosocomial bloodstream infections due to metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2008 May;61(5):1183-5.
- (17) Joo EJ, Kang CI, Ha YE, Kang SJ, Park SY, Chung DR, et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: clinical impact of antimicrobial resistance on outcome. *Microb Drug Resist* 2011 Jun;17(2):305-12.
- (18) Sheng WH, Liao CH, Lauderdale TL, Ko WC, Chen YS, Liu JW, et al. A multicenter study of risk factors and outcome of hospitalized patients with infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Infect Dis* 2010 Sep;14(9):e764-e769.
- (19) Tam VH, Rogers CA, Chang KT, Weston JS, Caeiro JP, Garey KW. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Sep;54(9):3717-22.
- (20) Tumbarello M, Repetto E, Trecarichi EM, Bernardini C, DE PG, Parisini A, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. *Epidemiol Infect* 2011 Jan 13;1-10.
- (21) Zavascki AP, Barth AL, Goncalves AL, Moro AL, Fernandes JF, Martins AF, et al. The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Antimicrob Chemother* 2006 Aug;58(2):387-92.
- (22) Zavascki AP, Barth AL, Fernandes JF, Moro AL, Goncalves AL, Goldani LZ. Reappraisal of *Pseudomonas aeruginosa* hospital-acquired

- pneumonia mortality in the era of metallo-beta-lactamase-mediated multidrug resistance: a prospective observational study. *Crit Care* 2006;10(4):R114.
- (23) Bradley JS, Guidos R, Baragona S, Bartlett JG, Rubinstein E, Zhanel GG, et al. Anti-infective research and development--problems, challenges, and solutions. *Lancet Infect Dis* 2007 Jan;7(1):68-78.
- (24) Livermore DM. The need for new antibiotics. *Clin Microbiol Infect* 2004 Nov;10 Suppl 4:1-9.
- (25) Norrby SR, Nord CE, Finch R. Lack of development of new antimicrobial drugs: a potential serious threat to public health. *Lancet Infect Dis* 2005 Feb;5(2):115-9.
- (26) Rice LB. Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006 Sep 1;43 Suppl 2:S100-S105.
- (27) Sanchez A, Gattarello S, Rello J. New treatment options for infections caused by multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermenting gram-negative bacilli. *Semin Respir Crit Care Med* 2011 Apr;32(2):151-8.
- (28) Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005 May 1;40(9):1333-41.
- (29) Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2005 Jan;25(1):11-25.
- (30) Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006 Sep;6(9):589-601.
- (31) Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* 2007 Dec;60(6):1206-15.
- (32) Zavascki AP, Li J. Intravenous colistimethate for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis* 2008 Jul;8(7):403-5.
- (33) Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez-Jimenez FJ, Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis* 2003 May 1;36(9):1111-8.

- (34) Hachem RY, Chemaly RF, Ahmar CA, Jiang Y, Boktour MR, Rjaili GA, et al. Colistin is effective in treatment of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cancer patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 Jun;51(6):1905-11.
- (35) Kallel H, Hergafi L, Bahloul M, Hakim A, Dammak H, Chelly H, et al. Safety and efficacy of colistin compared with imipenem in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Intensive Care Med* 2007 Jul;33(7):1162-7.
- (36) Reina R, Estenssoro E, Saenz G, Canales HS, Gonzalvo R, Vidal G, et al. Safety and efficacy of colistin in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* infections: a prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2005 Aug;31(8):1058-65.
- (37) Rios FG, Luna CM, Maskin B, Saenz VA, Lloria M, Gando S, et al. Ventilator-associated pneumonia due to colistin susceptible-only microorganisms. *Eur Respir J* 2007 Aug;30(2):307-13.
- (38) 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.
- (39) Oliveira MS, Prado GV, Costa SF, Grinbaum RS, Levin AS. Ampicillin/sulbactam compared with polymyxins for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* *J Antimicrob Chemother* 2008 Jun;61(6):1369-75.
- (40) Paul M, Bishara J, Levcovich A, Chowders M, Goldberg E, Singer P, et al. Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2010 May;65(5):1019-27.
- (41) Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G, Superti SV, Lutz L, Barth AL, et al. Pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients. *Clin Infect Dis* 2008 Nov 15;47(10):1298-304.
- (42) 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.
- (43) Imberti R, Cusato M, Villani P, Carnevale L, Iotti GA, Langer M, et al. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest* 2010 Dec;138(6):1333-9.
- (44) Imberti R. Intravenous colistimethate administration and colistin lung tissue concentrations. *Intensive Care Med* 2010 Oct;36(10):1795-7.



- (45) Markou N, Fousteri M, Markantonis SL, Boutzouka E, Tsigou E, Baltopoulo G. Colistin penetration in the alveolar lining fluid of critically ill patients treated with IV colistimethate sodium. *Chest* 2011 Jan;139(1):232-3.
- (46) Zavascki AP, Li J, Nation RL, Superti SV, Barth AL, Lutz L, et al. Stable polymyxin B susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* despite persistent recovery of these organisms from respiratory secretions of patients with ventilator-associated pneumonia treated with this drug. *J Clin Microbiol* 2009 Sep;47(9):3064-5.
- (47) Bergen PJ, Li J, Nation RL, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW. Comparison of once-, twice- and thrice-daily dosing of colistin on antibacterial effect and emergence of resistance: studies with *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *J Antimicrob Chemother* 2008 Mar;61(3):636-42.
- (48) Owen RJ, Li J, Nation RL, Spelman D. In vitro pharmacodynamics of colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2007 Mar;59(3):473-7.
- (49) Tan CH, Li J, Nation RL. Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 Sep;51(9):3413-5.
- (50) David M Allen, Barry J Hartman. *Acinetobacter* Species. In: Mandell, Douglas, Bennett's, editors. *Principles and Practice of Infectious Disease*. 7 ed. Philadelphia: Elsevir; 2010. p. 2881-6.
- (51) Chuang YC, Sheng WH, Li SY, Lin YC, Wang JT, Chen YC, et al. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with acinetobacter bacteremia. *Clin Infect Dis* 2011 Feb 1;52(3):352-60.
- (52) Diancourt L, Passet V, Nemeč A, Dijkshoorn L, Brisse S. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One* 2010;5(4):e10034.
- (53) Marti S, Rodriguez-Bano J, Catel-Ferreira M, Jouenne T, Vila J, Seifert H, et al. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species. *BMC Res Notes* 2011;4:5.
- (54) Zeana C, Larson E, Sahni J, Bayuga SJ, Wu F, Della-Latta P. The epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003 Apr;24(4):275-9.
- (55) Morgan DJ, Liang SY, Smith CL, Johnson JK, Harris AD, Furuno JP, et al. Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination

of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010 Jul;31(7):716-21.

- (56) Borer A, Gilad J, Porat N, Megrelesvilli R, Saidel-Odes L, Peled N, et al. Impact of 4% chlorhexidine whole-body washing on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* skin colonisation among patients in a medical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2007 Oct;67(2):149-55.
- (57) Doyle JS, Buising KL, Thursky KA, Worth LJ, Richards MJ. Epidemiology of infections acquired in intensive care units. *Semin Respir Crit Care Med* 2011 Apr;32(2):115-38.
- (58) Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, Medeiros EA, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J Clin Microbiol* 2011 May;49(5):1866-71.
- (59) Martins AF, Kuchenbecker RS, Pilger KO, Pagano M, Barth AL. High endemic levels of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitals in southern Brazil. *Am J Infect Control* 2011 Jul 23.
- (60) Jung JY, Park MS, Kim SE, Park BH, Son JY, Kim EY, et al. Risk factors for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with colonization in the intensive care unit. *BMC Infect Dis* 2010;10:228.
- (61) Kim YJ, Kim SI, Kim YR, Hong KW, Wie SH, Park YJ, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: diversity of resistant mechanisms and risk factors for infection. *Epidemiol Infect* 2011 Apr 18;1-9.
- (62) Prates CG, Martins AF, Superti SV, Lopes FS, Ramos F, Cantarelli VV, et al. Risk factors for 30-day mortality in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* during an outbreak in an intensive care unit. *Epidemiol Infect* 2011 Mar;139(3):411-8.
- (63) 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.
- (64) Gerald B.Pier, Rubem Ramphal. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell DB, editor. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7 ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 2835-60.
- (65) Bleves S, Viarre V, Salacha R, Michel GP, Filloux A, Voulhoux R. Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A wealth of pathogenic weapons. *Int J Med Microbiol* 2010 Dec;300(8):534-43.
- (66) Engel J, Balachandran P. Role of *Pseudomonas aeruginosa* type III effectors in disease. *Curr Opin Microbiol* 2009 Feb;12(1):61-6.

- (67) Pier GB. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. *Int J Med Microbiol* 2007 Sep;297(5):277-95.
- (68) Girard G, Bloemberg GV. Central role of quorum sensing in regulating the production of pathogenicity factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiol* 2008 Feb;3(1):97-106.
- (69) Hoiby N, Ciofu O, Bjarnsholt T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol* 2010 Nov;5(11):1663-74.
- (70) Schobert M, Tielen P. Contribution of oxygen-limiting conditions to persistent infection of *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiol* 2010 Apr;5(4):603-21.
- (71) El Solh AA, Akinnusi ME, Wiener-Kronish JP, Lynch SV, Pineda LA, Szarpa K. Persistent infection with *Pseudomonas aeruginosa* in ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 Sep 1;178(5):513-9.
- (72) Kiem S, Schentag JJ. Impact of organism species on microbial eradication and development of resistance in severe gram-negative pneumonia. *J Chemother* 2010 Apr;22(2):103-9.
- (73) Lambert ML, Suetens C, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Morales I, et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. *Lancet Infect Dis* 2011 Jan;11(1):30-8.
- (74) Venier AG, Gruson D, Lavigne T, Jarno P, L'heriteau F, Coignard B, et al. Identifying new risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in intensive care units: experience of the French national surveillance, REA-RAISIN. *J Hosp Infect* 2011 Sep;79(1):44-8.
- (75) Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Mar;54(3):969-76.
- (76) Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009 Jan;22(1):161-82, Table.
- (77) Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol* 2009 Sep;58(Pt 9):1133-48.
- (78) Livermore DM. Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008 Jan;14 Suppl 1:3-10.
- (79) Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, Sahm DF. *Acinetobacter baumannii* 2002-2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. *Microb Drug Resist* 2010 Sep;16(3):209-15.

- (80) Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2010 Feb;65(2):233-8.
- (81) Carvalho KR, Carvalho-Assef AP, Peirano G, Santos LC, Pereira MJ, Asensi MD. Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying bla(OXA-23) collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. Int J Antimicrob Agents 2009 Jul;34(1):25-8.
- (82) Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HA, Castro ME, Stier CJ, Bragagnolo KL, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. J Clin Microbiol 2003 Jul;41(7):3403-6.
- (83) Schimith Bier KE, Luiz SO, Scheffer MC, Gales AC, Paganini MC, Nascimento AJ, et al. Temporal evolution of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Curitiba, southern Brazil. Am J Infect Control 2010 May;38(4):308-14.
- (84) Cuzon G, Naas T, Villegas MV, Bermudez AC, Quinn JP, Nordmann P. Wide dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* producing ss-lactamase blaKPC-2 gene in Colombia. Antimicrob Agents Chemother 2011 Aug 15.
- (85) Robledo IE, Aquino EE, Sante MI, Santana JL, Otero DM, Leon CF, et al. Detection of KPC in *Acinetobacter spp.* in Puerto Rico. Antimicrob Agents Chemother 2010 Mar;54(3):1354-7.
- (86) Robledo IE, Aquino EE, Vazquez GJ. Detection of the KPC gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-based nosocomial surveillance study in Puerto Rico. Antimicrob Agents Chemother 2011 Jun;55(6):2968-70.
- (87) Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2007 Apr;51(4):1553-5.
- (88) Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 2005 Jul;56(1):20-51.
- (89) Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. Ann Med 2007;39(3):162-76.
- (90) Sato K, Nakae T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother 1991 Jul;28(1):35-45.

- (91) Vincent JL, de Souza BD, Cianferoni S. Diagnosis, management and prevention of ventilator-associated pneumonia: an update. *Drugs* 2010 Oct 22;70(15):1927-44.
- (92) Melsen WG, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJ. Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Crit Care Med* 2011 Jul 14.
- (93) Shorr AF, Sherner JH, Jackson WL, Kollef MH. Invasive approaches to the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care Med* 2005 Jan;33(1):46-53.
- (94) Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1991 May;143(5 Pt 1):1121-9.
- (95) Zilberberg MD, Shorr AF. Ventilator-associated pneumonia: the clinical pulmonary infection score as a surrogate for diagnostics and outcome. *Clin Infect Dis* 2010 Aug 1;51 Suppl 1:S131-S135.
- (96) Lisboa T, Seligman R, Diaz E, Rodriguez A, Teixeira PJ, Rello J. C-reactive protein correlates with bacterial load and appropriate antibiotic therapy in suspected ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2008 Jan;36(1):166-71.
- (97) Ramirez P, Garcia MA, Ferrer M, Aznar J, Valencia M, Sahuquillo JM, et al. Sequential measurements of procalcitonin levels in diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2008 Feb;31(2):356-62.
- (98) Palazzo SJ, Simpson T, Schnapp L. Biomarkers for ventilator-associated pneumonia: review of the literature. *Heart Lung* 2011 Jul;40(4):293-8.
- (99) Shorr AF. Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2009 Apr;37(4):1463-9.
- (100) Houck PM, Bratzler DW, Nsa W, Ma A, Bartlett JG. Timing of antibiotic administration and outcomes for Medicare patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Arch Intern Med* 2004 Mar 22;164(6):637-44.
- (101) Hibbard ML, Kopelman TR, O'Neill PJ, Maly TJ, Matthews MR, Cox JC, et al. Empiric, broad-spectrum antibiotic therapy with an aggressive de-escalation strategy does not induce gram-negative pathogen resistance in ventilator-associated pneumonia. *Surg Infect (Larchmt)* 2010 Oct;11(5):427-32.
- (102) Chastre J, Wolff M, Fagon JY, Chevret S, Thomas F, Wermert D, et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-

- associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA* 2003 Nov 19;290(19):2588-98.
- (103) Povoia P. Serum markers in community-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Infect Dis* 2008 Apr;21(2):157-62.
- (104) Rewa O, Muscedere J. Ventilator-associated pneumonia: update on etiology, prevention, and management. *Curr Infect Dis Rep* 2011 Jun;13(3):287-95.
- (105) Lisboa T, Diaz E, Sa-Borges M, Socias A, Sole-Violan J, Rodriguez A, et al. The ventilator-associated pneumonia PIRO score: a tool for predicting ICU mortality and health-care resources use in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2008 Dec;134(6):1208-16.
- (106) Gursel G, Demirtas S. Value of APACHE II, SOFA and CPIS scores in predicting prognosis in patients with ventilator-associated pneumonia. *Respiration* 2006;73(4):503-8.
- (107) Labeau SO, Van d, V, Brusselaers N, Vogelaers D, Blot SI. Prevention of ventilator-associated pneumonia with oral antiseptics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2011 Jul 26.
- (108) Morris AC, Hay AW, Swann DG, Everingham K, McCulloch C, McNulty J, et al. Reducing ventilator-associated pneumonia in intensive care: Impact of implementing a care bundle. *Crit Care Med* 2011 Oct;39(10):2218-24.
- (109) Pileggi C, Bianco A, Flotta D, Nobile CG, Pavia M. Prevention of ventilator-associated pneumonia, mortality and all intensive care unit acquired infections by topically applied antimicrobial or antiseptic agents: a meta-analysis of randomized controlled trials in intensive care units. *Crit Care* 2011 Jun 24;15(3):R155.
- (110) Makris D, Manoulakas E, Komnos A, Papakrivou E, Tzovaras N, Hovas A, et al. Effect of pravastatin on the frequency of ventilator-associated pneumonia and on intensive care unit mortality: Open-label, randomized study. *Crit Care Med* 2011 Jun 30.
- (111) Blot S, Rello J, Vogelaers D. What is new in the prevention of ventilator-associated pneumonia? *Curr Opin Pulm Med* 2011 May;17(3):155-9.
- (112) Coppadoro A, Berra L, Bigatello LM. Modifying endotracheal tubes to prevent ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Infect Dis* 2011 Apr;24(2):157-62.
- (113) Li BG, Torres A. Ventilator-associated pneumonia: role of positioning. *Curr Opin Crit Care* 2011 Feb;17(1):57-63.

- (114) Bouadma L, Deslandes E, Lolom I, Le CB, Mourvillier B, Regnier B, et al. Long-term impact of a multifaceted prevention program on ventilator-associated pneumonia in a medical intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2010 Nov 15;51(10):1115-22.
- (115) Cheema AA, Scott AM, Shambaugh KJ, Shaffer-Hartman JN, Dechert RE, Hieber SM, et al. Rebound in ventilator-associated pneumonia rates during a prevention checklist washout period. *BMJ Qual Saf* 2011 Sep;20(9):811-7.
- (116) Umscheid CA, Mitchell MD, Doshi JA, Agarwal R, Williams K, Brennan PJ. Estimating the proportion of healthcare-associated infections that are reasonably preventable and the related mortality and costs. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011 Feb;32(2):101-14.
- (117) Craven DE. Ventilator-associated tracheobronchitis (VAT): questions, answers, and a new paradigm? *Crit Care* 2008;12(3):157.
- (118) Niederman MS. Hospital-acquired pneumonia, health care-associated pneumonia, ventilator-associated pneumonia, and ventilator-associated tracheobronchitis: definitions and challenges in trial design. *Clin Infect Dis* 2010 Aug 1;51 Suppl 1:S12-S17.
- (119) Craven DE, Chroneou A, Zias N, Hjalmarson KI. Ventilator-associated tracheobronchitis: the impact of targeted antibiotic therapy on patient outcomes. *Chest* 2009 Feb;135(2):521-8.
- (120) Craven DE, Hjalmarson KI. Ventilator-associated tracheobronchitis and pneumonia: thinking outside the box. *Clin Infect Dis* 2010 Aug 1;51 Suppl 1:S59-S66.
- (121) Nseir S, Ader F, Marquette CH. Nosocomial tracheobronchitis. *Curr Opin Infect Dis* 2009 Apr;22(2):148-53.
- (122) Keith S Kaye, Donald Kaye. Polymyxins (Polymyxin B and Colistin). In: Mandell DB, editor. *Principles and Practice of Infectious Disease*. 7 ed. Philadelphia: 2010. p. 469-70.
- (123) 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.
- (124) Kwa AL, Loh C, Low JG, Kurup A, Tam VH. Nebulized colistin in the treatment of pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2005 Sep 1;41(5):754-7.
- (125) Lu Q, Girardi C, Zhang M, Bouhemad B, Louchahi K, Petitjean O, et al. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 2010 Jul;36(7):1147-55.

- (126) Marchand S, Gobin P, Brillault J, Baptista S, Adier C, Olivier JC, et al. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Sep;54(9):3702-7.
- (127) Kofteridis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulou D, Georgopoulos D, et al. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis* 2010 Dec 1;51(11):1238-44.
- (128) Rattanaumpawan P, Lorsutthitham J, Ungprasert P, Angkasekwinai N, Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2010 Dec;65(12):2645-9.
- (129) Leong KW, Ong S, Chee HL, Lee W, Kwa AL. Hypersensitivity pneumonitis due to high-dose colistin aerosol therapy. *Int J Infect Dis* 2010 Nov;14(11):e1018-e1019.
- (130) 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.
- (131) Guyonnet J, Manco B, Baduel L, Kaltsatos V, Aliabadi MH, Lees P. Determination of a dosage regimen of colistin by pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modeling for treatment of G.I.T. disease in pigs. *Res Vet Sci* 2010 Apr;88(2):307-14.
- (132) 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.
- (133) 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.
- (134) Cheng CY, Sheng WH, Wang JT, Chen YC, Chang SC. Safety and efficacy of intravenous colistin (colistin methanesulphonate) for severe multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2010 Mar;35(3):297-300.
- (135) 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.



- (136) Pachon-Ibanez ME, Docobo-Perez F, Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, Jimenez-Mejias ME, Garcia-Curiel A, et al. Efficacy of rifampin and its combinations with imipenem, sulbactam, and colistin in experimental models of infection caused by imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Mar;54(3):1165-72.
- (137) Wareham DW, Gordon NC, Hornsey M. In vitro activity of teicoplanin combined with colistin versus multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2011 May;66(5):1047-51.
- (138) Torres E, Villanueva R, Bou G. Comparison of different methods of determining beta-lactam susceptibility in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol* 2009 May;58(Pt 5):625-9.
- (139) Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, Hankins JV, Trent MS, Hancock RE. The pmrCAB operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 Aug;55(8):3743-51.
- (140) Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Updat* 2010 Aug;13(4-5):132-8.
- (141) Fernandez L, Gooderham WJ, Bains M, McPhee JB, Wiegand I, Hancock RE. Adaptive resistance to the "last hope" antibiotics polymyxin B and colistin in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by the novel two-component regulatory system ParR-ParS. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Aug;54(8):3372-82.
- (142) Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 Dec;54(12):4971-7.
- (143) Muller C, Plesiat P, Jeannot K. A two-component regulatory system interconnects resistance to polymyxins, aminoglycosides, fluoroquinolones, and beta-lactams in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 Mar;55(3):1211-21.
- (144) Park YK, Choi JY, Shin D, Ko KS. Correlation between overexpression and amino acid substitution of the PmrAB locus and colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2011 Jun;37(6):525-30.
- (145) Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, McConnell MJ, Docobo-Perez F, Smani Y, Fernandez-Reyes M, et al. Impaired virulence and in vivo fitness of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis* 2011 Feb 15;203(4):545-8.

## Artigo

Artigo submetido à revista: *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

Número do manuscrito: DMID- 11-589

**Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii***

**Maria H Rigatto <sup>a</sup>, Vanessa B. Ribeiro <sup>b</sup>, Daniele Konzen <sup>c</sup>, Alexandre P. Zavascki <sup>d,\*</sup>**

<sup>a</sup> *Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;* <sup>b</sup> *Laboratory of Microbiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;* <sup>c</sup> *School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;* <sup>d</sup> *Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90.035-903, Brazil*

Running title: Polymyxin B for *P. aeruginosa* or *A. baumannii* VAP and VAT

\*A. P. Zavascki (CORRESPONDING AUTHOR)

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

**Abstract**

To compare the efficacy of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia (VAP) and tracheobronchitis (VAT) by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*, a prospective cohort study was performed. Patients who received appropriate therapy for  $\geq 48$ h were analyzed. The primary outcome was 30-day mortality. A total of 67 episodes were analyzed: 45 (67.2%) treated with polymyxin B and 22 (32.8%) with comparators. Thirty-day mortality was 44.8%: 53.3% (24 of 45) in the polymyxin B group and 27.3% (6 of 22) in the comparator group,  $P=0.08$ . The mortality rates in the polymyxin B and comparator group were 65.6 and 12.0 per 1000-patients-day, respectively ( $P=0.02$ ) Treatment with polymyxin B was independently associated with 30-day mortality in multivariate model, with similar results in the subgroup of patients with VAP, suggesting that this antibiotic may be inferior to other drugs in the treatment of VAP and VAT by these organisms.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, polymyxin B, colistin, treatment, mortality, multidrug-resistance, ventilator-associated pneumonia

## 1. Introduction

Ventilator-associated pneumonia (VAP) and ventilator-associated tracheobronchitis (VAT) are among the most common infections in critically ill patients (American Thoracic Society, 2005; Craven and Hjalmarson, 2010). VAP is specially associated with elevated mortality rates, increased length of hospital stay and costs ( American Thoracic Society, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* are major causes of both VAP and VAT (Zavascki et al., 2010). Both are troublesome pathogens, since there are frequently and increasingly associated with resistance to multiple drugs worldwide (Zavascki et al., 2010) . Treatment of infections by such bacteria are usually a challenge and many isolates are only susceptible to polymyxins, polymyxin B and colistin (polymyxin E), which are old antibiotics that re-emerged in clinical practice in later years as the last resort therapy for the treatment of multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria (Gales et al., 2011; Zavascki et al., 2010; Zavascki and Li, 2008).

Polymyxins were never subjected to the drug development processes required for compliance with contemporary regulatory requirements (Zavascki et al., 2007). Their use has been supported, however, by the lack of other treatment options and by case series suggesting that polymyxins are efficacious and safe (Zavascki et al., 2007; Zavascki and Li, 2008). Until recently, a few comparative studies have shown that the efficacy of polymyxins were similar for the treatment of Gram-negative pathogens when compared with other classes of antimicrobials (Zavascki and Li, 2008). More recently, however, three large studies have shown that treatment with polymyxins, both colistin and polymyxin B, were inferior to comparators for the treatment of serious nosocomial infections (Kvitko et al., 2011; Oliveira et al., 2008; Paul et al., 2010).

Polymyxins are most commonly prescribed for the treatment of MDR Gram-negative bacteria causing respiratory infections, including hospital-acquired pneumonia, particularly VAP and VAT. The aim of this study was to compare the efficacy of intravenous polymyxin B with other antibiotics in the treatment of these latter conditions caused by *P. aeruginosa* or *A. baumannii*.

## 2. Methods

### 2.1. Study design

A single-center prospective cohort study was performed, from February 2009 to December 2010, at a 600-bed teaching hospital, Hospital São Lucas (HSL), from Porto Alegre, Brazil. All patients admitted to the 13-bed intensive care unit (ICU) of HSL, submitted to mechanical ventilation (MV) for at least 48 hours, who had growth of *P. aeruginosa* or *A. baumannii* ( $\geq 10^5$  cfu/mL) from quantitative tracheal aspirates (QTA) and clinical diagnosis of VAP or VAT were enrolled for the study. They were excluded if they were <18 years old, if they had received treatment for <48h or died in this period or if they have not received appropriate therapy. Patients were assigned to the polymyxin B or other antimicrobial group according to their first appropriate treatment, if this treatment was administered for at least 48 hours. QTAs were collected, daily, during the first 15 days of treatment for evaluation of microbiological outcomes. The decision to treat and the dosage regimes were at the discretion of the attendant physician. The study was approved by the local ethics committee. A consent term was signed by a family member or other legal representative.

### 2.2. Variables and definitions

The primary outcome was 30-day mortality, defined as death for any cause during the first 30 days after the onset of infection. The onset of infection was defined as the day that the QTA that resulted in the growth of *P. aeruginosa* or *A. baumannii* was collected. Secondary

outcomes were length of mechanical ventilation after initiation of appropriate treatment; incidence of superinfection, defined by the growth of another microorganism during the first 15 days after treatment; and eradication of the bacteria from respiratory secretions, defined as the absence of growth in at least one QTA and no growth in subsequent exams. VAP was defined as 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/ $\text{mm}^3$ ) or leukopenia ( $<4,000$  cells/ $\text{mm}^3$ ) ( American Thoracic Society, 2005); VAT was defined as the presence of purulent secretions and one of the following: fever or hypothermia, and leukocytosis or leukopenia, as defined above (Craven and Hjalmarson, 2010). Respiratory secretion was considered purulent if  $>25$  neutrophils and  $<10$  epithelial cells per high power field were present. Appropriate therapy was defined as the administration of an antimicrobial agent with *in vitro* susceptibility.

Potential predictors of mortality were: age; gender; APACHE II score (Knaus et al., 1985) at ICU admission and at the onset of infection; SOFA score (Vincent et al., 1996) at the onset of infection and at the onset of appropriate therapy; partial pressure of arterial oxygen to the fraction of inspired oxygen ratio ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) at the onset of infection; length of hospital and ICU stay before infection; length of MV before the onset of infection; baseline diseases; baseline creatinine level; hemodialysis at the onset of infection; diagnosis of VAP or VAT; previous use of antibiotics; etiologic agent; polymicrobial infections (isolation of another organism, together with *P. aeruginosa* or *A. baumannii* from the QTA); organisms causing polymicrobial infection; presence of other concomitant infections and appropriateness of such treatment; concurrent bacteremia (isolation of the same microorganism of VAP or VAT from bloodstream); septic shock at the onset or during the infection; associated antibiotic with *in vitro* susceptibility or with *in vitro* resistance; time to start appropriate therapy and

development of renal impairment during therapy ( $\geq 50\%$  but  $< 100\%$  increase of creatinine from baseline levels, and  $\geq 100\%$  increase of creatinine from baseline levels). Adequate dosage regimes of the drugs was defined as a total daily dose of at least 6g of cefepime and ceftazidime (divided in three doses), 1200mg of ciprofloxacin (divided in two or three doses), 750mg of levofloxacin (single daily dose), 2g of imipenem (divided in four doses), 3g of meropenem (divided in three doses) and 13.5g of piperacillin-tazobactam (divided in three or four doses), or adjusted as indicated in the product drug information package insert. Adequate dosage regimes of polymyxin B was not defined and median doses were analyzed separately; Dose adjustment of polymyxin B for renal impairment was not considered since total body clearance of this drug is not affected by creatinine clearance according recent pharmacokinetic study (Zavascki et al., 2008).

### 2.3. Microbiology

All isolates were identified by the Vitek system (bioMérieux, Marcy-l'Etoile/France). Susceptibility was determined by the disc diffusion method and the results were interpreted according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria (2009). All first and subsequent isolates recovered from respiratory secretions were initially planned to have minimum inhibitory concentrations (MICs) for antimicrobials evaluated by broth micro dilution to assess the development of resistance during treatment. However, owing to storage problems only 19 (7 *P. aeruginosa* and 12 *A. baumannii*) isolates of 67 episodes of VAP or VAT obtained during the study could be recovered for further analysis. Thus, MICs were just determined in these isolates. For this reason, all non-tested *A. baumannii* isolates were considered susceptible to polymyxin B.



#### 2.4. Statistical analysis

All statistical analyses were carried out using SPSS for windows, version 16.0. Mortality rates between both groups were analyzed by the log-rank test. Variables potentially associated with the outcome were compared between polymyxin B and comparator groups (all other antimicrobial drugs) as well among 30-day survivors and non-survivors. *P* values were calculated using Chi-square or Fisher exact test for categorical variables and the Student's *t*-test or Wilcoxon-Mann-Whitney for continuous variables. Variables for which the *P* value was  $\leq 0.10$  in the bivariate analysis of 30-day survivors and non-survivors were included one by one using a forward stepwise method in a Cox regression model according their *P* value. Variables were checked for confounding and collinearity. A  $P \leq 0.20$  was set as the limit for acceptance and a  $P > 0.10$  for removal of new terms in the model. Finally, variables with a  $p \leq 0.20$  in the bivariate analysis of polymyxin B and beta-lactam groups were forced into the model to adjust for any potential residual confounding. Proportional hazards assumption was graphically checked inspecting the  $\log[-\log(S)]$  plot. All tests were two-tailed and  $P \leq 0.05$  was considered significant.

Subgroup analysis of patients with VAP was *a priori* defined. The variables included in the final model of this subgroup were the same of the final model.

### 3. Results

Seventy-seven patients met the criteria for VAP (57) or VAT (20) and had the growth of  $\geq 10^5$  cfu/mL *P. aeruginosa* or *A. baumannii* isolates in QTAs. Of these, 14 (18.0%) were excluded: 3 (21.4%) did not receive appropriate treatment, 11 (78.6%) died within <48h after the onset of appropriate therapy, resulting in a total of 63 patients. Of these 63 patients, 3 had more than one episode of VAP or VAT during the period of the study, resulting in 67 episodes analyzed.

The time between the first and second episodes in these four patients was 38, 42, 56 and 360 days.

There were 54 (80.6%) episodes of VAP (23 by *P. aeruginosa*, 28 by *A. baumannii* and 3 by both) and 13 (19.4%) of VAT (5 by *P. aeruginosa*, 7 by *A. baumannii* and 1 by both). In 45 (67.2%) episodes, patients were treated with polymyxin B and in 22 (32.8%) they were treated with comparators: 4 (18.2%) with ceftazidime, 4 (18.2%) with meropenem, 4 (18.2%) with cefepime, 3 (13.6%) with piperacillin-tazobactam, 3 (13.6%) with ciprofloxacin, 3 (13.6%) with levofloxacin and 1 (4.5%) with imipenem. The median (interquartile range) total daily dose of polymyxin B was 150mg (150-200; 1mg = 10 000 U), administered every 12 hours. There was no statistically significant difference in total daily doses of polymyxin B among 30-day survivors and non-survivors ( $P=0.65$ ). Twenty (90.9%) patients in the comparator group received adequate dosage regimens according to the definitions presented in methods. Two (4.4%) patients in the polymyxin B group changed their treatment for a beta-lactams after 4 and 7 days after starting therapy and 8 (36.4%) changed their treatment to polymyxin B after 4 to 11 days after starting therapy. Polymyxin B and other antimicrobial groups were comparable in most of the variables assessed, but there was a tendency for higher frequency of males, other infections and higher mean APACHE II score at ICU admission in the polymyxin B group (table 1).

All *P. aeruginosa* isolates were susceptible to polymyxin B by disc diffusion method, and the 7 isolates recovered for analysis have their MIC for polymyxin B ranging from 0.5 to 2.0 mg/L. Of *P. aeruginosa* isolates, 33.3% (11 of 33) were susceptible only to polymyxin B and resistant to all other antibiotics, 24.2% (8 of 33) were resistant to carbapenems but susceptible to at least one drug, 24.2% (8 of 33) were susceptible to carbapenems but resistant to at least one other antibiotic, and 18.2% (6 of 33) were susceptible to all antibiotics tested. Twelve *A. baumannii* isolates had their MICs for polymyxin B ranging from 0.5 to 1mg/L. Of *A. baumannii*

isolates, 60.5% (23 of 38) were resistant to all antibiotics tested, except polymyxin B, by disc diffusion method, 26.3% (10 of 38) were susceptible to carbapenems but resistant to at least one other antibiotic and 13.2% (5 of 38) were resistant to carbapenems but susceptible to at least one drug.

Overall 30-day mortality was 44.8% (30 of 67): 53.3% (24 of 45) in the polymyxin B group and 27.3% (6 of 22) in the comparator group (relative risk [RR] 1.96; 95% confidence interval [CI] 0.94-4.08,  $P=0.08$ ). The mortality rates in the polymyxin B group was 65.6 per 1000-patients-day and 12.0 per 1000-patients-day in the comparator group ( $P=0.02$ , figure 1). The bivariate analysis of the variables potentially associated with 30-day mortality is shown in table 2.

The results of the final multivariate model demonstrated that the use of polymyxin B, length of hospital stay before infection and development of renal impairment during therapy ( $\geq 100\%$  increase of creatinine from baseline levels) were independently associated with higher 30-day mortality (table 3). APACHE II score at the onset of infection were maintained in the final model regardless the absence of statistical significance for adjustment of potential residual confounding.

Twenty-four (44.4%) of the 54 in the subgroup of patients with VAP died within 30 days: 19 (54.3%) in the polymyxin B treated group and 5 (26.3%) in the comparator group (RR 2.06, 95% CI 0.92-4.64,  $P=0.09$ ). After adjustment in the multivariate model, polymyxin B was independently associated with 30-day mortality as length of hospital stay before infection and development of renal impairment during therapy (table 3).

There were no statistically significant differences in secondary outcomes between both groups (table 4). Eradication rates of *A. baumannii* isolates from respiratory secretions were

significantly higher (65.7%; 23 of 35) compared with *P. aeruginosa* (11.1%; 3 of 27),  $p < 0.001$ .

Patients with infection by both organisms eradicated only *A. baumannii*, but not *P. aeruginosa*.

#### 4. Discussion

Our study showed that patients with VAP or VAT caused by *P. aeruginosa* or *A. baumannii* treated with intravenous polymyxin B had higher 30-day mortality than those treated with other antimicrobials, mostly beta-lactams. The risk was 4.3-fold higher for patients treated with polymyxin B than with comparators. Our results further support other recent findings that polymyxins may be inferior to other drugs in the treatment of severe infections by Gram-negative bacilli (Kvitko et al., 2011; Oliveira et al., 2008; Paul et al., 2010).

Oliveira *et al.* showed that polymyxin B or colistin therapy was associated with a 2-fold higher risk of mortality after the end of treatment when compared with ampicillin-sulbactam for the treatment of nosocomial carbapenem-resistant *A. baumannii* infections (Oliveira et al., 2008). Paul *et al.* comparing colistin with imipenem, meropenem or ampicillin-sulbactam in the treatment of microbiologically documented nosocomial infections found higher 30-day mortality for bacteremic infections and higher overall mortality rates for all and bacteremic infections in patients treated with colistin (Paul et al., 2010). Finally, Kvitko et al. found an almost 2-fold higher risk of in-hospital mortality for patients treated with polymyxin B compared to other antimicrobials for *P. aeruginosa* bacteremia (Kvitko et al., 2011). All these recent studies are in contrast to previous ones that could not demonstrate any difference in mortality of patients treated with colistin in comparison with other antimicrobials (Zavascki and Li, 2008).

Many potential predictors of mortality were assessed in our study, but only  $\geq 100\%$  increase of creatinine from baseline levels during therapy and length of hospital stay before the infection were significantly associated with 30-day mortality. The occurrence of  $\geq 100\%$

increase of creatinine was not distinct between groups and polymyxin B and the effect of therapy was adjusted for this variable in the multivariate model; thus, this toxicity was not the cause of poorer outcomes seen in polymyxin B group. We believe that length of hospital stay before infection is likely reflecting in some degree the severity of the illness that might be not fully captured by APACHE II and SOFA scores. It is important to highlight, that higher mortality rates for polymyxin B remained after such adjustments.

Since other variables, particularly severity of illness, may be responsible for residual confounding, we forced into the final model variables which tended to differ in the comparison between polymyxin B and other drugs groups. Thus, APACHE II score at the onset of infection was maintained in the final model regardless the lack of statistical significance, and even adjusting for this score, the risk was higher among those who were treated with polymyxin B. The risk was very similar in the model not containing this latter variable (data not shown).

Although usually associated with lower mortality rates when compared to VAP, VAT is a challenging problem in ventilated patients, especially when caused by multidrug-resistant organisms (Craven and Hjalmarson, 2010), and assessment of polymyxin B efficacy in such condition is also of great importance. So, our study also included patients with VAT. Although there was a slightly higher rate of 30-day mortality in patients with VAP than in VAT that might be non-significant due to the sample size, the distribution of VAP and VAT between polymyxin B and comparator groups was very similar. Additionally, in the subgroup of patients with VAP, the outcomes were very similar with those of the entire cohort.

A potential factor corroborating to adverse outcomes in polymyxin B group may be the appropriateness of dosage regimes of this antimicrobial. Although we have previously found that  $\geq 200$ mg/day of polymyxin B was associated with lower in-hospital mortality (Elias et al., 2010), the adequate dosage regime of this drug is not fully defined. Thus, we did not perform a

categorization of adequate and non-adequate dosage for this drug. However, although dosage was not significantly associated with 30-day mortality in bivariate analysis in polymyxin B group, considering the 200mg cut-off, only 46.7% of the 45 patients in this group received  $\geq 200$ mg/day (data not shown), and it might be possible that it has affected the outcomes.

In our study, patients were allocated in polymyxin B or comparator groups according to their first appropriate treatment. Actually, this design tended to favor the null hypothesis. Only 2 (4.4%) patients in the polymyxin B group changed their therapy to beta-lactams, but 8 (36.4%) changed their treatment to polymyxin B. However, as stated above, these changes would favor the null hypothesis, i. e. the absence of difference between groups, since some patients in the comparator arm have received the “inferior” treatment and others in the polymyxin B arm have received the “superior” treatment.

The main limitation of our study was that we could not assess polymyxin B susceptibility in all *A. baumannii* isolates. This has occurred because most isolates were lost owing to storage problems. Indeed, polymyxin B resistance could explain poorer outcomes in patients from this group. Although recent studies have fortunately shown that polymyxin B resistance among *A. baumannii* is still very low (<1%) (Gales et al., 2011) and none of the tested *A. baumannii* isolates in our study presented a MIC higher than 1mg/L, we could not ensure that some isolates might have presented resistance to polymyxin B, and thus, contributing to adverse outcomes in polymyxin B group.

Finally, there were no differences in secondary outcomes, including bacterial eradication, which was extremely low in both groups especially in *P. aeruginosa* infections, a fact that have already been found in previous studies (El Solh et al., 2008; Kiem and Schentag, 2010; Zavascki et al., 2009).

In summary, this is the first study suggesting that polymyxin B therapy may be inferior to other antimicrobials in the treatment of VAP or VAT caused by *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, as indicated by higher 30-day mortality in patients treated with this drug. Our results points towards the same direction of other recent comparative studies, which found poorer outcomes in patients treated with polymyxins when compared to other antimicrobials. This study further highlights the need for improving the knowledge on pharmacokinetic/pharmacodynamics of this rescue drug in order to optimize its clinical use.

### **Acknowledgments**

This study was supported with grants from *Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre* (08-494). A. P. Z. is research fellow (301829/2008-0) and D. K. has received scientific initiation fellowship (507318/2010-2) from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil.

### **References**

- American Thoracic Society, 2005. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171: 388-416.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2009 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th informational supplement. (M100-S19), CLSI, Wayne, PA (2009).
- Craven D E, Hjalmarson K I (2010) Ventilator-associated tracheobronchitis and pneumonia: thinking outside the box. *Clin Infect Dis* 51 Suppl 1: S59-S66.
- El Solh A A, Akinnusi M E, Wiener-Kronish J P, Lynch S V, Pineda L A, Szarpa K (2008) Persistent infection with *Pseudomonas aeruginosa* in ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 178: 513-519.
- Elias L S, Konzen D, Krebs J M, Zavascki A P (2010) The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 65:2231-2237.

- Gales A C, Jones R N, Sader H S (2011) Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). *J Antimicrob Chemother* 66: 2070-2074.
- Kiem S, Schentag J J (2010) Impact of organism species on microbial eradication and development of resistance in severe gram-negative pneumonia. *J Chemother* 22:103-109.
- Knaus W A, Draper E A, Wagner D P, Zimmerman J E (1985) APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13: 818-829.
- Kvitko C H, Rigatto M H, Moro A L, Zavascki A P (2011) Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment of pseudomonas aeruginosa bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 66: 175-179.
- Oliveira M S, Prado G V, Costa S F, Grinbaum R S, Levin A S (2008) Ampicillin/sulbactam compared with polymyxins for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Acinetobacter spp. *J Antimicrob Chemother* 61:1369-137.
- Paul M, Bishara J, Levcovich A, Chowers M, Goldberg E, Singer P, Lev S, Leon P, Raskin M, Yahav D, Leibovici L (2010) Effectiveness and safety of colistin: prospective comparative cohort study. *J Antimicrob Chemother* 65:1019-1027.
- Vincent J L, Moreno R, Takala J, Willatts S, De M A, Bruining H, Reinhart C K, Suter P M, Thijs L G (1996) The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 22: 707-710.
- Zavascki A P, Carvalhaes C G, Picao R C, Gales A C (2010) Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 8: 71-93.
- Zavascki A P, Goldani L Z, Li J, Nation R L (2007) Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* 60:1206-1215.
- Zavascki A P, Li J (2008) Intravenous colistimethate for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis* 8: 403-405.
- Zavascki A P, Li J, Nation R L, Superti S V, Barth A L, Lutz L, Ramos F, Boniatti M M, Goldani L Z (2009) Stable polymyxin B susceptibility to Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. despite persistent recovery of these organisms from respiratory secretions of patients with ventilator-associated pneumonia treated with this drug. *J Clin Microbiol* 47: 3064-3065.



Table 1

Distribution of variables potentially associated with 30-day mortality between polymyxin B and comparator groups

Variables <sup>a</sup>	Therapy		P
	Polymyxin B (n=45)	Comparator (n=22)	
Age, years	60.4±16.5	62.7±15.6	0.60
Gender, male	29 (64.4)	9 (40.9)	0.07
APACHE II score at ICU admission	15.2±5.9	12.8±5.8	0.12
APACHE II score at the onset of infection	14.5±5.1	13.1±5.3	0.30
SOFA score at the onset of infection	5.8±2.9	5.7±2.2	0.90
SOFA score at the onset of appropriate therapy	6.1±2.9	5.3±2.9	0.26
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> at the onset of infection	244.8±98.3	258.8±98.2	0.59
Length of hospital stay before infection, days <sup>b</sup>	18 (10-34)	11 (8-33)	0.51
Length of ICU stay before infection, days <sup>b</sup>	9 (6-23)	7.5 (4-20)	0.45
Length of MV before infection, days <sup>b</sup>	9 (6-24)	7,5 (5-12)	0.38
Comorbidities			
Neurological	16 (35.6)	10 (45.5)	0.61
Cardiac	21 (46.7)	10 (45.5)	0.99
Pulmonary	15 (33.3)	7 (31.8)	0.99

Solid malignancy	9 (20.0)	2 (9.1)	0.22
Diabetes	10 (22.2)	2 (9.1)	0.31
Conjunctive tissue disease	2 (4.4)	1 (4.5)	0.99
Digestive tract diseases	11 (24.4)	3 (13.6)	0.36
Hepatic Disease	1(2.2)	1(4.5)	0.99
AIDS	3 (6.7)	0	NA
Baseline creatinine, mg/dL	1.7±1.3	1.4±1.0	0.33
Hemodialysis at the onset of infection	4 (8.9)	1(4.5)	0.99
VAP	36 (80.0)	18 (81.8)	0.99
Previous antibiotic use	40 (88.9)	17 (77.3)	0.38
Bacteria			0.18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 (35.6)	12 (54.5)	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	27 (60.0)	8 (36.4)	
Both	2 (4.4)	2 (9.1)	
Polymicrobial infection (n=63) <sup>c</sup>	16 (37.2)	8 (40.0)	0.95
Appropriate treatment of the bacteria associated with polymicrobial infection (n=28)	15 (83.3)	9 (90.0)	0.55
Presence of other infections	18 (40.0)	4 (18.2)	0.06
Appropriate treatment of the other infection (n=22)	14 (77.8)	3 (73.0)	0.99

Associated bacteremia	9 (20.0)	3 (13.6)	0.74
Septic shock at the onset of infection	19 (42.2)	6 (27.3)	0.36
Septic shock during treatment	28 (62.2)	10 (45.5)	0.30
Associated antibiotic with <i>in vitro</i> susceptibility	29 (64.4)	9 (40.9)	0.99
Associated antibiotic with <i>in vitro</i> resistance	34 (75.6)	16 (72.7)	0.99
Time to start appropriate therapy, days <sup>b</sup>	2 (0-4)	2 (1-3)	0.93
≥50% but < 100% increase of creatinine from baseline levels	9 (20.0)	4 (18.2)	0.57
≥100% increase of creatinine from baseline levels	9 (20.0)	4 (18.2)	0.57

ICU = intensive care unit; PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> = partial pressure of arterial oxygen to the fraction of inspired oxygen ratio; MV = mechanical ventilation; NA = not assessed.

<sup>a</sup> Values are n (%) or mean ± standard deviation, unless otherwise indicated.

<sup>b</sup> Median (interquartile range).

<sup>c</sup> Excluding the four patients with *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-infection.

**Table 2**

Bivariate analysis of factors potentially associated with 30-day mortality

Variables <sup>a</sup>	30-mortality		P
	Yes (n=30)	No (n=37)	
Age, years	61.8±16.3	60.7±16.2	0.77
Gender, male	18 (60.0)	20 (54.1)	0.81
APACHE II score at ICU admission	14.9±5.5	14.0±6.3	0.54
APACHE II score at the onset of infection	15.0±5.5	13.2±4.9	0.17
SOFA score at the onset of infection	6.2±3.0	5.5±2.5	0.29
SOFA score at the onset of appropriate therapy	6.2±3.1	5.6±2.8	0.38
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> at the onset of infection	239.9±91.6	256.6±102.9	0.50
Length of hospital stay before infection, days <sup>b</sup>	22 (9-44)	13 (9-27)	0.14
Length of ICU stay before infection, days <sup>b</sup>	9 (7-24)	8 (4-19)	0.29
Length of MV before infection, days <sup>b</sup>	9 (7-29)	8 (4-15)	0.23
Comorbidities			
Neurological	14 (46.7)	12 (32.4)	0.35
Cardiac	15 (50.0)	16 (43.2)	0.76
Pulmonary	10 (33.3)	12 (32.4)	0.85
Solid malignancy or	6 (20.0)	5 (13.5)	0.70

---

Lymphoproliferative disorder			
Diabetes	7 (23.3)	5 (13.5)	0.47
Conjunctive tissue disease	2 (6.7)	1 (2.7)	0.42
Digestive tract diseases	6 (20.0)	8 (21.6)	0.89
Hepatic Disease	1 (3.3)	1 (2.7)	0.70
AIDS	1 (3.3)	2 (5.4)	0.60
Baseline creatinine, mg/dL	1.6±1.2	1.7±1.3	0.90
Hemodialysis at the onset of infection	2 (6.7)	3 (8.1)	0.60
VAP	24 (80.0)	30 (81.1)	0.84
Previous antibiotic use	17 (81.0)	40 (87.0)	0.79
Bacteria			0.80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 (50.0)	13 (35.1)	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13 (43.3)	22 (59.5)	
Both	5 (6.7)	5 (5.4)	
Polymicrobial infection (n=63) <sup>c</sup>	10 (35.7)	14 (40.0)	0.93
Appropriate treatment of the bacteria associated with polymicrobial infection (n=28)	11 (91.7)	13 (81.3)	0.42
Presence of other infections (n=22)	7 (33.3)	15 (32.6)	0.82
Appropriate treatment of other infections (n=22)	8 (72.7)	9 (81.8)	0.50

---

Associated bacteremia	6 (20.0)	6 (16.2)	0.93
Septic shock at the onset of infection	12 (40.0)	13 (35.1)	0.88
Septic shock during treatment	21 (70.0)	17 (45.9)	0.08
Treatment with polymyxin B	24 (80.0)	21 (56.8)	0.08
Associated antibiotic with <i>in vitro</i> susceptibility	3 (10.0)	3 (8.1)	0.56
Associated antibiotic with <i>in vitro</i> resistance	22 (73.3)	28 (75.7)	0.95
Time to start appropriate therapy, days <sup>b</sup>	3 (0-4)	2 (0-4)	0.63
≥50% but < 100% increase of creatinine from baseline levels	6 (20.0)	7 (18.9)	0.84
≥100% increase of creatinine from baseline levels	10 (33.3)	3 (8.1)	0.01

ICU = intensive care unit; PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> = partial pressure of arterial oxygen to the fraction of inspired oxygen ratio; MV = mechanical ventilation.

<sup>a</sup> Values are n (%) or mean ± standard deviation, unless otherwise indicated.

<sup>b</sup> Median (interquartile range).

<sup>c</sup> Excluding the four patients with *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-infection.

Table 3

Multivariate analysis of factors associated with 30-day mortality in the entire cohort and in the subgroup of patients with ventilator associated pneumonia (VAP)

Variables	Entire Cohort (n=67)		Subgroup with VAP (n=54)	
	aHR (95% CI)	<i>P</i>	aHR (95% CI)	<i>P</i>
Treatment with polymyxin B	4.28 (1.53-11.93)	0.01	4.30 (1.39-13.30)	0.01
≥100% increase of creatinine from baseline levels	3.98 (1.73-9.14)	0.001	3.71 (1.47-9.35)	0.01
Length of hospital stay before infection	1.01 (1.00-1,01)	0.02	1.01 (1.00-1,01)	0.04
APACHE II score at onset of infection	1.03 (0.96-1.10)	0.44	1.04 (0.96-1.12)	0.36

aHR = adjusted Hazard Ratio; CI = confidence interval.

Table 4

## Secondary outcomes of patients treated with polymyxin B and comparators

Outcomes <sup>a</sup>	Therapy		Relative Risk (95% Confidence Interval)	P
	Polymyxin B	Comparator		
Length of MV after appropriate treatment, days (n=29) <sup>b</sup>	11 (5-20)	12 (6-29)	–	0.65
Superinfection (n =64) <sup>c</sup>	22 (51.2)	14 (66.7)	0.77 (0.65-1.17)	0.37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	2		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	7		
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	2		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	5		
<i>Providencia stuartii</i>	1	0		
<i>Chryseobacterium</i> spp	1	1		
<i>Enterobacter</i> spp.	2	1		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2		
<i>Escherichia coli</i>	2	0		
<i>Achromobacter</i> spp.	1	0		
<i>Serratia marcescens</i>	1	1		
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1		



Bacterial Eradication (n=64) <sup>d</sup>	18 (41.9)	8 (38.1)	1.1(0.57-2.1)	0.99
---	-----------	----------	---------------	------

---

MV = mechanical ventilation.

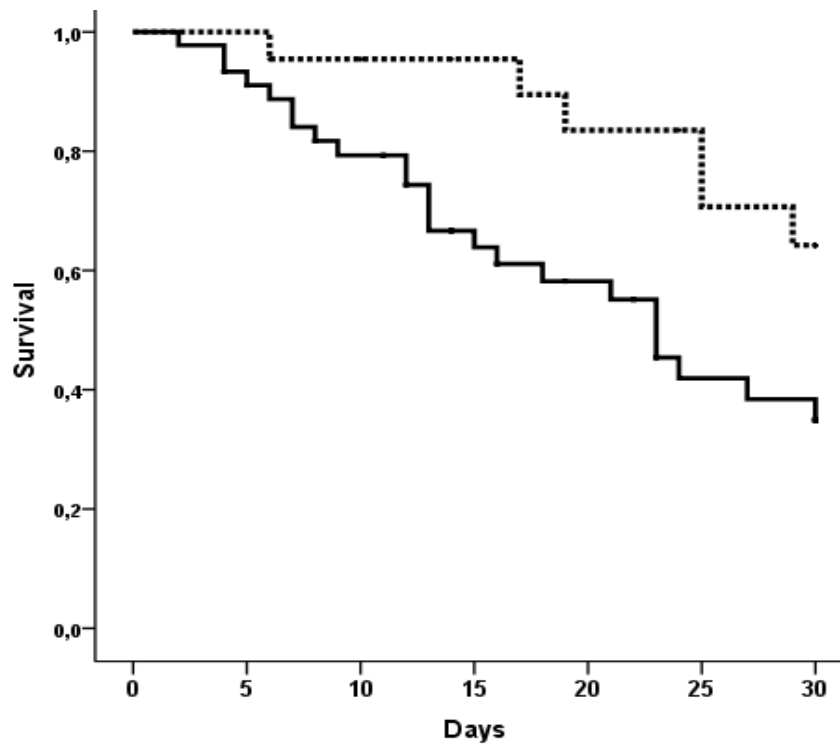
<sup>a</sup> Values are n (%) or median (Interquartile Range).

<sup>b</sup> Outcome assessed only in survivors.

<sup>c</sup> Twenty patients had superinfection with more than one bacteria

<sup>d</sup> It was significantly higher in patients infected by *A. baumannii* (65.7%; 23 of 35) compared with those infected by *P. aeruginosa* (11.1%; 3 of 27),  $P < 0.001$ . Patients with infection by both organisms eradicated only *A. baumannii*, but not *P. aeruginosa*.

Fig.1 Kaplan-Meier survival curves of patients with ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii* . Mortality rates were 65.6 and 12.0 per 1000-patients-day in patients treated with polymyxin B (full line) and comparators (dashed line), respectively ( $P=0.02$ , Log-Rank test).



## Considerações Gerais

Este estudo mostrou que pacientes com PAV e TAV causadas por *P.aeruginosa* e *A. baumannii* tratados com polimixina B intravenosa tiveram 4,3 vezes maior mortalidade, em 30 dias, comparados aos tratados com outros antibióticos, na sua maioria beta-lactâmicos. Este achado reforça os resultados de outros estudos recentes que apontam a polimixina B como droga possivelmente inferior no tratamento de infecções graves por bacilos Gram-negativos.

Este foi o primeiro estudo a sugerir que a terapia com polimixina B possa ser inferior a outros antimicrobianos no tratamento de PAV e TAV causada por *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, indicada pela maior mortalidade, em 30 dias, dos pacientes tratados com esta droga. Foi o segundo estudo prospectivo, e destes o maior, avaliando a eficácia da polimixina B em pacientes com PAV e TAV. Apesar das limitações apresentadas na discussão do nosso artigo os achados deste estudo apontam na mesma direção de estudos comparativos recentes. Este fato é preocupante pois, muitas vezes, a polimixina B é utilizada como droga de resgate e por vezes, como única alternativa sensível em germes multirresistentes. A possibilidade de menor eficácia em relação a outras drogas reforça a necessidade de um melhor entendimento de sua farmacocinética e farmacodinâmica de modo a otimizar o seu uso.

## Anexos

**CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(Obrigatório para Pesquisa Científica em Seres Humanos Resolução no. 196 de 10/10/96 - Conselho Nacional de Saúde)

**Título do Projeto:** Polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento de pneumonia associada à ventilação mecânica por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.

**Dados sobre a pesquisa:**

Estamos realizando uma pesquisa que estuda um antibiótico chamado polimixina B. Esse antibiótico é usado, na grande maioria das vezes, para tratar infecções causadas por bactérias chamadas *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, que não são destruídas com o uso de outros antibióticos. Essas bactérias são causas cada vez mais frequentes de infecções hospitalares no mundo inteiro. Desse modo, o uso da polimixina B tem crescido. Apesar de ser um antibiótico antigo, e de ser a única opção de tratamento para essas bactérias multiresistentes, muito pouco se conhece sobre a eficácia da polimixina B.

O objetivo de nossa pesquisa é avaliar a eficácia clínica da polimixina B em comparação com outros antibióticos de eficácia clínica conhecida, através da comparação das taxas de cura, óbitos e eliminação das bactérias. Para isso, estamos incluindo no estudo pacientes que apresentam pneumonia (infecção nos pulmões) causada por essas bactérias, durante o período em que estão recebendo o suporte respiratório de aparelhos, e que necessitam de qualquer tipo de antibiótico.

O seu familiar \_\_\_\_\_, internado na UTI desse hospital, está apresentando uma infecção no pulmão causada pela bactéria \_\_\_\_\_. Essa infecção precisa ser tratada com \_\_\_\_\_ e, portanto, gostaríamos de incluí-lo na pesquisa.

Para a realização da pesquisa é necessário obter algumas informações referentes ao paciente. A maior parte destas informações já são obtidas para as rotinas de cuidados de todo paciente internado em uma UTI. O único procedimento que será feito somente para a pesquisa é o exame diário das secreções dos pulmões. Esse exame diário não acarreta nenhum prejuízo para o paciente, pois a coleta de secreções em pacientes que estão com tubo respiratório é realizada rotineiramente de hora em hora, para que não ocorra acúmulo de secreções nas vias respiratórias do paciente. A diferença é que os pesquisadores irão examinar uma dessas secreções por dia.

Os dados obtidos não influenciam de nenhum modo o tratamento do paciente, bem como a conduta do seu médico assistente. Os dados necessários para o diagnóstico da infecção e acompanhamento da resposta do paciente ao tratamento são obtidos pelos médicos assistentes independentemente da pesquisa. Caberá única e exclusivamente ao médico ou equipe médica que está cuidando do seu familiar, a decisão de iniciar, interromper, ou modificar o tratamento com qualquer que seja o antibiótico.

O presente trabalho não acarretará qualquer risco ou desconforto para os pacientes.

Caso seja de sua vontade, o paciente terá assegurada a garantia de abandonar a pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo para o mesmo.

**Coordenador do projeto:** Dr. Alexandre P. Zavascki

**A participação no estudo é voluntária.** As informações solicitadas no questionário serão analisadas pelos pesquisadores, porém sempre protegendo a privacidade do paciente e a confidencialidade dos dados. **Caso você tenha alguma dúvida ligue para o Dr. Alexandre P. Zavascki, fone 21018152.**

#### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu \_\_\_\_\_ declaro que, após ter sido convenientemente esclarecido pelo pesquisador, autorizo o meu familiar a participar do projeto de pesquisa acima.

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador \_\_\_\_\_ nome: \_\_\_\_\_

Este formulário foi lido para \_\_\_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ pelo \_\_\_\_\_ enquanto eu estava presente.

Assinatura de testemunha \_\_\_\_\_ nome: \_\_\_\_\_

**(Observação:** Este termo de consentimento será preenchido em duas vias sendo que uma delas deverá ficar com o paciente e o outro com o pesquisador).

**Polimixina em comparação com outros antibióticos no tratamento de pneumonia associada à ventilação mecânica por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.**

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo ( m ) ( f ) Idade: \_\_\_\_\_ anos

Registro: \_\_\_\_\_ Leito: \_\_\_\_\_ Data da Internação: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ SEGUNDO ( )

P. aeruginosa ( ) A. baumannii ( )

imipenem ( ) MIC \_\_\_\_\_ meropenem ( ) MIC \_\_\_\_\_ aztreonam ( ) MIC \_\_\_\_\_ piperacilina-tazobactama

( ) MIC \_\_\_\_\_ cefepima ( ) MIC \_\_\_\_\_ ceftazidima ( ) MIC \_\_\_\_\_ ciprofloxacino ( ) MIC \_\_\_\_\_ amicacina ( ) gentamicina ( ) tigeciclina ( ) MIC \_\_\_\_\_ doxiciclina ( ) ampicilina-sulbactama ( ) MIC \_\_\_\_\_ polimixina B ( ) MIC: \_\_\_\_\_

PAVM ( ) traqueobronquite ( )

Data isolamento: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Antibiótico: \_\_\_\_\_

Data do início do atb: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Dose média dia: \_\_\_\_\_

**1. Desfecho durante internação UTI:**

Óbito ( ) Alta UTI ( )

Tempo (em dias) para o desfecho: após infecção: \_\_\_\_\_ após tto correto: \_\_\_\_\_

**2. Ventilação mecânica** antes da infecção: tempo: \_\_\_\_\_ dia(s)

após infecção: \_\_\_\_\_ dia (s) após tto correto: \_\_\_\_\_ dias

**3. Nova PAVM ( ) ou TB ( )?** sim ( ) não ( ) Intervalo: \_\_\_\_\_ dia(s)

**4. Doença(s) de base:** cardio-vascular ( ) pulmonar ( ) SNC ( ) hepatopatia ( ) insuficiência renal ( ) aparelho digestivo ( ) tecido conjuntivo ( ) DM ( )

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

**5. Escore SOFA:** início da infecção: \_\_\_\_\_ início do tto: \_\_\_\_\_

**6. Escore APACHE II:** na internação: \_\_\_\_\_ início da infecção: \_\_\_\_\_ início do tto: \_\_\_\_\_

**7 Presença do patógeno em HMC:** sim ( ) não ( )

**8. Infecção polimicrobiana?** sim ( ) não ( ) se sim, germe: \_\_\_\_\_

Perfil de Sensibilidade: \_\_\_\_\_

Tratamento: \_\_\_\_\_

**9. Infecções por outros microorganismos associada?** sim ( ) não ( )

Se sim, sítio: \_\_\_\_\_ germe: \_\_\_\_\_

Sensibilidade: \_\_\_\_\_

Tratamento: \_\_\_\_\_

**10. Antibioticoterapia prévia ao isolamento (15 dias)?** sim ( ) não ( )

Se sim, qual (is)? \_\_\_\_\_





