UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Monitoramento terapêutico e modelagem farmacocinética de
antimicrobianos em pacientes queimados da unidade de terapia
intensiva**

KARIN JANNET VERA LÓPEZ

Tese para obtenção do grau de

DOUTOR

Orientadora:

Prof^a Titular Silvia Regina Cavani Jorge Santos

São Paulo

2009

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Vera López, Karin Jannet
V474m Monitoramento terapêutico e modelagem farmacocinética de
antimicrobianos em pacientes queimados da unidade de terapia
intensiva / Karin Jannet Vera López. -- São Paulo, 2009.
lv.(várias paginações)

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Santos, Silvia Regina Cavani Jorge

1. Antibiotecoterapia 2. Farmacocinética I. T. II. Santos,
Silvia Regina Cavani Jorge, orientador.

615.329 CDD

KARIN JANNET VERA LÓPEZ

**Monitoramento terapêutico e modelagem farmacocinética de
antimicrobianos em pacientes queimados da unidade de terapia
intensiva**

Comissão Julgadora

da

Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Dra. Silvia Regina Cavani Jorge Santos

Orientador

1°. examinador

2°. examinador

3°. examinador

4°. examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2009.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original."

(Einstein)

DEDICATÓRIA

*A minha mãe, pela dedicação,
amor, apoio incondicional e
pelo exemplo de trabalho e luta.*

*A minha irmã, por ser estrela que sempre me acompanha,
fonte de sonos, inspiração e desejo de superação.*

*Aos meus avôs (in memoriam)
por todas as lições de vida.
Seus ensinamentos sempre foram minha inspiração
para enfrentar quaisquer obstáculos.*

*A todos os pacientes que sofreram queimaduras, na
tentativa de oferecer um melhor tratamento.*

*A todos àqueles que acreditam que a ousadia e o erro são caminhos para as grandes
realizações.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado neste caminho, ter me dado coragem, resistência e perseverança para enfrentar as dificuldades, e pela concretização de mais um sono na minha vida.

À Professora Silvia Regina Cavani Jorge Santos pela oportunidade, pelos ensinamentos, apoio, incentivo e orientação em todas as etapas deste projeto.

Ao Prof. Dr. Jose Villanueva Salas pelo apoio, conselhos e amizade, durante todo este período.

Aos pacientes que aceitaram em participar deste estudo e seus familiares. Sem eles, a realização deste projeto não seria concretizada.

Aos colegas e amigos do laboratório de farmacologia e terapêutica (Veronica, Cristina, Graziela, Carlos, Mauro, Josélia, Karina, Michele, Rúbia, Adriano, Marc e Carol), por todos os bons momentos, experiências e conhecimentos compartilhados nos últimos anos.

Aos técnicos e amigos do laboratório, Edgar e Adriana, pela amizade, apoio e por todos os bons momentos compartilhados.

Meu reconhecimento ao apoio e carinho dos meus amigos Fran, Marina, Eduardo, Andre, Thais, Mathew, Emilia, Bianca, Paty, Caroline, Celina, Pedro, Jimmy, pela amizade, pela torcida, por ter sido uma família para mim, os levarei sempre no meu coração.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro no projeto de pesquisa.

	Página
Lista de Ilustrações	vii
Lista de Quadros	xi
Lista de Tabelas	xii
Lista de Siglas e Abreviaturas	xv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	5
REVISÃO DA LITERATURA	7
1. QUEIMADURA	8
1.1. FISIOPATOLOGIA	8
1.1.1. RESPOSTA HEMODINÂMICA	9
1.1.2. RESPOSTA DO SISTEMA IMUNOLÓGICO	9
1.1.3. ALTERAÇÕES METABÓLICAS	10
1.2. CLASSIFICAÇÃO	11
1.2.1. AGENTE FÍSICO	11
1.2.2. SUPERFÍCIE CORPORAL QUEIMADA (SCQ)	12
1.2.3. PROFUNDIDADE DA QUEIMADURA	14
1.2.4. CLASSIFICAÇÃO PELA GRAVIDADE DA LESÃO	16
1.3. PROCEDIMENTOS CIRURGICOS NOS PACIENTES QUEIMADOS	17
1.3.1. DESBRIDAMENTO	17
1.3.2. ENXERTIA CUTÂNEA	18
2. INFECÇÕES	19
2.1. EVOLUÇÃO DA INFECÇÃO	19
2.2. ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS LOCAIS QUE FAVORECEM O DESENVOLVIMENTO BACTERIANO	20
2.2.1. MECANISMO DE DEFENSA DA PELE	20
2.2.2. ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS	21
2.2.3. TRASLOCAÇÃO BACTERIANA	21

2.3. MICROORGANISMOS.....	22
2.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA INFECÇÃO.....	23
2.5. TRATAMENTO DA INFECÇÃO.....	24
3. ANTIMICROBIANOS.....	26
3.1. CEFEPIME.....	26
3.2. VANCOMICINA.....	30
3.3. IMIPENEM.....	33

CAPITULO I

INTRODUÇÃO.....	40
OBJETIVOS.....	43
1. MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
1.1. PADRÕES E REAGENTES.....	44
1.2. PREPARO DE PADRÕES DE REFERENCIA, CALIBRADORES E CONTROLES DE QUALIDADE.....	45
1.3. INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	46
1.4. PROCEDIMENTO DE PURIFICAÇÃO DA MATRIZ BIOLÓGICA.....	46
1.5. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA.....	49
1.5.1. ESPECIFICIDADE E SELETIVIDADE.....	49
1.5.2. LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	50
1.5.3. LINEARIDADE E CURVA DE CALIBRAÇÃO DIÁRIA.....	50
1.5.4. ESTUDOS DE RECUPERAÇÃO.....	51
1.5.5. EXATIDÃO INTRA E INTER-DIAS.....	52
1.5.6. PRECISÃO INTRA E INTER-DIAS.....	53
1.5.7. ESTABILIDADE.....	54
1.5.8. ROBUSTEZ.....	55
2. RESULTADOS.....	56
2.1. PERFIL CROMATOGRÁFICO.....	56
2.2. ESPECIFICIDADE E SELETIVIDADE.....	57
2.3. LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E LIMITE DE DETECÇÃO.....	59
2.4. LINEARIDADE E CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	59
2.5. PRECISÃO, EXATIDÃO E RECUPERAÇÃO.....	63
2.6. ESTABILIDADE DOS ANTIMICROBIANOS.....	65

2.7. ROBUSTEZ	67
3. DISCUSSÃO	69
4. CONCLUSÃO	74

CAPITULO II

INTRODUÇÃO	77
OBJETIVOS	81
1. MATERIAIS E MÉTODOS	82
1.1. ETAPA CLÍNICA.....	82
1.1.1. LOCAL DO ESTUDO	82
1.1.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	82
1.1.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	82
1.1.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DOS PACIENTES	82
1.1.4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	83
1.1.4.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	84
1.1.5. CASUÍSTICA.....	84
1.1.6. PROTOCOLO CLÍNICO	87
1.2. ETAPA ANALÍTICA	89
1.3. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA	89
1.4. ETAPA ESTATÍSTICA	90
2. RESULTADOS	92
2.1. CASUÍSTICA.....	92
2.2. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA, CEFEPIME E IMPENEM.....	95
2.3. AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTERPACIENTES PARA AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS ANTIMICROBIANOS	104
2.4. DISPOSIÇÃO CINÉTICA DOS ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS	110
2.5. FARMACOCINÉTICA COMPARATIVA DA VANCOMICINA GRUPO A VERSUS GRUPO B	113
2.6. AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE CINÉTICA DOS ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS	114
2.7. ESTUDO DE CORRELAÇÃO	121

3. DISCUSSÃO	126
3.1. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA, CEFEPIME E IMPENEM.....	126
3.2. AVALIAÇÃO DA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DE ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS PORTADORES DE SEPSE	129
4. CONCLUSÕES	133

CAPITULO III

INTRODUÇÃO.....	136
OBJETIVOS	139
1. MATERIAIS E MÉTODOS	140
1.1. ETAPA CLÍNICA.....	140
1.1.1. LOCAL DO ESTUDO	140
1.1.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	140
1.1.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	140
1.1.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DOS PACIENTES	140
1.1.4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	141
1.1.4.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	142
1.1.5. CASUÍSTICA.....	142
1.1.6. PROTOCOLO CLÍNICO.....	144
1.2. ETAPA ANALÍTICA	146
1.3. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA	146
1.4. ETAPA ESTATÍSTICA	148
2. RESULTADOS	150
2.1. CASUÍSTICA.....	150
2.2. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA APÓS CIRURGIA DE DESBRIDAMENTO E DE ENXERTO.....	151
2.3. AVALIAÇÃO DA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DA VANCOMICINA APÓS CIRURGIA DE DESBRIDAMENTO E DE ENXERTO.....	158
2.4. ESTUDO DE CORRELAÇÕES	170
3. DISCUSSÃO	172
4. CONCLUSÕES	177
7. REFERÊNCIAS	178

ANEXOS 194

ANEXO A - Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de
Mestrado/Doutorado

ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO C - Termo de consentimento livre e esclarecido

ANEXO D - CIMs Bacterias (EUCAST)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Regra dos nove para a determinação da superfície corpórea queimada em adultos.....	13
Figura 2 -	Diagrama e tabela para a determinação da superfície corpórea queimada em crianças.....	13
Figura 3 -	Queimadura de primeiro grau.....	14
Figura 4 -	Queimadura de segundo grau.....	15
Figura 5 -	Queimadura de terceiro grau.....	16
Figura 6 -	Estrutura química do cefepime.....	26
Figura 7 -	Estrutura química da vancomicina.....	30
Figura 8 -	Estrutura química do imipenem.....	34
Figura 9 -	Perfil cromatográfico dos três agentes antimicrobianos em matrizes biológicas (A): Plasma branco com padrão interno [4]; (B) Plasma branco com cefepime [1] (0,8 µg/mL); vancomicina [2] (0,4 µg/mL) e imipenem [3] (0,4 µg/mL); e PI (C) Plasma branco com, cefepime 8 µg/mL, vancomicina e imipenem, 4 µg/mL e PI.....	56
Figura 10 -	(A) Paciente tratado com cefepime [1] e vancomicina [2] (B) Paciente tratado com vancomicina [2] e imipenem [3].....	58
Figura 11 -	Curva de calibração diária para determinação do cefepime plasmático através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos de cefepime e o PI <i>versus</i> as concentrações do cefepime nos calibradores	61
Figura 12 -	Curva de calibração diária para determinação da vancomicina plasmática através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos da vancomicina e o PI <i>versus</i> as concentrações da vancomicina nos calibradores	61
Figura 13 -	Curva de calibração diária para determinação do imipenem plasmático através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos de imipenem e o PI <i>versus</i> as concentrações do imipenem nos calibradores.....	62
Figura 14 -	Curva de decaimento plasmático da vancomicina no decurso do tempo (grupo A, n=10), valores médios/desvio padrão da média; CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 µg/mL.....	98
Figura 15 -	Curva de decaimento plasmático do cefepime no decurso do tempo.	

	Painel superior: C vs T, valores médios/desvio padrão da média. Painel inferior: logC vs T; regime posológico: 2g 8/8 horas.....	99
Figura 16 -	Modelagem PK-PD para o cefepime em dois painéis (A) $\Delta T > \text{CIM} = 50\%$; (B) $\Delta T > \text{CIM} = 75\%$	100
Figura 17 -	Curvas de decaimento da vancomicina plasmática no intervalo de tempo (grupo B), valores médios/desvio padrão da média. CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 $\mu\text{g/mL}$	101
Figura 18 -	Curva de decaimento plasmático do imipenem no decurso do tempo (regime 1g 6/6 hs). Painel superior: C vs T, valores médios/desvio padrão da média. Painel inferior: logC vs T.....	102
Figura 19 -	Modelagem PK-PD para o imipenem. Painel (A) $\Delta T \geq \text{CIM}$ (50%); Painel (B) $\Delta T \geq \text{CIM}$ (70%).....	103
Figura 20 -	Concentração plasmática de vancomicina (n=22), médias e desvio padrão (CME=5 $\mu\text{g/mL}$).....	105
Figura 21 -	Variabilidade inter-pacientes para a vancomicina, dados individuais. Painel superior: concentração plasmática do antimicrobiano (vale) nos Grupos A+B, n=22, concentração mínima eficaz (CME=5 $\mu\text{g/mL}$). Painel inferior: área sob a curva integrada no intervalo de dose.....	106
Figura 22 -	Variabilidade inter-pacientes para o cefepime em dois painéis, dados individuais. Painel superior: concentração no vale. Painel inferior: ASC.....	108
Figura 23 -	Variabilidade inter-pacientes para o imipenem em dois painéis, dados individuais. Painel superior: concentração no vale. Painel inferior: ASC.....	109
Figura 24 -	Dados individuais para a constante de eliminação e meia vida biológica da vancomicina; (n=22). ■ valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).....	115
Figura 25 -	Dados individuais para depuração plasmática da vancomicina; CV% (n=22). ■ valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).....	116
Figura 26 -	Dados individuais para o volume de distribuição da vancomicina (n=22). ■ Valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).....	117
Figura 28 -	Dados individuais para as constantes farmacocinéticas do imipenem (n=12). ■ valores recomendados: faixa de referência (Buckel et. al.,	

1992).....	120
Figura 29 - Estudo de correlação linear entre a depuração plasmática dos antimicrobianos e o <i>clearance</i> de creatinina.....	123
Figura 30- Estudo de correlação entre o volume aparente de distribuição do imipenem (L/kg) e a reposição de fluidos, normalizada com o índice de massa corpórea (IMC: kg/m ²) no paciente queimado.....	124
Figura 31- Modelo ajustado no estudo de correlação do volume de distribuição (L/kg) do imipenem e a reposição de fluidos realizada nos pacientes queimados no intervalo de dose (mL/6 horas). <i>Stagraphics for windows versão 5.1, Stagraphics Software Corporation Virginia, USA: média +/- 1 DP (IC95%)</i>	125
Figura 32 - Curvas de decaimento plasmático da vancomicina no decurso de tempo, após desbridamento e enxerto, valores médios/desvio padrão da média; CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 µg/mL, Lundstrom (2004).....	154
Figura 33- Transformação logarítmica das concentrações plasmáticas da vancomicina após desbridamento e após enxerto, valores médios.....	155
Figura 34 - Concentração no vale da vancomicina em pacientes avaliados pós desbridamento e enxerto. Valores individuais e valores expressos em média e mediana. CME: concentração mínima eficaz (CME 5 µg/mL).....	156
Figura 35 - Acumulo da Vancomicina, os dados populacionais expressos pela razão vale/pico, media/DP.....	156
Figura 36 - Acumulo da vancomicina após desbridamento: fator da retenção ($e^{-k_{el.\tau}}$) <i>versus</i> razão vale/pico; correlação linear ($R>0.95$).....	157
Figura 37 - Acumulo da vancomicina após enxerto: fator da retenção ($e^{-k_{el.\tau}}$) <i>versus</i> razão vale/pico; correlação linear	157
Figura 38 - Desbridamento seguido pelo enxerto em pacientes queimados. Os dados cinéticos foram expressos como medianas. A sombra representa a faixa de referência para cada parâmetro cinético. (LEADER; CHANDLER; CASTIGLIA,1995).....	161
Figura 39 - Constante de eliminação da vancomicina. Valores individuais, valores expressos em média, mediana e valores de referência/ mínimo e máximo. FR: faixa de referência.....	162
Figura 40 - Razão da constante de eliminação enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.....	163

Figura 41 - Meia-vida biológica da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.....	164
Figura 42 - Razão da meia vida biológica enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.....	165
Figura 43 - Depuração plasmática da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.....	166
Figura 44 - Razão da depuração plasmática enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.....	167
Figura 45 - Volume de distribuição da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.....	168
Figura 46 - Razão do volume de distribuição enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.....	169
Fluxograma 1 - Quantificação de cefepime, vancomicina e imipenem plasmáticos através de análise simultânea por CLAE-UV.....	48
Esquema 1 - Curva de decaimento $C \times t$ – Modelo Monocompartimental.....	147

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Distribuição percentual da superfície corporal queimada.....	12
Quadro 2 -	Critérios para diferenciar grandes queimados.....	17
Quadro 3 -	Características dos pacientes do Grupo A, dados individuais,(n = 10)...	85
Quadro 4 -	Características dos pacientes do Grupo B, dados individuais, (n = 12).	85
Quadro 5 -	Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados no Grupo A, (n=10).....	86
Quadro 6 -	Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados no Grupo B, (n=12).....	87
Quadro 7 -	Regime de dose recomendado para administração dos antimicrobianos vancomicina, cefepime e imipenem no controle da sepse. Micromedex, 2006.....	88
Quadro 8 -	Parâmetros farmacocinéticos, definições, unidades e equações.....	90
Quadro 9 -	Características dos pacientes avaliados no estudo da vancomicina nos períodos pós-desbridamento e pós-enxerto, dados individuais, (n = 9)..	143
Quadro 10 -	Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados, dados individuais, (n=9).....	144
Quadro 11-	Regime de dose recomendado para administração dos antimicrobianos vancomicina, cefepime e imipenem no controle da sepse. Micromedex, 2006.....	145
Quadro 12 -	Definições, representação, equações e unidades dos parâmetros farmacocinéticos.....	148

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

Tabela 1.1 - Fármacos prescritos em associação com vancomicina, imipenem e cefepime, Estudo da especificidade do método analítico por CLAE-UV.	58
Tabela 1.2 - Limites de quantificação e detecção.....	59
Tabela 1.3 - Linearidade.....	60
Tabela 1.4 - Precisão e exatidão dos antimicrobianos intra e inter-dias.....	63
Tabela 1.5 - Recuperação absoluta e relativa do cefepime.....	64
Tabela 1.6 - Recuperação absoluta e relativa da vancomicina.....	64
Tabela 1.7 - Recuperação absoluta e relativa do imipenem.....	65
Tabela 1.8 - Estabilidade dos antimicrobianos após três ciclos de congelamento (n=3).....	66
Tabela 1.9 - Estabilidade de curta e longa duração agentes antimicrobianos em plasma determinados através de CLAE-UV (n=3).....	67
Tabela 1.10 - Robustez do método analítico.....	68

CAPITULO 2

Tabela 2.1 - Caracterização da população de pacientes queimados investigados no Grupo A.....	92
Tabela 2.2 - Caracterização da população de pacientes queimados investigados no Grupo B.....	93
Tabela 2.3 - Dados antropométricos comparados entre os Grupos A e B, médias/DP.	93
Tabela 2.4 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados no Grupo A.....	94
Tabela 2.5 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados no Grupo B.....	94
Tabela 2.6 - Parâmetros laboratoriais albumina e creatinina séricas e <i>clearance</i> da creatinina Comparação entre os grupos A e B, médias/DP.....	95
Tabela 2.7 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, Grupo A (n = 10).....	96

Tabela 2.8 - Concentrações plasmáticas de cefepime, Grupo A (n = 10).....	96
Tabela 2.9 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, Grupo B (n = 12).....	97
Tabela 2.10 - Concentrações plasmáticas de imipenem, Grupo B (n = 12).....	97
Tabela 2.11 - Avaliação comparativa das concentrações plasmáticas da vancomicina, em dois grupos de pacientes queimados no mesmo regime de dose, em associação ao cefepime (Grupo A) ou ao imipenem (Grupo B), médias.	104
Tabela 2.12 - Parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (Grupo A), n=10.....	110
Tabela 2.13 - Parâmetros farmacocinéticos do cefepime (Grupo A), n=10.....	111
Tabela 2.14 - Parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (Grupo B), n=12.....	112
Tabela 2.15 - Parâmetros farmacocinéticos do imipenem (Grupo B), n=12.....	112
Tabela 2.16 - Disposição cinética comparativa da vancomicina: Grupo A e Grupo B, medianas (intervalo de confiança IC95%). Teste de Mann Whitney.....	113
Tabela 2.17 - Variabilidade dos parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (n = 22).....	114
Tabela 2.18 - Variabilidade da farmacocinética do cefepime Grupo A (n = 10).....	118
Tabela 2.19 - Variabilidade da farmacocinética do imipenem Grupo B (n = 12).....	119
Tabela 2.20 - Estudo de correlação linear entre superfície corporal queimada ou concentração de vale e os parâmetros farmacocinéticos da vancomicina, cefepime e imipenem em pacientes queimados.....	122

CAPITULO 3

Tabela 3.1 - Caracterização a população de pacientes queimados investigados após o procedimento cirúrgico de desbridamento seguido de enxerto (n = 9).....	150
Tabela 3.2 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados (n=9).....	151
Tabela 3.3 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, período pós-desbridamento (n = 9).....	152
Tabela 3.4 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, período pós-enxerto (n = 9).....	152
Tabela 3.5 - Monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina, após as cirurgias de desbridamento e de enxerto, valores populacionais (n= 9).....	153

Tabela 3.6 - Parâmetros farmacocinéticos após cirurgia de desbridamento.....	158
Tabela 3.7 - Parâmetros farmacocinéticos após cirurgia de enxerto.....	159
Tabela 3.8 - Disposição cinética da vancomicina em pacientes queimados após cirurgia de desbridamento versus enxerto, n= 9; medianas (intervalo de confiança IC95%).....	160
Tabela 3.9 - Correlação linear entre os parâmetros estimados para a vancomicina em pacientes queimados pós-desbridamento e pós-enxerto, n= 9, Teste de Spearman.....	170

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

μL	Microlitros
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
C	Concentração plasmática
CME	Concentração mínima efetiva
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CL_{CR}	Clearance de creatinina
CL_{T}	Clearance total
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CQ	Controle de qualidade
CQA	Controle de qualidade alto
CQB	Controle de qualidade baixo
CQM	Controle de qualidade médio
Cr	Creatinina
CV	Coefficiente de variação
Da	Daltons
dL	Decilitro
DP	Desvio padrão
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FDA	Food drug administration
g	Gramma
h	Hora
IMC	Índice de massa corporal
Kg	Kilograma
LD	Limite de detecção
Ln	Logaritmo natural
LQ	Limite de quantificação
LI IC95%	Limite inferior do intervalo de confiança 95%

LS IC95%	Limite superior do intervalo de confiança 95%
M	Masculino
m	Metro
m ²	Metro quadrado
mg	Miligramas
Min	Minuto
mL	Mililitros
MOPS	Ácido 3-(N-morfolino) propano-sulfônico
MS	Ministério da Saúde
N ₂	Nitrogênio
NAP	Não aplicável
ND	Não detectado
PI	Padrão interno
RA	Razão da área
RDC	Resolução
Rpm	Revoluções por minuto
Salb	Albumina sérica
SC	Superfície corporal
SCQ	Superfície corporal queimada
Scr	Creatinina sérica
SEM	Erro padrão da media
T	Tempo
T _(1/2β)	Meia-vida biológica
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UTI	Unidade de terapia intensiva
UV	Ultravioleta
Vd	Volume Aparente de Distribuição
V _{máx}	Valor maximo
V _{mín}	Valor mínimo

RESUMO

VERA LÓPEZ, K. J. **Monitoramento Terapêutico e Modelagem Farmacocinética de Antimicrobianos em Pacientes Queimados da Unidade de Terapia intensiva.** 2009. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009

A sepse após a injúria térmica é a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes queimados, uma vez que profundas alterações ocorrem na farmacocinética de agentes antimicrobianos. Investigaram-se trinta e um pacientes, portadores de sepse documentada e apresentando lesões ativas; utilizou-se o tratamento empírico conforme seguem os regimes de dose: 1 g, 12/12 h para a vancomicina, 1 g, 6/6 h para o imipenem e 2 g, 8/8 h para o cefepime. Sete coletas seriadas de sangue foram realizadas através de cateter venoso (2 mL/cada); o plasma foi obtido pela centrifugação e armazenado no congelador (-80° C) até o ensaio. A concentração plasmática dos antimicrobianos foi determinada simultaneamente pela aplicação do método bioanalítico desenvolvido no estudo. O método de cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou boa linearidade, precisão e exatidão para a determinação simultânea da vancomicina, cefepime e imipenem plasmáticos; a aplicação desse método bioanalítico permitiu o monitoramento plasmático terapêutico e o estudo farmacocinético. Com base nos resultados obtidos de concentração plasmática *versus* tempo, aplicou-se a modelagem para investigar a farmacocinética desses agentes antimicrobianos nos pacientes queimados. Os parâmetros cinéticos foram estimados com base no modelo aberto de um compartimento pela aplicação do programa *PK Solutions* v. 2.0; a estatística foi realizada pela utilização do programa *GraphPad Prism* v. 4.0. Com base na farmacocinética alterada, as concentrações obtidas para a vancomicina e imipenem se mostraram abaixo dos valores recomendados para atingir eficácia; por outro lado, as concentrações obtidas para o cefepime se mostraram dentro da faixa recomendada para atingir eficácia, uma vez que não se registrou alteração da farmacocinética deste antimicrobiano nos pacientes queimados. Desta forma, o monitoramento plasmático terapêutico se mostrou importante, permitindo o ajuste de dose para a vancomicina e para o imipenem, uma vez que a concentração mínima efetiva (CME) não foi atingida para ambos pela utilização do regime de dose empírica nos pacientes queimados. Por outro lado, o monitoramento do cefepime plasmático também se mostrou de relevância, uma vez que os pacientes queimados com longa permanência na terapia intensiva podem apresentar disfunção renal em alguma fase da internação; consequentemente, a individualização de dose será recomendada para esses pacientes. Adicionalmente, investigou-se a disposição cinética da vancomicina em nove pacientes queimados após duas diferentes intervenções cirúrgicas. Comparou-se a farmacocinética da vancomicina pós-desbridamento *versus* pos-enxerto com base no monitoramento plasmático após o regime de dose empírica (1 g, 12/12 h). Após múltiplas infusões, o vale da vancomicina plasmática foi obtido pela coleta de sangue imediatamente antes da infusão subsequente e está relacionado ao acúmulo no estado de equilíbrio. Em consequência da depuração aumentada e

meia-vida biológica reduzida pós-desbridamento comparado ao pós-enxerto, registrou-se para a vancomicina vale abaixo da concentração efetiva mínima nos pacientes queimados.

Finalmente, os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a farmacocinética da vancomicina e do imipenem está alterada nos pacientes queimados com sepse, e recomenda-se o monitoramento das concentrações plasmáticas para garantir a eficácia de forma a prevenir a emergência bacteriana.

Palavras-chaves: Vancomicina. Cefepime. Imipenem. Queimados. Monitoramento terapêutico. Farmacocinética, Desbridamento, Enxerto, Cromatografia líquida.

ABSTRACT

VERA LÓPEZ, K. J. **Therapeutic Drug Monitoring and Pharmacokinetics of antimicrobial agents in burn patients from the Intensive Care Unit. 2009** (PhD Student)- Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2009

Sepsis after thermal injury is the major cause of morbidity and mortality in burn patients, once deep changes on the pharmacokinetics of antimicrobials agents are expected. Thirty one burn patients were investigated, all of them had documented sepsis and presented active lesions; they were treated with empirical dose regimen as follows: 1 g, 12/12 h for vancomycin, 1 g, 6/6 h for imipenem and 2 g, 8/8 h for cefepime. A serial of seven blood samples were collected from the venous catheter (2 mL/each); plasma was obtained by centrifugation and stored in an ultra-low freezer (-80° C) until assay. Drug plasma concentration was determined simultaneously by application of a bioanalytical method described previously. High performance liquid chromatographic method showed good linearity, precision and accuracy for vancomycin, cefepime and imipenem plasma measurements; its application permitted therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. Pharmacokinetic modeling was applied to data obtained based on drug plasma concentrations *versus* time, to investigate those antimicrobial agents in burn patients. Estimated kinetic parameters were based on the one compartment open model by application the software PK Solutions v. 2.0; statistics was performed by using the software GraphPad Prism v. 4.0. Based on altered pharmacokinetics, obtained plasma concentrations to reach drug efficacy were below the recommended values for vancomycin and imipenem; on the other hand, cefepime plasma concentrations to reach drug efficacy were in the recommended range, once its pharmacokinetics didn't change in burn patients. Then, therapeutic plasma monitoring was cost-effective permitting dose adjustment for vancomycin and imipenem, once the minimum effective concentration (MEC) wasn't reached for both antimicrobial agents by using the empirical dose regimen for burn patients. On the other hand, cefepime plasma monitoring was also cost-effective, since burn patients long term therapy can present renal dysfunction at the minimum one period in the intensive care unit; consequently, dose adjustment could be required for them. Additionally, vancomycin kinetic disposition was investigated in nine burn patients after two different surgical interventions. Vancomycin pharmacokinetics post-debridement *versus* post-skin grafting procedure was compared based on drug plasma monitoring by using the empirical dose regimen (1 g, 12/12 h). Trough vancomycin plasma level after multiple infusions, obtained by blood collection before de next dose, is related to drug accumulation at the steady state level; then, trough below the minimum effective concentration (MEC) were obtained after both surgical procedures performed in burn patients. Meanwhile, increased plasma clearance and reduced biological half-life were obtained after debridement compared skin grafting procedure.

Finally, data obtained in the present study permit to conclude that the pharmacokinetics is altered for vancomycin and imipenem in burn patients with sepsis, and drug plasma monitoring is recommended to guarantee drug efficacy and to prevent the bacterial emergency.

Key-words: Vancomycin. Cefepime. Imipenem. Burn patients. Drug plasma monitoring. Pharmacokinetics. Debridment. Liquid chromatography.

INTRODUÇÃO

O grande número de agentes antimicrobianos disponíveis no arsenal terapêutico torna difícil a escolha do fármaco mais apropriado para o controle da infecção. Embora as substâncias com potencial antimicrobiano sejam usadas de forma empírica desde longa data, o estabelecimento da terapia antimicrobiana individualizada com base científica é ainda um desafio de grande importância na Medicina moderna. Nas últimas décadas, tornou-se possível a melhor compreensão dos processos de transferência de fármacos com base na aplicação de programas específicos de farmacocinética, que muito contribuíram para a administração mais rigorosa desses agentes (ALVARES-LERMA et al., 2008).

Na escolha do fármaco apropriado para a terapia antimicrobiana, devem ser considerados os fatores relacionados ao paciente e ao organismo infectante. A otimização da terapia com determinado antimicrobiano depende da racionalidade do regime posológico, e subsequentemente da medida de eficácia ou da toxicidade para agentes de baixo índice e estreita faixa terapêutica mediante do acompanhamento estratégico do controle terapêutico (BAKKER-WOUDENBERG; ROOSEDAAL, 1998; MATTIE; CRAIG; PECHERE, 1989, RIBACK et al., 2009). A eficácia dos beta-lactâmicos que atuam sobre os microorganismos gram-negativos dependem da manutenção da concentração plasmática acima da concentração mínima inibitória (CIM), não estando relacionada à elevada concentração no pico. Por outro lado, a eficácia dos aminoglicosídeos depende dos níveis plasmáticos alcançados no pico e do parâmetro área sob a curva, uma vez que maior toxicidade foi reportada quando administrados através da infusão contínua ao invés de infusão rápida (FRIMOD-MOLLER, 2002).

No estabelecimento de regimes posológicos racionais, diferentes métodos foram desenvolvidos pela utilização de nomogramas e aplicação de programas farmacocinéticos (HALLYNCK; SOEP; DETTLI, 1981, WALLACE; JONES; BERTINO, J.S., 2002). Entretanto, estes métodos se mostraram limitados, uma vez que estão baseados na farmacocinética populacional. O estabelecimento de regime posológico individualizado para determinado paciente exige que esse programa seja alimentado com dados individuais tais como idade, sexo, peso, altura e creatinina sérica desse paciente. Desta forma, tanto os nomogramas quanto os programas farmacocinéticos desconsideram os fatores fisiopatológicos, relacionados ao paciente, que podem alterar profundamente os compartimentos fluidos e a eliminação do fármaco (ZASKE et al., 1982). Por outro lado, Sheiner e Beal (1982) propuseram programa com base na estatística bayesiana; neste programa plotam-se os dados de concentração plasmática obtida para o fármaco, em determinado paciente que recebeu o regime de dose usual, num gráfico populacional de

distribuição de frequência. Quando os dados do paciente (dose empírica) são inseridos no programa, será estimada a nova dose e/ou o intervalo de dose requerida para alcançar as concentrações desejadas.

Nos estudos clínicos fase 1, o perfil farmacocinético é obtido, para a molécula potencial a ser registrada, a partir de voluntários saudáveis. Entretanto, os pacientes que se encontram com saúde debilitada na prática clínica, já apresentam na maioria das vezes absorção reduzida, disfunção renal e/ou hepática, taxa alterada de ligação às proteínas plasmáticas (fração do fármaco livre está diminuída ou aumentada) e volume anormal de fluido extracelular (ascite, edema, desidratação, gravidez).

A disfunção renal, rotineiramente enfrentada na Clínica, registra nesses casos a redução da eliminação do fármaco; por outro lado, mais complexa é a alteração no volume aparente de distribuição que de forma geral não é previsível. Nos pacientes com ascite ou fibrose cística, para alguns antimicrobianos, o volume de fluido extracelular aumentado poderia justificar o acréscimo no volume aparente de distribuição frente a indivíduos normais (DE GROOT; SMITH, 1987; PRANDOLA, 1988).

Além disso, reportou-se anteriormente, aumento na depuração plasmática e do volume da distribuição para a ceftazidima nos pacientes com fibrose cística comparados a voluntários saudáveis (MOUTON et al., 1990). Então, a dose requerida para garantir o sucesso terapêutico pode variar de paciente para paciente, e dependerá ainda de fatores relacionados à doença e ao estágio da mesma (MANN, 1985; HORREVORST, 1985). Conseqüentemente, a utilização das concentrações plasmáticas do fármaco seria a melhor estratégia para ajustar o regime de dose em substituição ao empírico usual, de forma a se obter melhor resultado clínico (HORREVORTS, 1987; WINNIE, 1991).

Deve se considerar ainda o paciente queimado que recebe inúmeros antimicrobianos para o controle da infecção nosocomial durante o período relativamente longo de internação na unidade de terapia intensiva. Segundo a organização mundial da saúde (OMS-1998) documentaram-se 282.000 óbitos decorrentes de queimaduras, sendo que 96% dos casos ocorreram nos países em desenvolvimento. Estima-se que no Brasil ocorram em torno de 1 milhão de acidentes de queimaduras por ano, sendo que 100 mil pacientes procuram atendimento hospitalar, e desses, cerca de 2.500 pacientes vão a óbito em decorrência direta ou indireta das lesões (GOMES; SERRA; MACEIRA, 2001).

A queimadura é uma das condições mais devastadoras relatadas na Medicina. A lesão representa uma agressão física e psicológica ao paciente, afetando todas as idades, de crianças a pessoas idosas, sendo ainda um problema que ocorre tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2004).

A sepse é considerada a maior causa de morbiletalidade no paciente queimado. Inúmeros fatores contribuem para o desenvolvimento da sepse no paciente queimado, tais como a disfunção do sistema imune, o aumento bacteriano na pele, o deslocamento das bactérias gastrintestinais somados ainda à hospitalização prolongada, extenso número de procedimentos realizados durante a terapia intensiva, e à dificuldade de acesso venoso. Nestes pacientes, a incidência de sepse é muito maior quando comparada a outras formas de trauma devido à destruição extensiva da barreira da pele, imunidade humoral e celular diminuídas (BJERKNES, 1990; MILESKI, 1992; NGUYE, 1996).

Os microorganismos mais comumente reportados como causadores das infecções nas unidades de queimados são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococci coagulasa-negativa*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. (SOARES DE MACEDO; SANTOS, 2006). O tratamento da infecção nos pacientes queimados tem o objetivo estimular o sistema imunológico do paciente e prevenir a proliferação bacteriana da ferida queimada (GOMES, 1995). Uma das principais finalidades do tratamento da injúria térmica é a restauração dos tecidos lesados, que tanto poderão cicatrizar espontaneamente como necessitar de cirurgias de desbridamento e enxerto (SERRA; GOMES; CRISOSTOMO, 2006).

A administração sistêmica de agentes antimicrobianos é o suporte principal do tratamento de complicações infecciosas no paciente queimado. Após a injúria térmica, o organismo tem seus sistemas e órgãos afetados por mudanças fisiopatológicas dinâmicas e por isso deve-se esperar uma alteração profunda na farmacocinética dos antimicrobianos de administração sistêmica. Atualmente, o tratamento nestes pacientes ainda é empírico, pois as alterações da farmacocinética são imprevisíveis principalmente naqueles em estado crítico; para se manter as concentrações adequadas no intervalo entre doses há necessidade de terapia dose ajustada (BOUCHER et al., 1992; BLANCHET, 2008).

A literatura é escassa relativamente ao monitoramento dos níveis plasmáticos de fármacos tais como analgésicos, anestésicos e principalmente antimicrobianos em pacientes queimados. Adicionalmente, o número reduzido de estudos farmacocinéticos reportado no controle das infecções nosocomiais não permite a previsão de regime posológico adequado para os pacientes queimados (WEINBREN, 1999).

O presente estudo tem por objetivo:

- Desenvolver, otimizar e validar metodologia analítica em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) para determinação simultânea de vancomicina, cefepime e imipenem no plasma.
- Realizar o monitoramento terapêutico e a modelagem farmacocinética da vancomicina cefepime e imipenem em pacientes queimados.
- Realizar o monitoramento terapêutico e a modelagem farmacocinética da vancomicina após os procedimentos de desbridamento *versus* enxerto

1. QUEIMADURA

As queimaduras são feridas traumáticas, causadas na maioria das vezes, por agentes térmicos, químicos ou elétricos, que atuam nos tecidos de revestimento do corpo humano, determinando destruição parcial ou total da pele e de seus anexos, podendo atingir camadas mais profundas como, tecido celular subcutâneo, músculos, tendões e ossos. A queimadura compromete a integridade funcional da pele, responsável pela homeostase hidroelétrica, controle da temperatura interna, flexibilidade e lubrificação da superfície corporal. Portanto, a magnitude do comprometimento dessas funções depende da extensão e profundidade da queimadura (VALE, 2005).

Dependendo da gravidade do trauma, a ferida produzida pela queimadura pode apresentar uma grande área de tecido desvitalizado, que é rapidamente colonizada por bactérias e que poderia levar algum tempo para cicatrizar. A manifestação clínica de uma lesão térmica pode variar desde uma pequena bolha (flictema) até formas mais graves, capazes de desencadear um grande número de respostas sistêmicas proporcionais à extensão e profundidade destas lesões (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2001; VALE, 2005).

1.1 FISIOPATOLOGIA

Para uma correta abordagem terapêutica do paciente queimado é de fundamental importância o conhecimento do processo fisiopatológico do trauma térmico, para entender a rapidez de todo esse processo e suas diferentes etapas.

A queimadura é um trauma dinâmico, que pode acometer todos os órgãos, com extensão de duração das disfunções orgânicas proporcionais à extensão da lesão. Nas queimaduras pequenas, existe uma reação unicamente local, enquanto nas queimaduras moderadas e graves, ocorre uma exuberante reação local, acompanhada de severas repercussões sistêmicas.

1.1.1 RESPOSTA HEMODINÂMICA

O trauma térmico leva à exposição do colágeno no tecido afetado e, conseqüentemente, ativação e liberação de histamina pelos mastócitos. A histamina provoca o aumento da permeabilidade capilar, que por sua vez, permite a passagem de um filtrado plasmático para o interstício dos tecidos afetados, provocando, por um lado, importante edema tecidual e, por outro, significativa hipovolemia (WARD; FRIELD, 1989).

O sistema caliceína ativado produz cininas que colaboram mais ainda para a permeabilidade capilar, agravando o edema tecidual e a hipovolemia. As cininas e a exposição do colágeno ativam o sistema fosfolipase-ácido aracdônico, responsável pela liberação de prostaglandinas, dentre estas, a prostaciclina (PG2). A PG2 atua aumentando a permeabilidade capilar agravando, por conseqüência, o edema tecidual e a hipovolemia (KRIZEK; ZIMMERMAN, 1984).

Outra via alterada pela injúria térmica é a do tromboxano que, juntamente à plasmina e trombina circulante, provocam um depósito nas paredes dos capilares. Tal depósito ocasiona aumento da pressão hidrostática de até 250% que contribui ainda mais para o edema tecidual (ROBSON; HEGGERS, 1985).

O aumento da permeabilidade capilar foi bem documentado em vários trabalhos ao longo dos anos. Esse aumento é passageiro, permanecendo em média de 18 a 24 horas. Tem seu início minutos após a queimadura, atingindo o pico máximo em oito horas e regredindo progressivamente até voltar ao normal. O aumento da permeabilidade capilar decorrente da queimadura permite a passagem, através de poros muito aumentados, soluções colóides e colóides. Conseqüentemente, há importante edema dos tecidos afetados (KRIZEK; ZIMMERMAN, 1984).

1.1.2 RESPOSTA DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

As marcantes alterações imunológicas que ocorrem no paciente queimado fazem com que as queimaduras não sejam consideradas unicamente uma lesão localizada, pois trazem consigo repercussões sistêmicas, o paciente vai apresentar um quadro de imunodeficiência

secundária; que poderá ser agravado por inúmeros fatores, como idade, localização, extensão, profundidade das lesões e condições nutricionais (MUNSTER, 1985)

A lesão térmica gera primeiramente uma perda da integridade da pele ou mucosa, que funciona como barreira mecânica aos microorganismos. A capacidade fagocitária e à atividade bactericida dos neutrófilos diminuem, estes fatos têm sido relacionados com o aumento da frequência das infecções nos pacientes queimados (VAN DIJK, 1982).

O sistema de complemento é ativado, e se encontram concentrações diminuídas de C3A e C5A, os quais são de importância na defesa do hospedeiro, pela sua capacidade de produzir um processo inflamatório com quimiotaxia celular, opsonização e estímulos positivos às células fagocitárias, capazes de destruir o agente invasor (GALLINARIO, 1992).

Além disso, na imunidade celular, as principais alterações são a diminuição da resposta proliferativa, com alterações das proporções entre as células T helper e T supressores (MUNSTER, 1984).

1.1.3 ALTERAÇÕES METABÓLICAS

A fase imediata ao trauma térmico é caracterizada pelo hipometabolismo, seguida de diminuição do débito cardíaco, choque hipovolêmico grave e diminuição do consumo de oxigênio. Porém, com a compensação rápida do choque hipovolêmico e o retorno do equilíbrio hemodinâmico, ocorre rápida virada do estado metabólico com a instalação de um intenso e duradouro quadro de hipermetabolismo (BURDGE, 1987).

Os pacientes queimados apresentam importante dispêndio calórico e intenso catabolismo, o que leva estes pacientes a uma exuberante resposta endócrino-metabólica, acarretando, em um curto espaço de tempo, estados de desnutrição, imunossupressão e sepse (BURDGE, 1987).

1.2 CLASSIFICAÇÃO

As queimaduras são classificadas de acordo com o agente físico, a área total de superfície corporal queimada (SCQ) e com a profundidade da queimadura

1.2.1 AGENTE FÍSICO

Dependendo do agente físico, as queimaduras podem ser classificadas em queimaduras térmicas, elétricas ou químicas (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2001; VALE, 2005).

Queimaduras térmicas são as mais frequentes, e são causadas pela chama de fogo, contato com água fervente ou outros líquidos quentes, e/u contato com objetos aquecidos (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2001).

A queimadura elétrica resulta da passagem da corrente elétrica pelo corpo de um ponto a outro, criando pontos de "entrada" e "saída" e é a causa de 3 a 4% das admissões em unidade de atendimento a queimados (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2001; VALE, 2005). A queimadura pode ser causada por baixa voltagem (corrente alternada) ou alta voltagem (corrente direta). Normalmente a queimadura elétrica é mais séria do que aparenta. Ao atravessar o corpo, a corrente elétrica destrói músculos, nervos e vasos sanguíneos. Pode resultar em profundas alterações do balanço ácido-base e produção de mioglobínúria, acarretando sérias alterações da função renal, o que pode ser observada pela alteração da urina, que se apresenta com a coloração avermelhada ou cor de “Coca-Cola” (GOMES; CABRAL, 1995).

Queimaduras químicas são usualmente causadas pelo contato da vítima com agentes como o ácido sulfúrico ou nítrico, soda cáustica e amônia anidra. Geralmente, os agentes alcalinos penetram rápida e profundamente no organismo, ocasionando lesões mais graves que as causadas por ácidos (GOMES; CABRAL, 1995). Embora as queimaduras químicas sejam geralmente resultado de acidentes de trabalho, também podem ocorrer com os produtos químicos domésticos (HETTIARATCHY; DZIEWULSKI, 2001; VALE, 2005).

1.2.2 SUPERFÍCIE CORPORAL QUEIMADA (SCQ)

A área da superfície corporal afetada num evento de queimadura é determinada, em valores percentuais, dependendo da região do corpo afetada. O cálculo é relativamente simples sendo utilizada para sua determinação o esquema de Lund-Browder, demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Distribuição percentual da superfície corporal queimada

REGIÃO CORPORAL	IDADE ANOS					
	0	1	5	10	15	Adultos
Cabeça	19	17	13	11	9	7
Pescoço	2	2	2	2	2	2
Tronco anterior	13	13	13	13	13	13
Tronco posterior	13	13	13	13	13	13
Nádega esquerda	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Nádega direita	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Genitais	1	1	1	1	1	1
Braço esquerdo	4	4	4	4	4	4
Braço direito	4	4	4	4	4	4
Antebraço esquerdo	3	3	3	3	3	3
Antebraço direito	3	3	3	3	3	3
Mão esquerda	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Mão direita	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Coxa esquerda	5,5	6,5	8	8,5	9	9,5
Coxa direita	5,5	6,5	8	8,5	9	9,5
Perna esquerda	5	5	5,5	6	6,5	7
Perna direita	5	5	5,5	6	6,5	7
Pé esquerdo	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Pé direito	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5

(Fonte: Lund CC, Browder NC, 1994.)

A superfície corporal queimada também pode ser calculada com base na Regra dos Nove. Essa regra imputa valor igual a nove ou múltiplos de nove às partes do corpo atingidas; nove para cada membro superior, nove para a cabeça, 18% para cada membro inferior, 18% para cada região do tronco (anterior e posterior) e 1% genitária. Figura 1. Considerando que a regra dos nove prediz com precisão a área envolvida em adultos, até mesmo uma versão modificada parece subestimar a extensão da lesão queimadura em crianças, Figura 2.

Figura 1 - Regra dos nove para a determinação da superfície corpórea queimada em adultos.
(Fonte: MacLennan: *Anesthesiology*, Volume 89(3). September 1998.749-770)

Área (%)	Idade (anos)				
	0	1	5	10	15
A metade da cabeça	9 1/2	8 1/2	6 1/2	5 1/2	4 1/2
B metade da coxa	2 3/4	3 1/4	4	4 1/4	4 1/2
C metade da perna	2 1/2	2 1/2	2 3/4	3	3 3/4

Figura 2 - Diagrama e tabela para a determinação da superfície corpórea queimada em crianças.
(Fonte: MacLennan: *Anesthesiology*, Volume 89(3). September 1998.749-770)

1.2.3 PROFUNDIDADE DA QUEIMADURA

Determinar o grau da queimadura significa determinar a profundidade do trauma térmico na pele. A correta determinação do grau de queimadura não é simples, o correto diagnóstico da profundidade só poderá ser feito através do estudo histopatológico (biópsia) (HEIMBACH et al., 1992).

A maior dificuldade está na diferenciação entre queimadura de segundo grau profundo e lesão de terceiro grau. Durante a própria evolução da queimadura, uma infecção ou uma grave instabilidade hemodinâmica pode provocar aprofundamento da lesão, ou seja, uma queimadura de segundo grau superficial pode evoluir para segundo grau profundo ou terceiro grau. Em decorrência disso, não se pode ser categórico sobre o grau da queimadura em uma primeira avaliação, sendo de suma importância a reavaliação do paciente decorridas 48-72 horas da lesão. As queimaduras são classificadas em três graus, de acordo com sua profundidade, conforme descrito a seguir por Parment, Lymm, e Glass (2003); Vale (2005).

- **Queimadura de Primeiro Grau** - Considera-se lesão de primeiro grau, a queimadura superficial, que atinge a camada mais externa da pele a epiderme. Esse tipo de queimadura não provoca alterações hemodinâmicas, nem tampouco é acompanhada de alterações clínicas significativas. Caracteriza-se por ser uma queimadura não exudativa, apresenta eritema, calor e dor, mas que regride em poucos dias sem deixar cicatrizes. Exemplo de lesões de primeiro grau são os eritemas provocados pelos raios solares, Figura 3.

Figura 3 - Queimadura de primeiro grau
(Fonte: www.adam.sertaoggi.com.br)

- **Queimadura de Segundo Grau** – considera-se queimadura de segundo grau aquela mais profunda que compromete totalmente a epiderme e parcialmente a derme. Apresenta eritema, edema, bolhas, erosão ou ulceração e é muito dolorosa, por que há a exposição das raízes nervosas que foram atingidas. O reconhecimento de lesão de segundo grau é simples, pois a característica clínica mais marcante é a formação das bolhas ou flictenas. Neste tipo de queimadura há regeneração espontânea dos tecidos e cicatrização lenta, entretanto, em alguns casos pode haver seqüelas estéticas. Como exemplo de queimadura de segundo grau estão as flictenas decorrentes de uma escaldadura ou lesão térmica causada por líquido superaquecido, Figura 4.

Figura 4 - Queimadura de segundo grau
(Fonte: www.adam.sertaoggi.com.br)

- **Queimadura de Terceiro Grau** – é aquela que acomete a totalidade das camadas da pele (epiderme e derme) e em muitos casos outros tecidos, tais como tecido celular subcutâneo, músculos, tendões, ligamentos e tecido ósseo. Muitos autores, por essa razão, referem-se às lesões de terceiro grau como sendo de espessura total. Estas queimaduras apresentam um aspecto esbranquiçado ou marmóreo; há redução da elasticidade tecidual, tornando-se rígida, os tecidos ficam negros e sem vida, devido à necrose, os pacientes não sentem dor em função de a queimadura ter atingido as terminações nervosas responsáveis pela sensibilidade à dor. É a mais grave de todas as lesões térmicas, provocando lesões deformantes, não restando tecido cutâneo capaz de se regenerar, necessitando de enxertia para reparação da lesão. A queimadura de terceiro grau pode ser de causa elétrica ou térmica, como no caso de pacientes vítimas de acidentes automobilísticos seguidos de incêndios que ficam presos nas ferragens, Figura 5.

Figura 5. Queimadura de terceiro grau
(Fonte: www.adam.sertaoggi.com.br)

1.2.4 CLASSIFICAÇÃO PELA GRAVIDADE DA LESÃO (AMERICAN BURN ASSOCIATION, 2003):

- **Pequeno Queimado** – é o paciente com queimadura de segundo grau menor que 15% da superfície corporal queimada (10% em crianças), o com queimaduras de terceiro grau menores que 2% da SCQ (não envolvendo olhos, orelhas, face ou períneo).
- **Mediano Queimado** - é o paciente com queimaduras de segundo grau entre o 15-25% da superfície corporal queimada (10-20% em crianças), ou queimaduras de terceiro grau entre 2-10% da SCQ (não envolvendo olhos, orelhas, face ou períneo).
- **Grande Queimado** - é o paciente com queimadura de segundo grau maior que 25% da superfície corporal queimada (20% em criança); ou queimadura de terceiro grau maior que 10%. Grande queimadura em pacientes adultos (paciente grande queimado) é definida como a lesão térmica que justifica tratamento e cuidados intensivos de pelo menos três dias após a lesão. O Quadro 2, lista os critérios que podem ser usados para definir “Ao paciente grande queimado”

Quadro 2 - Critérios para diferenciar grandes queimados

Superfície corporal queimada >25% em adultos ou > 20% em extremos de idade
Total da espessura queimada >10%
Queimaduras envolvendo rosto e/ou pescoço
Queimaduras por inalação
Traumas associados
Pacientes queimados com sérias desordens médicas pré-existent

Fonte: MacLennan: *Anesthesiology*, Volume 89(3).September 1998.749-770

1.3 PROCEDIMENTOS CIRURGICOS NOS PACIENTES QUEIMADOS

1.3.1 DESBRIDAMENTO (BALLE, 1997)

Desbridamento é o processo de remoção de tecidos desvitalizados, necróticos e de corpos estranhos do leito da ferida. O objetivo do desbridamento é acelerar o processo de cicatrização. Feridas que contêm tecidos desvitalizados ou necróticos levam muito tempo para cicatrizar. O tecido necrótico pode esconder bolsas de pus chamadas abscessos, as quais podem culminar em infecções generalizadas, gerando amputações ou óbitos.

Técnicas de desbridamento:

1 – *Desbridamento cirúrgico*: é realizado pelo médico, que utiliza bisturis, tesouras ou outros instrumentos cortantes para remover o tecido desvitalizado da ferida. É um método rápido e eficiente, escolhido quando há suspeita de infecção generalizada. No entanto, se o tecido alvo está profundo ou perto de algum órgão o paciente pode sofrer extrema dor. Às vezes é necessário deixar algum tecido desvitalizado na ferida, sob o risco de atingir os tecidos viáveis. Neste caso, o processo deve ser repetido em outra sessão.

2 – *Desbridamento mecânico*: uma compressa umedecida com solução salina é deixada “overnight” sobre o leito da ferida, para aderir à escara. Quando a compressa é removida, o

tecido desvitalizado é juntamente removido. É um dos mais antigos métodos de desbridamento. É bastante doloroso e frequentemente não seletivo (retira tecidos viáveis também). Por esses motivos está em crescente desuso.

3 – *Desbridamento químico*: este método utiliza certas enzimas e outros componentes para dissolver a escara. É mais seletivo que o desbridamento mecânico, embora ainda haja certa remoção de tecidos viáveis.

4 – *Desbridamento autolítico*: aumenta a habilidade do corpo em dissolver a escara. Esta técnica consiste na manutenção do meio úmido, o que pode ser feito com a ajuda de uma série de curativos, que ajudam a reter à água na ferida.

1.3.2 ENXERTIA CUTÂNEA

Mesmo uma queimadura profunda pode curar espontaneamente quando a área atingida é pequena (menor que uma moeda) e é mantida meticulosamente limpa. Contudo, quando a derme subjacente é muito lesada, geralmente é necessária a realização de um enxerto de pele para cobrir a área queimada. Um enxerto de pele é uma fração de pele saudável retirada de áreas não queimadas do corpo da própria vítima (autoenxerto), de outra pessoa viva ou morta (aloenxerto) ou de outras espécies (xenoenxerto). Os autoenxertos são permanentes, mas os enxertos de pele de outras pessoas ou de animais são temporários, tendo a função de proteger a área lesada enquanto o organismo se recupera, sendo rejeitado pelo organismo aproximadamente 10 a 14 dias mais tarde (MACIEL; SERRA, 2006).

Durante a evolução da lesão térmica é observada acentuada proliferação dos tecidos vasculares (neovascularização) e migração de fibroblastos para a ferida. A migração de fibroblastos continua até ocorrer a epitelização ou enxertia (PELLON, 1995).

2. INFECCÕES

A infecção ainda é considerada a maior causa de morbimortalidade conhecida no paciente queimado que sobrevive à fase inicial do choque hipovolêmico. As queimaduras apresentam condições peculiares que favorecem o desenvolvimento de infecções, não só pelas alterações imunossupressoras desencadeadas no hospedeiro, como também pelas condições da ferida favoráveis ao crescimento bacteriano (SHARMA, et al., 2006; VINDENES; BJERKNES, 1995)

Estudos têm verificado que a sepse é a mais freqüente e grave complicação das queimaduras Macedo & Santos (2006), num estudo brasileiro reportaram que 31% dos pacientes queimados tiveram sepse o que é coerente com outro estudo no Brasil (SANTUCCI, 2003). Casos de queimaduras graves foram notificados como mais susceptíveis ao desenvolvimento de septicemia, Sharma e colaboradores (2006) reporta que 97% das vítimas apresentam um total de superfície corporal queimada > 30%, no entanto, isto não significa que os casos de queimaduras menores são imunes a este tipo de ocorrência.

A maioria das mortes é atribuída à sepse, sendo a escara a fonte mais freqüente de infecção, pois permite um crescimento bacteriano maciço. Uma ampla variedade de microorganismos pode colonizar a área queimada, proliferando na espessura da escara, progredindo em profundidade, invadindo o tecido viável subjacente e, assim iniciando os eventos fitopatológicos da infecção sistêmica (LEONARDO, 1991).

Apesar dos avanços no controle da infecção, como a detecção precoce de microorganismos e a utilização de novos antibióticos de amplo espectro, o manejo da infecção no queimado continua sendo um grande desafio. Nesse contexto, a septicemia permanece como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes queimados, permanecendo, ainda, como uma das preocupações mais importantes para a equipe clínica (BANG et al., 1998).

2.1. EVOLUÇÃO DA INFECCÃO

A sepse ocorre quando o equilíbrio entre hospedeiro e microorganismos é corrompido. A barreira cutânea normalmente impede a invasão de microorganismos, no entanto, a lesão

térmica destrói esta barreira tornando o ferimento a origem mais freqüente da sepse nos pacientes queimados. As bactérias Gram-positivas nas profundezas das glândulas de suor e folículos pilosos podem sobreviver ao prejuízo do calor inicial, e a menos que sejam usados agentes antimicrobianos tópicos, essas bactérias colonizam as feridas dentro das 48 horas após a lesão (JONES et al., 1990; NASSER et al., 2003).

A flora do paciente queimado proveniente da comunidade é constituída basicamente de bactérias gram-positivas, quando estes pacientes são internados em unidades hospitalares passam a adquirir bactérias da flora hospitalar, a qual é constituída principalmente por bactérias gram-negativas oportunistas que têm maior capacidade invasora (NASSER et al., 2003; PRUITT et al., 1998).

2.2. ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS LOCAIS QUE FAVORECEM O DESENVOLVIMENTO BACTERIANO

Após a injúria térmica, o exudato procedente da área queimada apresenta-se como um excelente meio de cultura para o desenvolvimento e proliferação bacteriana. A coagulação intravascular localizada na área queimada impedirá, não só, os antibióticos administrados via parenteral de atingir níveis terapêuticos nos tecidos lesados, mas também a chegada de mediadores inflamatórios do sistema imune (GOMES, 1995).

2.2.1 MECANISMO DE DEFESA DA PELE

A pele íntegra constitui a primeira linha de defesa contra a invasão do organismo por agentes bacterianos externos, ela representa uma barreira mecânica à penetração, sendo a sua camada queratinizada o seu ponto-chave. A renovação da pele promove uma descamação contínua das camadas mais externas do tegumento cutâneo, tal fato auxilia na eliminação de bactérias que porventura consigam penetrar nestas camadas. Somado a essa remoção física existe ainda a produção de ácidos graxos insaturados pela pele, que são considerados substâncias antibacterianas naturais que influenciam no equilíbrio da flora normal da pele. A própria presença dessa flora normal é capaz de impedir o aparecimento de uma flora patológica (GOMES, 1995).

O trauma térmico é o responsável pela instauração de um desequilíbrio das funções de proteção promovida pela pele íntegra, incluindo a destruição da barreira física e morte da flora normal, que serão responsáveis pelo desenvolvimento de uma flora patogênica. Aliado a esse desequilíbrio, as queimaduras desencadeiam uma importante deficiência imunológica que pode ocasionar o desenvolvimento de um foco infeccioso, e posteriormente em situações mais severas, a sepse (DEITCH; DOBKE; BAXTER, 1985).

2.2.2 ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS

Como descrito anteriormente (1.1.2), em resumo, as injúrias térmicas afetam tanto as atividades imunológicas inespecíficas como específicas em seus componentes humorais e celulares.

2.2.3 TRASLOCAÇÃO BACTERIANA

Alguns estudos têm demonstrado que, a autocontaminação através da translocação bacteriana da luz intestinal para a circulação central, é uma causa importante de sepse nos pacientes queimados. A mucosa do tubo digestivo é uma importante barreira mecânica contra a microflora intestinal habitual. Esta microflora é composta por microorganismos inofensivos em pessoas saudáveis, por outro lado esta representa um reservatório de agentes capazes de iniciar uma infecção em pacientes criticamente doentes como em pacientes queimados (MORRIS; NAVARATNAM; HERNDON, 1990).

É conhecido que, a resposta sistêmica à infecção pode alterar a função normal da barreira intestinal, facilitando a translocação bacteriana e absorção de endotoxinas. Logo após um grande trauma térmico, o intestino passa a apresentar um aumento da permeabilidade, mais ainda não está claro se a permeabilidade aumentada causa as infecções, ou se as infecções causam a ruptura da barreira intestinal (CERRA et al. 1992; GIANOTTI et al, 1993).

Deste modo, uma grande carga bacteriana cutânea, prolongada hospitalização, procedimentos invasivos de diagnósticos e terapêuticos, e severo catabolismo, proporcional à extensão da lesão, somado a translocação bacteriana, contribuem para sepse no paciente

queimado, tornando a queimadura diferente das outras formas de trauma (JONES et al,1990; MUNSTER, 1984).

2.3 MICROORGANISMOS

Nos pacientes queimados, as infecções das vias aéreas baixas, feridas e sistêmicas, podem ser causadas por qualquer microorganismo potencialmente patogênico, sejam bactérias, vírus ou fungos. As infecções são causadas principalmente por bactérias, dentre estas, encontramos bactérias da comunidade, incluindo *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* metilicina sensíveis e *Haemophilus influenzae*, assim como também bactérias hospitalares, como bacilos aeróbios gram-negativas e *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA) (EDWARDS-JONES; GREENWOOD, 2003).

Os microorganismos mais comumente reportados como causa das infecções nas unidades de queimados no Brasil e outros países foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococci coagulasa-negativa*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (NASSER et al., 2003; SOARES DE MACEDO; ROSA, 2000)

Dos episódios de sepse bacteriana, 67,2% foram devidos a bactérias gram-positivas e 32,8% devidos a gram-negativas. A frequência maior de sepse, causada por bactérias gram-positivos, foi documentada por diferentes autores, destacando-se *Staphylococcus aureus*, tanto metileno sensível, quanto metileno resistente, como os microorganismos potencialmente patogênicos predominantes em pacientes queimados. Dezoito por cento das infecções que ocorrem em pacientes queimados são atribuídas a essas bactérias. O número maior de episódios de sepse por *Staphylococcus aureus* é devido ao fato de que nas unidades de queimados representam a principal fonte dessa bactéria. (MACEDO et al., 2005; ONCUL et al., 2002; TAYLOR et al., 1992).

As infecções produzidas por *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA) são um grave problema epidemiológico e de diagnóstico (HARDY et al, 2004). Pacientes com queimaduras adquirem MRSA com mais frequência do que pacientes cirúrgicos. Esses pacientes podem adquirir MRSA do meio ambiente e pela transmissão doente para doente, através do manuseio dos profissionais de saúde, que é o modo mais comum de propagação e posteriores surtos levando a endemidade (GANG,2000).

Cerda et al. (2007) determinaram que MRSA foi a causa das infecções em 30% de pneumonias, 25% de infecções sanguíneas e 75% de feridas. A taxa de mortalidade devido a infecções causadas por MRSA em pacientes queimados foi de 30%.

Apesar de *P. aeruginosa* ter sido considerada um dos principais agentes etiológicos de sepse, em queimados, observa-se uma frequência baixa dessa bactéria, isso se deve ao fato de *P. aeruginosa* está competindo na colonização das queimaduras com outras bactérias mais adaptadas, ou fungos que requerem menos nutrientes para sobreviver (BANG, 1998).

Acinetobacter baumannii é uma das poucas bactérias gram-negativas que normalmente podem ser isoladas na pele humana, na garganta ou nas secreções de pessoas saudáveis, necessitam de poucos nutrientes e são altamente resistentes aos antimicrobianos. Este microorganismo está progressivamente sendo responsabilizado por infecções hospitalares e é também isolada nos casos de sepse em queimados (SENGUPTA et al, 2001)

2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA INFECÇÃO

Os sinais clínicos de infecção em pacientes queimados podem ser subdivididos em sistêmicos e locais.

Segundo Howard e colaboradores (1999), a manifestação de infecção sistêmica habituais é a mudança de temperatura que pode ser hipertermia ou hipotermia. A hipertermia ($>38^{\circ}\text{C}$), habitualmente aparece como um sinal precoce e é quase uma constante nos pacientes queimados, decorrente da resposta endócrino-metabólica ao trauma, pode constituir uma das manifestações de infecções tanto da área queimada quanto de outros sítios. A hipotermia ($<36^{\circ}\text{C}$) aparece como um sinal tardio da infecção grave, usualmente presente nas infecções por bacilos gram-negativos.

Pode-se observar como manifestação de infecção a presença de taquicardia, hiperventilação, dor, além de intolerância à glicose, desorientação e a presença de constipação ou íleo adinâmico com dor, cólica, vômitos, febre e desidratação. Greenfield & McManus (1997), acrescentam a este quadro a presença de trombocitopenia e leucocitose ou leucopenia sendo esta um achado constante nos exames laboratoriais dos pacientes queimados. A leucopenia pode surgir temporariamente, coincidindo com introdução da terapia tópica com Sulfadiazina de Prata, retornando aos valores normais em 48-72 horas. No decorrer do

tratamento de um paciente queimado, leucocitoses superiores a 30.000 ou leucopenias inferiores a 4.000 devem ser interpretadas como sinais significativos de sepse (GOMES, 1995).

A infecção em algumas ocasiões aparece de forma sutil, manifestada por distúrbios de comportamento classificados como: alteração do sensório, letargia, confusão mental, surto psicótico, delírios, alucinações ou depressão. Muitas vezes são difíceis de diferenciar esses sintomas de um quadro psiquiátrico ou esquizofrenia (GOMES, 1995).

As infecções locais por sua vez, são classificadas de acordo com Greenfield & McManus (1997), Pruitt e colaboradores (1998) e Howard e colaboradores (1999) como eritema localizado ou celulite peri-lesional. Podem ser diagnosticadas pela inspeção diária das lesões, se faz importante o registro da área queimada na admissão para documentar o aparecimento de novas lesões.

A suspeita de infecção local pode ocorrer pela presença de lesão nodular necrótica (ectima gangrenoso), separação rápida e não esperada de escara, degeneração do tecido de granulação e cicatrização parcial ou perda do enxerto (GREENFIELD, MCMANUS, 1997).

Representam sinais de infecção local: a mudança na coloração da ferida para vermelho escuro focal (violáceo), marrom ou descoloração preta da escara, drenagem purulenta ou com odor fétido, descoloração hemorrágica de tecido abaixo da escara, surgimento de pigmento verde, visível em gordura subcutânea e lesões vesiculares na cicatriz com desepitelização de áreas previamente cicatrizadas (GREENFIELD; MCMANUS, 1997; PRUITT et al., 1998).

A vasculite em áreas não queimadas e o aparecimento de lesões metastáticas infecciosas são bastante comuns nas infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, levando a formação de uma lesão característica denominada ectima gangrenoso. A lesão de ectima se apresenta como uma lesão eritomatosa, de bordos elevados, cujo centro começa a enegrecer e acaba provocando sua perfuração. (GOMES, 1995)

2.5 TRATAMENTO DA INFECÇÃO

O tratamento da infecção, proveniente da queimadura, tem início no momento da admissão na unidade específica. Esse tratamento tem dois objetivos principais: estimular o

sistema imunológico do paciente e prevenir a proliferação bacteriana da ferida queimada. (GOMES, 1995).

No tratamento da infecção normalmente não são usados antibióticos sistêmicos quando a infecção está restrita à área queimada, porém faz-se necessário quando a infecção ultrapassar os limites do tecido queimado, isto acontece quando o tratamento da ferida queimada não é efetivo no controle da proliferação bacteriana e a infecção oriunda da área queimada invade a circulação sistêmica (GOMES, 1995).

Na infecção do paciente queimado é importante a monitorização bacteriológica da área queimada, para poder utilizar o antibiótico correto na hora certa. Porém, nem sempre isso acontece, e em inúmeras vezes se acompanham queimados que chegam em plena sepse e que fizeram uso de inúmeros antibióticos profiláticos (GOMES, 1995).

O raciocínio utilizado de maneira geral é o uso de esquemas terapêuticos empíricos (esquemas brandos), que visam erradicar bactérias comunitárias ou hospitalares leves. No entanto no decurso do tratamento, esses esquemas são alterados devido ao aparecimento de cepas hospitalares resistentes ou mesmo, as infecções por fungo, em pacientes que fizeram uso de poliantibióticos, o que leva ao uso de antibióticos mais potentes, como por exemplo: aminoglicosídeos e cefalosporinas (primeira geração); cefalosporinas (segunda geração) e quinolonas; cefalosporinas (terceira geração) e imipenem, vancomicina, entre outros.

Alguns sinais clínicos e laboratoriais auxiliam na formulação de um esquema terapêutico, direcionado para bactérias gram-positivas ou gram-negativas. Queimaduras com intensa secreção, apresentando uma reação inflamatória exuberante, em pacientes com leucocitose, hipertermia e delírio, sugerem uma infecção por bactérias gram-positivas. Já uma queimadura com aspecto seco, num paciente com hipotermia, leucopenia e lúcido, leva a suspeita de uma infecção por bactérias gram-negativas. (GOMES, 1995).

Os microrganismos que predominam como agentes causais das infecções nas queimaduras, por razão de um tratamento antimicrobiano inadequado, desenvolvem o fenômeno da resistência aos antimicrobianos. Diversos estudos demonstram o aumento da resistência antimicrobiana das bactérias isoladas nos pacientes queimados (PRUITT et al, 1998; SHARMA et al, 2005; WASSERMAN et al, 2001).

3. ANTIMICROBIANOS

3.1. CEFEPIME

O cefepime é uma oximinocefalosporina semi-sintética desenvolvida em 1994, incluído dentro das cefalosporinas de quarta geração, que possui um amplo espectro de atividade antibacteriana, superior as cefalosporinas de terceira geração (SANDERS, 1993; SADER; FRITSCH; JONES, 2005).

Cefepime, (6R,7R,Z)-7-(2-(2-aminotiazol-4-yl)-2-(metoxiamino)acetamido)-3-((1-metilpirrolidina-1-il) metil)-8-oxo-5-tia-1-aza-biciclo [4.2.0] oct-2-ene-2 carboxilato, com peso molecular de 480,56 g/mol, é um pó cristalino, branco, não higroscópico e altamente solúvel em água, deve ser armazenado em recipientes hermeticamente fechados e protegidos da luz.

Em virtude de sua estrutura química que apresenta a combinação da configuração syn do metoxiamino e do aminotiazol, o cefepime se caracteriza por ter maior resistência às enzimas β -lactamases produzidas por muitas bactérias, além disso, a presença de N-metilpirrolidina na sua estrutura aumenta a capacidade de penetração nas bactérias gram-negativas. Estas características aumentam a atividade do cefepime contra os organismos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (CUNHA & GILL, 1995; SANDERS, 1993). Estrutura química está ilustrada na Figura 6.

Figura 6. Estrutura química do cefepime
(Fonte: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/9/92/Cefepime.png>)

Como outros antibióticos β -lactâmicos, o cefepime inibe a síntese da parede bacteriana pela ligação a uma ou mais proteínas fixadoras de penicilina (PFP), que se encontram na parede da membrana celular, produzindo uma inibição do crescimento bacteriano bem como a lise da bactéria. Ressalta-se ainda que estes antibióticos inativam a transpeptidase pela acilação da enzima com a clivagem da ligação CO-N do anel β -lactâmico (KESSLER, 2001).

Atividade dos b-lactamicos é tempo dependente, administrados em doses intermitentes esta depende do período de tempo que as concentrações plasmáticas se encontram acima de concentração inibitória mínima (CIM) do microorganismo. A atividade máxima dos b-lactamicos foi observada quando as concentrações plasmáticas permanecem acima do MIC para 50% do intervalo de doses, nos pacientes imunossuprimidos como os queimados, o período de tempo em que a concentração plasmática se encontra acima da CIM deve ser estendido para 75% (BERGMANN 2007; MCKINNON; DAVIS 2004).

Cefepime é ativo contra microorganismos gram-positivos e gram-negativos aeróbios, seu espectro de atividade inclui patogenos como a *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, e *klebsiella Pneumoniae*, que fazem do cefepime um candidato potencial no tratamento de infecções bacterianas nos pacientes queimados. Caracteriza-se por ter maior atividade inibitória que ceftazidima, cefoperazona, cefotaxima, cefpimizole e moxalatam contra enterobacterias como *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Providencia*, *Serratia*, *Morganella*, e que ceftazidima, cefotaxima e cefoperazona contra *Staphylococcus aureus*, embora, não tenha atividade sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA), adicionalmente o cefepime tem uma excelente atividade inibitória contra *Haemophilus influenzae* (KOVARIK et al., 1991). Ocorre um efeito sinérgico na atividade bactericida do cefepime, quando este é associado a gentamicina, amikacina ou ciprofloxacino (ELKHAILI et al., 1997).

Por outro lado, como outras cefalosporinas o cefepime tem limitada atividade inibitória contra bactérias não fermentadoras, embora a maioria das cepas testadas de *Pseudomona aeruginosa* serem susceptíveis ou moderadamente susceptíveis (SANDERS et al., 1996).

O cefepime pode ser administrado através da infusão intravenosa ou injeção intramuscular, sendo que a concentração máxima (C_{max}) aumenta proporcionalmente à dose através de infusão intravenosa: 500 mg (39,1 μ g/mL), 1 g (81,7 μ g/mL) e 2 g (163,9 μ g/mL), sendo que a dose habitual é de 1 a 2 g a cada 12 horas. Após uma dose intramuscular

a $C_{\max}$ varia entre 13,9 a 57,5 mg/L para doses de 500 mg e 2 g, respectivamente (BARBHAIJA et al., 1990; BARRADELL & BRYSON, 1994).

A concentração mínima ($C_{\min}$) após dose de 2g a cada 12 h é de 1,03 µg/mL e após da dose a cada 8 horas de 500 mg (1,4 µg/mL), 1 g (2,4 µg/mL) e 2 g (3,9 µg/mL). A área sob a curva (ASC) após administração intravenosa de uma dose de 500 mg (70,8 µg/mL.h), 1g (148,5 µg/mL.h) e 2 g (284,8 µg/mL.h) (BURGESS et al., 2000; Prod Info Maxipime(R), 2003; MICROMEDEX, 2008).

Este antimicrobiano é amplamente distribuído nos tecidos corporais alcançando concentrações altas na mucosa bronquial, líquido peritoneal, próstata, fluido cérebro espinal e humor aquoso; no líquido sem inflamação das meninges são atingidas concentrações entre 0,82 e 2,04 µg/mL na 12ª h após uma dose de 1 e 2 g respectivamente. Após a dose de 2 g IV, a concentração biliar de cefepime é de 17,8 µg/mL na 9,4 h; concentrações na vesícula biliar após 8,9 h da administração é de 11,9 mg/g, na mucosa bronquial 4,8 h após administração é de 24,1 mg/g, concentrações no fluido intersticial após 1,5 h da administração é de 81,4 mg/L, no esputo após 4 h da administração é de 7,4 µg/mL e concentrações na urina após 0 a 4 horas da administração IV de 500 mg, 1 g e 2 g são de 292 µg/mL, 926 µg/mL e 3120 µg/mL, respectivamente (OKAMATO, 1991; OZDAMAR et al, 2001).

O cefepime é metabolizado a n-metilpirrolidina (NMP) que é convertido rapidamente ao N-óxido (N-óxido de NMP), menos de 1% da dose administrada é recuperada na urina como NMP, 6,8% como NMP-N-óxido, e 2,5% como um epímero do cefepime, cerca de 70 a 90% da dose administrada é eliminada sob a forma inalterada através dos rins, por filtração glomerular, assim é necessário o ajuste de dose quando o paciente apresentar insuficiência renal aguda, uma vez que esta altera os parâmetros de meia vida e depuração (OKAMATO, 1991)

Sugere-se uma dose de 1 g cada 12 horas para pacientes com depuração de creatinina (Clcr) de 30 mL/min, uma dose de 500 mg a cada 24 h para pacientes com Clcr de 10 a 30 mL/min, e a dose de 250 mg a cada 24 h foram sugeridas para pacientes com Clcr de <10m/min (CRONOVIST et al., 1992). Por outro lado, Okamoto e colaboradores (1991) sugerem que a dose padrão (0,5 a 2,0 g) deve ser administrada a cada 12 horas para pacientes com Clcr de 60 mL/min; a cada 18 horas para pacientes com Clcr de 60 a 31 mL/min; a cada 24 horas para pacientes com um Clcr de 30 a 10 mL/min, e a cada 48 horas para pacientes com um Clcr <10 mL/min.

Durante hemodiálises de 3 horas, 68% da dose do cefepime é removida. A dose recomendada nos pacientes que são submetidos a hemodiálises é de 1 g no primeiro dia seguido por 500 mg a cada 24 horas para o tratamento de todas as infecções exceto da neutropenia febril. Os pacientes em hemodiálises com neutropenia febril devem receber uma dose de 1 g a cada 24 horas, administrado depois da hemodiálise e nos dias depois no mesmo horário (PROD INFO MAXIPIME(R) IV, IM INJECTION, 2007).

Com relação às propriedades farmacocinéticas do cefepime, cabe ressaltar, a baixa ligação as proteínas plasmáticas, entre 16 e 20%, além da meia-vida biológica de 2 a 2,5 horas, porém este valor pode estar prolongado até em 13,5 horas em pacientes com insuficiência renal ($\text{Clcr} < 10 \text{ mL/min}$) e em hemodiálise, requerendo uma diminuição da dose em consequência da redução da função renal. Com relação ao volume de distribuição, após uma dose intravenosa de 1 a 2 g, este volume alcança valores entre 14 e 20 litros (BARBHAIYA et al, 1990; BARBHAIYA, 1990; BARRADELL & BRYSON, 1994)

O cefepime é indicado no tratamento nas infecções como a pneumonia (moderada a severa) causada por *Streptococcus pneumoniae*, incluindo os casos associados com bacteremia, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, ou espécies de *Enterobacte*. Infecções urinarias não complicadas e complicadas (incluindo pielonefritis) causadas pela *Escherichia coli* ou *Klebsiella Pneumoniae*, infecções não complicadas da pele e da estrutura da pele causado pelo *Staphylococcus aureus* (metecilino sensíveis) ou *Streptococcus pyogene*, infecções intra-abdominais complicadas (usado em combinação com o metronidazol) causadas pela *Escherichia coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae*, espécies de *Enterobacter*, ou *Bacteroides fragilis*. O cefepime como monoterapia é indicado para o tratamento empírico em pacientes com neutropenia febril (TUNKEL et al, 2004).

Os efeitos adversos mais comuns com o uso de cefepime são náuseas, vômitos, diarreia e cefaléias. No entanto, rash cutâneo é reportado em 1,1% dos pacientes com dose normal (1 a 2 g a cada 12 horas) e em 4% em pacientes com grandes doses (2g a cada 8 horas), além disso, prurito e urticaria são reportados em menos de 1% dos pacientes. Finalmente, de forma menos freqüente se reporta eosinofilia, assim como também elevação das transaminases hepáticas, estas elevações podem diminuir e retornar aos valores normais depois de descontinuar o tratamento (BARBHAIYA et al., 1990a; OSTER et al, 1990).

3.2 VANCOMICINA

A vancomicina é um glicopeptídeo tricíclico, de massa molecular 1449,3 g/mol, produzido pelo *Streptococcus orientalis*, pó higroscópico de cor branco, altamente solúvel em água, pouco solúvel em álcool e praticamente insolúvel em éter e clorofórmio. Em solução a 5% tem pH varia entre 2,5 e 4,5. A estrutura química é ilustrada a seguir.

Figura 7. Estrutura química da vancomicina
(Fonte: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8f/Vancomycine.png>)

A vancomicina é pouco absorvida no tubo digestivo, após administração oral e, portanto, na maioria das vezes é ministrada por via intravenosa, podendo também ser ministrada por via oral no tratamento das infecções intestinais por *Clostridium difficile*. A administração intramuscular é inviável, pois seu efeito irritante é muito acentuado, provocando dor intensa. Assim a única via de administração viável é a endovenosa, podendo ainda provocar vários sintomas clínicos como febre, vermelhidão, flebite entre outros, o que limita seu uso na comunidade, conseqüentemente, a vancomicina tem o seu uso restrito a hospitais (AMATO NETO, 1994).

Assim como outros glicopeptídeos, a vancomicina apresenta atividade bactericida devido à sua habilidade de bloquear a síntese do peptidoglicano, que é fundamental para a formação da parede celular da bactéria. A inibição da síntese do peptideoglicano ocorre devido à formação de um complexo entre a porção D-alanil-D-alanina do precursor da parede

celular e do antimicrobiano. A vancomicina forma um complexo estequiométrico na proporção de 1:1 com o N-acetilmuramil-pentapeptídeo, que é um precursor do peptídeoglicano, por meio da formação de pontes de hidrogênio (NICAS, et al., 1997)

A vancomicina apresenta atividade bactericida *in vitro* contra a maioria dos patógenos gram-positivos clinicamente importantes, como *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp* e *Clostridium spp* (MOELLERING, 1998; REYNOLDS, 1989). A vancomicina é o antibiótico de primeira escolha para o tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) (LEVINE, 2006). Cabe ressaltar, que as infecções causadas por MRSA são as mais comuns em pacientes queimados nas unidades de cuidados intensivos, sendo, preconizada para o controle da colonização, transmissão e resistência destes microorganismos, a administração enteral de vancomicina. Além disso, diversos estudos têm demonstrado a eficácia e segurança desse fármaco quando administrado via enteral em pacientes da unidade de cuidados intensivos (DE LA CAL, 2004; SILVESTRI, 2002)

As cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis* são consideradas sensíveis quando apresentam CIMs ≤ 4 mg/L, incluindo as cepas resistentes à meticilina, *S. Pyogenes*, *S. Pneumoniae* e estreptococos do grupo viridans são consideradas em geral altamente sensíveis, assim como a maioria das cepas de *Enterococos spp*. Além disso, as espécies de *Corynebacterium* (difteróides) são inibidas por concentrações inferiores a 0,04 a 3,1 mg/L de vancomicina e a maioria das espécies de *Actinomyces* por concentrações entre 5 a 10 mg/L. Todas as espécies de bacilos gram-negativos e de micobactérias são resistentes a vancomicina. (MANDELL & PETRI, 1996).

O regime de dose ideal para a vancomicina é aquele que resulta em uma concentração plasmática com pico inferior a 20 a 50 $\mu\text{g/mL}$ para evitar a toxicidade, e concentrações de vale entre 5 a 10 $\mu\text{g/mL}$ que assegura a sua eficácia (LUNDSTROM; SOBEL, 2004). Considerando que a vancomicina tem a ação bactericida que é tempo-dependente, a sua concentração sérica deve estar em quatro vezes acima do MIC, portanto, quando sua concentração cai abaixo desse valor, a atividade bactericida é perdida (WEINBREN et al., 1999).

Reporta-se que na dose terapêutica usual (1g cada 12 horas) a vancomicina atinge níveis terapêuticos entre 4-8 $\mu\text{g/mL}$ no líquido pericárdico, pleural, sinovial, ascítico, bem como no pulmão, coração, fígado, interior de abscessos e ossos. Nessas doses são atingidas ainda concentrações elevadas na urina (100 a 300 $\mu\text{g/mL}$) (TAVARES, 1996). A entrada da

vancomicina nos tecidos é variável e pode ser afetada por estados de doença e inflamação, por exemplo, no líquido sem inflamação das meninges são atingidas concentrações entre 0 e 4 µg/mL, entretanto concentrações entre 6,4 µg/mL e 11,1 µg/mL foram registradas nas meningitis. A penetração no tecido da pele é significativamente baixa nos pacientes diabéticos (média 0,1 µg/mL; escala, 0.01-0.45 µg/mL), comparado com os pacientes não diabéticos (média, 0,3 µg/mL; escala, 0.46-0.94 µg/mL), baseado na relação da concentração de vancomicina no tecido e suas concentrações plasmáticas (SKHIRTLADZE K., 2006).

Como características farmacocinéticas, a vancomicina apresenta baixa taxa de ligação às proteínas plasmáticas, entre 30 a 50%, depuração plasmática entre 1,3 a 1,5 mL/min/kg e volume de distribuição entre 0,33 a 0,45 L/kg. Por não ser metabolizada, cerca de 90% da dose administrada é eliminada sob a forma inalterada através dos rins, por filtração glomerular em 24 horas, entretanto, pacientes com função renal normal e sem alteração de compartimentos fluidos apresentam meia-vida de eliminação entre 3,8 a 7,4 horas, porém, faz-se necessário o ajuste de dose quando o paciente apresentar insuficiência renal aguda, uma vez que esta altera os parâmetros de meia vida e depuração (MANDELL & PETRI, 1996; TAVARES, 1996).

A vancomicina é indicada para o tratamento de infecções graves e é particularmente útil nas infecções causadas por estafilococos resistentes à meticilina, incluindo pneumonia, endocardite, osteomielite e abscessos nos tecidos moles, sendo importante para o tratamento das infecções estafilocócicas graves e endocardite causada por estreptococos do grupo viridans nos pacientes que são alérgicos à penicilina e cefalosporinas (MANDELL & PETRI, 1996).

Por outro lado, a vancomicina associada a um aminoglicosídeo, pode ser usada para o tratamento de endocardites causadas por *Flavobacterium* e *Corynebacterium spp.* Mais recentemente, a vancomicina tornou-se um importante antibiótico no tratamento de infecções suspeitas ou conhecidas por pneumococos resistentes à penicilina (MANDELL & PETRI, 1996).

Em relação às reações adversas da vancomicina, a ototoxicidade é reversível e está associada com concentrações elevadas do antibiótico no plasma, acima de 40 mg/L (SAUNDERS, 1994; DARKO; MEDICIS; SMITH, 2003). Por outro lado, a nefrotoxicidade tornou-se um efeito colateral incomum quando doses apropriadas são utilizadas, condicionadas pela função renal e pela determinação dos níveis sanguíneos do antibiótico. A ototoxicidade e nefrotoxicidade são muito mais freqüentes quando a vancomicina é

administrada em associação a outro agente nefrotóxico ou ototóxico como os aminoglicosídeos ou a pacientes com diminuição da função renal (VANCE-BRYAN et al., 1994; MANDELL & PETRI, 1996).

Entre outros efeitos adversos produzidos pela vancomicina podemos citar as reações de hipersensibilidade como rash cutâneo e anafilaxia. Eritema na base do pescoço, ruborização intensa e episódios de hipotensão podem ocorrer algumas vezes, isto se caracteriza como: “síndrome do pescoço vermelho” ou do “homem vermelho”, esta síndrome é associado com a administração rápida do fármaco e liberação de histamina. A infusão intravenosa rápida pode causar uma variedade de sintomas, incluindo reações eritematosas ou tipo urticária, rubor, taquicardia e hipotensão.

Raramente, flebite e dor podem ocorrer no local da infusão intravenosa, e tais reações podem ser devido à purificação inadequada do produto. Podem acontecer também calafrios, erupções e febre (MANDELL & PETRI, 1996).

Há ainda relatos de casos de neutropenia associada ao uso de vancomicina, após longo período de uso. Parece não estar relacionado à dose ou concentração terapêutica da droga. É recomendada a contagem periódica de leucócitos em pacientes que recebam vancomicina por período superior a duas semanas (MATZKE, 1986).

3.3 . IMIPENEM

O imipenem origina-se de um composto derivado *N*-formidoil, produzido pela bactéria *Streptomyces cattleya*, é um antibiótico β -lactâmico desenvolvido em 1985, pertencente ao sub-grupo dos carbapenêmicos, foi o primeiro antibiótico carbapenêmico selecionado para o desenvolvimento pelo amplo espectro antimicrobiano e bom perfil de segurança (RODLOFF; GOLDSTEIN; TORRES, 2006).

O imipenem, (5R,6S)-6-[(R)-1-Hydroxyethyl]-3-(2-iminomethylaminoethylthio) -7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid monohydrate, com peso molecular de 299,347 g/mol, a 25 °C o pKa 1 é de 3,2 e o pKa 2 é de 9,9, é um pó cristalino amarelo pálido, moderadamente solúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool metílico. Uma solução 0,5% em água tem um pH de 4,5 a 7,0. Deve ser armazenado em recipientes

hermeticamente fechados, a uma temperatura entre 2 a 8°C, a estrutura química está ilustrada na figura 8.

Figura 8. Estrutura química do imipenem
(Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Imipenem.svg>)

Imipenem é instável em pH ácido ou alcalino, disponível para comercialização como injeção por via intravenosa, fornecida com bicarbonato de sódio que atua como tampão para obter uma solução com pH de 6,5 a 7,5. O imipenem é comercializado em combinação com cilastatina, um fármaco que inibe a degradação do imipenem por uma dipeptidase do túbulo renal (MICROMEDEX, 2008).

A dosagem do imipenem está bem estabelecida em adultos, crianças, doentes com insuficiência renal e pacientes geriátricos. Imipenem é utilizado em septicemias bacterianas, como no caso dos pacientes queimados. Em infecções suaves causadas por microorganismos suscetíveis, a dose recomendada é de 250 mg IV a cada 6 horas; e de 500 mg IV a cada 6 horas no caso de microorganismos moderadamente suscetíveis incluindo *P. aeruginosa*; em infecções moderadas causadas por microorganismos suscetíveis, se recomenda doses de 500 mg IV a cada 6 a 8 horas ou 1 g IV a cada 8 horas em infecções causadas por microorganismos moderadamente suscetíveis; finalmente no caso de infecções severas produzidas por organismos suscetíveis são recomendadas doses de 500 mg IV a cada 6 horas e de 1 g IV a cada 6 a 8 horas, no caso de infecções causadas por organismos moderadamente suscetíveis incluindo *P. aeruginosa*. Observou-se que o uso de imipenem em doses de 500 mg 4 vezes ao dia e 1g 3 vezes ao dia resultam em aproximadamente o mesmo tempo acima do MIC ($T > \text{CIM}$) (MOUTON, 2000).

A infusão intravenosa de imipenem por mais de 20 minutos resulta em picos de níveis plasmáticos variando de 14 a 24 µg/mL (250 mg dose), 21 a 58 µg/mL (500 mg dose) e 41 a 83 µg/mL (1g dose), nestas doses, os níveis plasmáticos de imipenem diminuem para <1 µg/mL depois 4-6 horas. A concentração urinária é > 10 µg/mL em um período de 8 horas após a injeção intravenosa de 500 mg de imipenem. A meia vida plasmática é de aproximadamente 1 h em adultos com função renal normal, e de 2,9 a 4 horas quando existe insuficiência renal, renal, pacientes com depuração da creatinina menores o iguais a 70 mL/min/1.73m² exigem reduções dosagem (ALVAN & NORD, 1995; BALFOUR; BRYSON; BROGDEN, 1996).

Cerca de 10-20% de imipenem liga-se a proteínas plasmáticas e o volume de distribuição varia entre 12 a 19 L. A eliminação é fundamentalmente renal, recuperando-se 70% da doses administrada na urina após 10 horas da administração, se a função renal for normal. O metabolismo do imipenem é essencialmente renal, por ação do dehidropeptidasa I. A co-administração cilastatina de sódio, um inibidor desta enzima, impede metabolismo renal, resultando em níveis antibacterianos adequados (ALVAN & NORD, 1995; BALFOUR; BRYSON; BROGDEN, 1996).

Imipenem é intensamente distribuído nos tecidos e fluidos corporais, a mediana da concentração de imipenem 1 hora após a dose é de 5,6 mg/kg no tecido pulmonar, 11,1 mg/kg no tecido endometrial, 22 µg/mL no líquido pleural, 2,6 µg/mL em líquido cefalorraquidiano (2h pós-dose) e 16,4 µg/mL no fluido intersticial (RODLOFF; GOLDSTEIN; TORRES, 2006).

O imipenem como outros antibióticos β-lactâmicos, liga-se e inativa as proteínas de ligação da penicilina (PBPs), interrompendo a síntese da parede celular bacteriana provocando a morte dos microorganismos. A atividade do imipenem *in vitro* é excelente, para uma ampla variedade de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos. Imipenem tem excelente atividade contra as *Enterobacteriaceae* e inibe a maioria das cepas de *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, e não deve ser utilizado como monoterapia para infecções causadas por *P. aeruginosa*, devido ao risco de desenvolvimento de resistência durante a terapia (SHAH & ISAACS, 2003).

Eficácia dos carbapenêmicos depende do tempo durante o qual a concentração do fármaco excede a concentração inibitória mínima CIM (T>CIM). O tempo acima do CIM tem sido o único parâmetro constantemente de PK/PD que se correlaciona com a eficácia terapêutica dos chamados antibióticos tempo-dependente, β-lactâmicos, macrólidos,

clindamicina e oxazolidinones. A meta de um regime posológico para estes medicamentos é otimizar a duração da exposição (CRAIG, 1998), níveis maiores não tem vantagem adicional. Por isso, o período de tempo em que a concentração do fármaco está acima do CIM tem mostrado ser o parâmetro mais importante para determinar sucesso clínico e microbiológico. O tempo requerido acima do CIM varia, dependendo do agente patogênico, local da infecção e do fármaco, mas é geralmente 40-50% do intervalo posológico. Bergmann e colaboradores (2007), discutem essa abordagem para o imipenem e diversos outros antimicrobianos em populações de risco, justificando que o valor de 50% estendido para 70% no caso de queimados e outros pacientes imunocomprometidos.

Imipenem é indicado para pacientes internados com infecção intra-abdominal, do trato respiratório inferior, ginecológicas, trato geniturinário e infecções da pele e dos tecidos moles, assim como para aqueles com sepse ou endocardite (SHAH & ISAACS, 2003).

Imipenem é ativo contra um amplo espectro de agentes patogênicos, tornando-se particularmente útil no tratamento de infecções polimicrobianas e mistas aeróbia/anaeróbia graves. Guias amplamente utilizadas recomendam o imipenem na terapêutica orientada ou empírica para pneumonia ventilador-associada, infecções intra-abdominais e neutropenia febril e no tratamento empírico de infecções graves (SHAH & ISAACS, 2003; ZANETTI et al, 2003).

O imipenem é particularmente útil no tratamento de infecções causadas por bactérias hospitalares resistentes às cefalosporinas, como *Citrobacter freundii* e espécies de *Enterobacte*, é também considerado adequado no tratamento empírico de infecções graves quando existe uma elevada probabilidade de infecção com organismos resistentes ou organismos que possam requerer regimes com vários fármacos, assim como em pacientes hospitalizados que recentemente fizeram uso de outros antibióticos β -lactâmicos, devido ao risco aumentado de infecção causada por bactérias resistentes às cefalosporinas e/ou penicilinas, por outro lado não deve ser utilizado como monoterapia para infecções causadas por *P. aeruginosa*, devido ao risco de desenvolvimento de resistência durante a terapia. Imipenem tornou-se um padrão comparador em estudos clínicos para várias indicações (CHERIF et al, 2004).

O bom perfil de segurança do imipenem está bem estabelecido após 29 anos de pesquisa e os 20 anos de experiência clínica em 26 milhões de pacientes de mais de 100 países. Os efeitos adversos raramente exigem a interrupção do tratamento e graves efeitos colaterais são raros. Os eventos adversos mais comuns relacionados com o fármaco em pelo

menos 1% dos pacientes incluídos nos ensaios clínicos são flebite/tromboflebitis (3,1%), náuseas (2,0%), diarreia (1,8%) e vômitos (1,5%) (RODLOFF; GOLDSTEIN; TORRES, 2006).

Imipenem não é indicado para infecções no SNC pela sua atividade pró-convulsivante. Sistemas de vigilância da dosagem resultaram na diminuição na incidência de convulsões em pacientes tratados com imipenem, tornando-se importante examinar a real incidência de convulsões com carbapenêmicos. (NORRBY, 2000). Reconhecimento dos fatores que predispõe os pacientes à convulsões, tais como disfunção renal, história previa de convulsões, anóxia, descontinuação de fenitoína e da utilização de doses adequadas dos carbapenêmicos reduziu substancialmente a preocupação com os riscos de convulsões (KOPPEL et al, 2001).

CAPÍTULO I

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA
QUANTIFICAÇÃO DE ANTIMICROBIANOS EM PLASMA PARA O CONTROLE
DA SEPSE**

INTRODUÇÃO

Atualmente, a antibioticoterapia de escolha para os pacientes queimados portadores de sepse prevê a utilização da vancomicina associada ao imipenem ou ao cefepime. Uma vez que a farmacocinética varia de forma imprevisível nesses pacientes, torna-se arriscado o emprego de uma dose empírica destes antimicrobianos, visto que o índice de óbitos é alto quando da subterapia prolongada (BOUCHER et al., 1992).

Assim sendo, o controle terapêutico dos agentes mais prescritos atualmente para pacientes queimados (cefepime, vancomicina e imipenem) é custo efetivo e farmacoeconomicamente viável; entretanto, não existem centros com laboratórios habilitados para realizar esse monitoramento de suporte ao tratamento. Conseqüentemente, após a dose empírica usual de manutenção para garantir o *steady state*, sugere-se como de grande importância a programação da administração intravenosa de cada antimicrobiano baseada nos resultados laboratoriais como um guia obrigatório para qualquer alteração do regime de dose desses antimicrobianos nos pacientes queimados com sepse.

Dentre os métodos bioanalíticos disponíveis para a determinação isolada de agentes antimicrobianos em matrizes biológicas, encontramos o método microbiológico ou bioensaio; a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e métodos imunológicos como o radioimunoensaio, (RIA), o imunoensaio de fluorescência (FIA) e a imunofluorescência polarizada (FPIA).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um método físico-químico que apresenta alta seletividade, precisão e exatidão, além de manter a integridade da amostra no extrato da matriz biológica conforme reportado anteriormente para a determinação de vancomicina em neonatos com sepse (SANTOS et al., 2001), para a determinação de imipenem (GARCIA-CAPDEVILA et al., 1997), e para a determinação de cefepime (OCOÑA et al., 2004; ISLA et al., 2005).

Por outro lado, a sofisticação da instrumentação analítica, a complexidade de operacionalização, a exigência de analista treinado e a utilização de softwares específicos podem ser consideradas como limitantes na sua aplicação relativamente aos bioensaios e imunoensaios. Entretanto, para a análise dos novos agentes antimicrobianos é geralmente preferida a Cromatografia líquida de alta eficiência quando comparado com os bioensaios e imunoensaios. Tais ensaios geralmente não tem especificidade e muitas vezes não podem ser utilizados quando vários antimicrobianos estão presentes nas amostras, visto que eles não distinguem os metabólitos biologicamente ativos do composto original (ELKHAILI et al., 1996). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é preferida devido à sua

seletividade e especificidade (BARBHAIYA et al.,1986; ELKHAILI et al., 1997;FURUTA, 2000;IP et al.,1980; ISLA et al., 2005; OCOÑA et al., 2004)

Uma vez que as alterações na farmacocinética dos antimicrobianos são esperadas nos pacientes queimados e nenhum método por cromatografia líquida de alta eficiência foi descrito anteriormente para a determinação simultânea de cefepime, vancomicina e imipenem, o objetivo desta etapa do estudo foi desenvolver uma metodologia analítica rápida, seletiva e sensível para a determinação simultânea destes três agentes antimicrobianos visando uma monitoração terapêutica e modelagem farmacocinética dos fármacos nos pacientes queimados.

OBJETIVO

- Desenvolver, otimizar e validar metodologia analítica em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) para determinação simultânea de vancomicina, cefepime e imipenem no plasma.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. PADRÕES E REAGENTES

Utilizou-se como padrão de referência a vancomicina (cloridrato), [Eli Lilly, São Paulo, Brasil], imipenem (sal sódico) [Merck Sharp & Dohme, Rio de Janeiro, Brasil], Cefepime (cloridrato) [Bristol Myers Squibb, Guayaquil, Equador] e cefuroxima (sal sódico), padrão interno (PI) [GlaxoSmithKline, Rio de Janeiro, Brasil]. Os padrões de referência foram armazenados em recipiente com tampa, ao abrigo da luz, mantidos em dessecador com indicador de umidade, à temperatura ambiente (20-22°C). Utilizou-se solução de ácido 3-[N-morfolino] Propano Sulfônico (MOPS) (SIGMA, Steinheim, Alemanha), como estabilizante devendo ser adicionada ao plasma dos calibradores, controles internos de qualidade e às amostras no momento da coleta de sangue dos pacientes.

Utilizaram-se solventes com grau cromatográfico de boa procedência, Carlo Erba (Rodano, MI, Itália), no procedimento de precipitação de proteínas e na análise quantitativa dos fármacos. Os gases nitrogênio e hélio apresentaram grau de pureza 99,99%, procedência Air Products Gases Industriais Ltda, o nitrogênio destinado a evaporação do solvente dos extratos orgânicos, e o hélio, destinado a desgaseificação da fase móvel de cromatografia. Na filtração do tampão empregou-se membrana Millipore tipo HA, 0,4 micra.

Obteve-se água ultrapura para cromatografia líquida por meio do tratamento da água purificada pelo sistema MilliDI® seguida do tratamento através do sistema Simplicity®, ambos da Millipore (São Paulo, Brasil), para preparação das soluções tampão, na limpeza da tubulação e da coluna analítica, bem como na regeneração do cromatógrafo líquido. Lavou-se toda a vidraria e demais materiais utilizados (preparação das matrizes biológicas e purificação prévia à análise por cromatografia) pela imersão em banho de água contendo detergente, Extran Alcalino® Merck. Subseqüentemente, lavou-se a vidraria em solução ácida pela imersão dos materiais (ácido clorídrico 50%, v/v) durante duas horas, seguido de enxágüe com água corrente e destilada, secada a temperatura ambiente. Posteriormente, realizou-se o controle de qualidade da vidraria, e somente após a aprovação as vidrarias foram liberadas e colocadas para uso nas caixas/armários do laboratório.

1.2. PREPARO DE PADRÕES DE REFERENCIA, CALIBRADORES E CONTROLES DE QUALIDADE

As soluções estoque de cefepime, vancomicina e imipenem foram preparadas pela pesagem de 5-10 mg de cada padrão em balão volumétrico de 5 mL, utilizando balança semi-micro analítica AX120, Shimadzu, Japão, seguida de dissolução com água ultrapura, para obter uma concentração final de 2 mg/mL para cefepime e de 1 mg/mL para vancomicina e imipenem.

Os padrões em plasma (calibradores) contendo a mistura de cefepime, vancomicina e imipenem da curva de calibração foram preparados pela adição do volume apropriado de solução estoque ao plasma branco soro negativo, testado e aprovado (procedente do Hemocentro de São Paulo) para se obter concentrações equivalentes a 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,3; 3,1; 1,5; 0,8; 0,4 µg/mL de cefepime e 100; 50; 25; 12,5; 6,3; 3,1; 1,5; 0,8; 0,4; 0,2 µg/mL de vancomicina e imipenem. Os controles internos de qualidade (CQs), alto (CQA), médio (CQM) e baixo (CQB) foram preparados através da diluição da solução estoque dos antimicrobianos em plasma branco sendo para cefepime (160, 80 e 3,2 µg/mL), vancomicina e imipenem (80, 40 e 1,6 µg/mL).

Alíquotas de 500 µL dos padrões em plasma (calibradores), foram distribuídas para tubos de Eppendorf contendo 0,25 mL de solução MOPS 10% em caixas identificadas que foram armazenadas em congelador (ultralow, 80°C, negativos) até o momento do ensaio.

A cefuroxima foi utilizada como padrão interno (PI), preparando-se a solução padrão estoque (1 mg/mL), alíquotas foram distribuídas para tubos de Eppendorf e armazenadas em congelador (ultralow, 80°C, negativos). O padrão de adição (uso) foi preparado semanalmente, a partir do estoque na diluição de 1:25 de forma a se obter uma concentração de 40 µg/mL, alíquotas de 1 mL foram armazenadas em congelador (ultralow, 80°C, negativos) até a análise, requerendo o volume de 100 µL por ensaio (4 µg/tubo).

A solução do MOPS 10%, foi preparada pela dissolução de 1g de ácido 3-[N-morfolino] propano sulfônico com 10 mL de água ultrapura. O MOPS foi requerido para garantir a estabilidade dos antimicrobianos no plasma, durante o procedimento de purificação e no desenvolvimento da análise quantitativa por cromatografia.

1.3. INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA E CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Utilizou-se o cromatógrafo líquido Shimadzu (Kyoto, Japão) constituído por bomba LC-10 AD VP, equipado com um controlador CBM 101 e programa Class VP, injetor automático SIL10A VP, detector SPD-10AVP, operando no ultravioleta no comprimento de onda 230 nm. A integração da área dos picos dos três antimicrobianos e do padrão interno foi realizada utilizando um registrador-integrador Chromatopac CR-6A, Shimadzu (Kyoto, Japão). Utilizou-se coluna analítica Supelcosil™ LC-18 (25 cm x 4.6 mm x 5µm) Supelco (Bellefonte, PA, USA), adaptada a uma pré-coluna C18 (Waters Assoc., Milford, USA).

Utilizou-se uma fase móvel binária constituída por tampão acetato 0,075M, pH=5,0 e acetonitrila (92:8, v/v) sob vazão de 0,8 mL/min, em sistema isocrático de eluição. A mesma foi preparada diariamente e desgaseificada com Helio durante 3 minutos; efetuou-se a monitorização do pH da fase móvel através de medidor de pH, Analyse pH 300M, com eletrodo específico e sensor de temperatura.

O volume de injeção foi de 5 µL, o efluente foi monitorado através de um detector UV no comprimento de onda de 230 nm. Requereu-se tempo de corrida de 30 minutos para garantir a seletividade da análise cromatográfica. Todas as análises foram realizadas a temperatura ambiente ($21\pm1^{\circ}\text{C}$).

1.4. PROCEDIMENTO DE PURIFICAÇÃO DA MATRIZ BIOLÓGICA (PLASMA)

Com base nas características físico-químicas dos quatro antimicrobianos, incluindo-se o padrão interno, e considerando-se que todos esses compostos são altamente hidrofílicos, optou-se pela purificação das matrizes biológicas através da precipitação de proteínas com acetonitrila. Destaca-se que a quantificação dos fármacos exigiu volume reduzido da matriz biológica contendo a solução estabilizante MOPS na proporção de 1 volume para 3 volumes de acetonitrila.

Em tubos tipo eppendorf, foram adicionados 100 µL de cefuroxima (PI) na concentração de 40 µg/mL, 100 µL de MOPS e 200 µL de matriz biológica contendo a solução estabilizante MOPS; a mistura foi agitada em *vortex* durante 10 segundos. A esses tubos eppendorf foram adicionados 600 µL de acetonitrila, seguida da homogeneização em

vórtex durante 15 segundos, para precipitação homogênea das proteínas plasmáticas. Após agitação, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm a 4°C durante 40 minutos. Volumes de 400 µL do sobrenadante foram aspirados e transferidos para tubos cônicos de 10 mL para evaporação à secura em banho-maria a 37°C sob fluxo de nitrogênio. Em seguida, o extrato seco foi dissolvido com 200 µL da mistura de acetonitrila e água (8:2 v/v) e volumes de 5 µL foram injetados automaticamente no cromatógrafo líquido (FLUXOGRAMA 1). O tubo de eppendorf contendo o resíduo e o líquido remanescente da precipitação foi tampado e descartado no lixo biológico infectante.

Condições cromatográficas:

Cromatógrafo líquido SHIMADZU LC-10 AD VP; Coluna Supelcosil™ LC-18 (25cm x 4,6mm x 5µm; fase móvel tampão acetato 0,075M, pH=5,0 e acetonitrila (92:8, v/v); Fluxo: 0,8 mL/min. Detector UV SPD-10AVP, λ: 230nm; Autosampler SIL10A VP;

Fluxograma 1- Quantificação de cefepime, vancomicina e imipenem plasmáticos através de análise simultânea por CLAE-UV.

1.5. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Para a realização de estudo de validação do método desenvolvido anteriormente, para quantificação dos antimicrobianos em plasma, utilizaram-se resoluções publicadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária/MS, RDC n° 899 (Brasil, 2003) e pelo FDA/Americana (United States, 2001) para métodos bioanalíticos. Os parâmetros de validação determinados na análise quantitativa dos antimicrobianos foram: especificidade, limite de detecção e quantificação, linearidade, recuperação absoluta e relativa, precisão e exatidão intra e inter-dias, estabilidade, bem como a robustez do método analítico.

1.5.1 ESPECIFICIDADE E SELETIVIDADE

A especificidade é definida como a capacidade do método em distinguir a substância analisada das demais presentes na amostra (CAUSON, 1997). Este parâmetro foi avaliado através da análise de amostras de plasma, obtidas de diferentes indivíduos, sendo dois normais e dois hemolisados, sob condições controladas referentes ao tempo, alimentação e outros fatores importantes para o estudo e outros dois lipêmicos procedentes do Serviço de Laboratório Clínico do Instituto do Coração HC FMUSP. Cada amostra de branco de plasma foi testada utilizando o procedimento e as condições cromatográficas propostas. Os resultados foram comparados àqueles obtidos com solução aquosa do analito, em concentração próxima ao limite de quantificação (LQ). Cada um dos fármacos foi injetado separadamente para a determinação dos tempos de retenção individuais assegurando que as impurezas de um fármaco não interfiram na análise de outro.

Segundo recomendação da Agência Regulatória na Resolução supracitada (RDC n° 899/03), a resposta de picos interferentes no tempo de retenção do fármaco deve ser inferior a 20% da resposta do limite de quantificação. Adicionalmente, relativamente aos picos interferentes no tempo de retenção do padrão interno considerou-se limite inferior a 5% da resposta na concentração utilizada para o ensaio de quantificação do analito.

A seletividade do método foi investigada analisando plasma contendo os diferentes fármacos administrados nestes pacientes e amostras obtidas dos próprios pacientes recebendo terapia antimicrobiana com cefepime, vancomicina, imipenem mais ciprofloxacino,

polymixina B, oxacilina, fluconazol e outros fármacos como o omeprazol, diazepam, dipirona, tramadol, hidroclorotiazida e amitriptilina.

1.5.2. LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção (LD) é a menor quantidade do analito que pode ser detectada em uma amostra, definido como a metade do limite de quantificação, porém não necessariamente quantificado sob as condições experimentais estabelecidas. Por outro lado, o limite de quantificação (LQ) representa a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão (20%) e exatidão aceitáveis (80-120) sob as condições experimentais estabelecidas. Adicionalmente, a legislação relativa à validação de métodos bioanalíticos nacional e internacional preconiza que o sinal mensurado seja da ordem de 3 vezes e 5 vezes do ruído da linha de base respectivamente para o LQ e o LD. Os limites de detecção e quantificação foram determinados baseados na análise de 10 replicadas.

1.5.3. LINEARIDADE E CURVA DE CALIBRAÇÃO DIÁRIA

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Representa a faixa de concentração que evidencia boa correlação linear entre resposta mensurada (Y, a área do pico ou razão das áreas do fármaco e o padrão interno através do instrumento analítico) e as respectivas concentrações plasmáticas do fármaco (X). A equação da reta $Y=a+bX$, com boa correlação linear entre Y e X, representa a curva de calibração construída diariamente. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r^2) foi de 0,99. A linearidade do método foi determinada utilizando nove concentrações, em triplicata, na faixa compreendida entre 0,8 a 200 µg/mL de cefepime e 0,4 a 100 µg/mL; de vancomicina e imipenem.

Consideraram-se ao menos sete dos nove calibradores para a construção da curva de calibração diária. Plotou-se o valor nominal para cada concentração plasmática de cefepime, vancomicina e imipenem *versus* as respectivas razões das áreas dos picos obtidas para os fármacos e o padrão interno, obtendo-se o coeficiente de correlação linear ($r^2 = 0,99$) e sua

equação respectiva ($Y = a + b X$). Paralelamente, os controles de qualidade internos (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) foram analisados em duplicata, durante cada corrida analítica para garantir a aceitação da mesma. Uma corrida foi considerada aceita quando pelo menos quatro dos seis controles internos mostraram um desvio comparado com o seu valor nominal inferior a 15%. Uma vez aceita a curva de calibração, utilizou-se a equação para a estimativa das concentrações dos três antimicrobianos nas amostras dos pacientes.

1.5.4. ESTUDOS DE RECUPERAÇÃO

A recuperação indica a eficiência do procedimento de purificação das amostras estabelecido no método e indica a quantidade do fármaco obtida após a amostra de plasma ser processada, ou seja, avalia se as condições empregadas no método são adequadas o suficiente para purificar a amostra.

1.5.4.1. RECUPERAÇÃO ABSOLUTA

A recuperação absoluta expressa à recuperação do analito, após adição, purificação seguida da análise quantitativa, em separado do padrão interno, comparando alíquotas extraídas (X%) versus não extraídas (100%). A recuperação absoluta foi determinada utilizando três concentrações (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) em replicadas. Adicionalmente, investigou-se a recuperação absoluta da cefuroxima (padrão interno). O resultado obtido foi expresso em percentagem.

$$\text{Recuperação absoluta (\%)} = \frac{(\text{Área do pico})_{\text{extraída}}}{(\text{Área do pico})_{\text{não extraída}}} \times 100$$

Equação 1

1.5.4.2. RECUPERAÇÃO RELATIVA

A recuperação relativa foi determinada utilizando-se três concentrações dos agentes antimicrobianos (cefepime: 160,80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) adicionadas de padrão interno em replicatas. A recuperação do analito relativamente ao respectivo padrão interno foi expressa em razão de área (RA: pico de cada antimicrobiano/padrão interno) após extração e análise quantitativa. O resultado obtido é expresso em percentagem.

$$\text{Recuperação relativa (\%)} = \frac{\text{RA}_{\text{extraída}}}{\text{RA}_{\text{não extraída}}}$$

Equação 2

1.5.5. EXATIDÃO INTRA E INTER-DIAS

A exatidão do método analítico foi avaliada e expressa também através da determinação do erro sistemático do ensaio (porcentagem de inexatidão), e calculado de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Inexatidão\%} = \frac{\text{Valor obtido} - \text{Valor nominal}}{\text{Valor nominal}} \times 100$$

Equação 3

Estabelecendo-se como aceitáveis valores inferiores a 15% para os CQs, exceto para o limite de quantificação inferior, onde se admite desvios de até 20%.

A porcentagem de inexatidão intra-dias corresponde ao desvio entre o valor nominal da concentração do fármaco na amostra e o valor obtido pelo método analítico na corrida do dia. Foi calculada através da análise de três concentrações em triplicata (cefepime: 160,80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL). Enquanto que a inexatidão inter-dias é avaliada pelo desvio entre o valor nominal da concentração do fármaco na amostra e o valor obtido pelo método analítico em corridas distintas em três dias consecutivos.

1.5.6. PRECISÃO INTRA E INTER-DIAS

A precisão representa reprodutibilidade do método analítico. Foi avaliada através de estudos de precisão intra-dia (mesma corrida cromatográfica) e inter-dias (corridas cromatográficas distintas em dias consecutivos). A precisão intra-dia foi avaliada através da análise de três concentrações em triplicata (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80,40 e 1,6 µg/mL); enquanto que a precisão inter-dias exigiu a análise das concentrações em triplicata, em três dias consecutivos. A precisão foi expressa através de coeficiente de variação percentual (CV%), estabelecendo-se como aceitáveis valores inferiores a 15 % para as concentrações do analito investigadas, de acordo com a fórmula abaixo:

$$CV\% = \frac{DP \times 100}{CMD}$$

Equação 4

No qual:

DP = desvio padrão

CMD = concentração média determinada.

1.5.7. ESTABILIDADE

Para a determinação da estabilidade de cefepime, vancomicina e imipenem no plasma, menos de 15% de variação foi adotado como um critério aceitável para todas as concentrações estudadas. A análise consiste na avaliação da estabilidade:

- Ciclos de descongelamento dos fármacos em matrizes biológicas: amostras de três concentrações dos agentes antimicrobianos (cefepime: 160,80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) foram analisadas em triplicata em três dias consecutivos para a realização dos ciclos um, dois e três de congelamento e descongelamento em matrizes biológicas. As amostras foram congeladas à -80°C e mantidas por 24 horas, sendo então submetidas ao descongelamento à temperatura ambiente. Quando completamente descongeladas, as amostras foram novamente congeladas por 24 horas e assim sucessivamente, até completar os três ciclos, quantificando-se o fármaco nas amostras após o terceiro ciclo. Os resultados foram comparados aos valores nominais.
- Estabilidades de curta duração, para a verificação da estabilidade no tempo e condição de análise, utilizaram-se amostras em triplicata das concentrações (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL). Cada amostra permaneceu a temperatura ambiente por seis horas antes de ser analisada.
- Estabilidade de longa duração utiliza amostras em triplicata para três concentrações (cefepime: 160,80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) mantidas à 80°C, negativos durante 18 meses.

1.5.8. ROBUSTEZ

A robustez do método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicando sua confiança durante o uso normal. Determinou-se a robustez com base na utilização de dois cromatógrafos, e comparando duas colunas analíticas Supelcosil™ LC-18, após análise de 6 replicatas, os resultados foram expressos em função do coeficiente de variação. A influência da variação da temperatura ambiente foi excluída do estudo uma vez que todos os laboratórios possuem ambiente climatizado.

2. RESULTADOS

2.1. PERFIL CROMATOGRÁFICO

Os picos eluídos da coluna cromatográfica foram detectados nos tempos: 9,3 minutos (cefepime), 17,4 minutos (vancomicina), 22,7 minutos (imipenem) e 28,3 minutos para o cefepime (PI). O perfil cromatográfico da determinação de cefepime, vancomicina e imipenem em plasma é ilustrado na Figura 9.

Figura 9 - Perfil cromatográfico dos três agentes antimicrobianos em matrizes biológicas **(A):** Plasma branco com padrão interno [4]; **(B)** Plasma branco com cefepime (0,8 $\mu\text{g/mL}$) [1]; vancomicina (0,4 $\mu\text{g/mL}$) [2] e imipenem (0,4 $\mu\text{g/mL}$) [3]; e PI [4] **(C)** Plasma branco com, cefepime (8 $\mu\text{g/mL}$), vancomicina (4 $\mu\text{g/mL}$) e imipenem (4 $\mu\text{g/mL}$) e PI

2.2. ESPECIFICIDADE E SELETIVIDADE

Avaliou-se a especificidade do método bioanalítico para determinação dos antimicrobianos em matriz biológica através da injeção de extratos de plasma normal lipêmico e hemolisado no sistema cromatográfico. Os componentes endógenos eluídos da coluna cromatográfica não interferiram na análise nas condições descritas acima, uma vez que os picos de componentes endógenos no cromatograma diferiram dos tempos de retenção de cefepime, vancomicina e imipenem e do padrão interno (cefuroxima).

A seletividade do método bioanalítico foi determinada pela análise de plasma branco contendo os diferentes fármacos comumente administrados nos pacientes queimados como: ciprofloxacino, polymixina B, oxacilina, fluconazol, omeprazol, diazepam, dipirona, tramadol, hidroclorotiazida e amitriptilina, e amostras obtidas dos próprios pacientes tratados com os agentes antimicrobianos em estudo e vários outros fármacos, Figura 10. A boa seletividade foi demonstrada, uma vez que nenhum dos picos dos fármacos testados foram coeluídos nos tempos de retenção do cefepime, vancomicina, imipenem o cefuroxima (PI). A hidroclorotiazida e a dipirona foram eluídas na corrida cromatográfica, mas nenhuma interferiu na eluição dos três antimicrobianos investigados, Tabela 1.1. Deste modo, considera-se o método seletivo com base no fato de que vários fármacos comumente prescritos nos pacientes queimados não interferem na quantificação desses antimicrobianos.

Figura 10 - (A) Paciente tratado com cefepime [1] e vancomicina [2] **(B) Paciente** tratado com vancomicina [2] e imipenem [3].

Tabela 1.1 – Fármacos prescritos em associação com vancomicina, imipenem e cefepime – Estudo da especificidade do método analítico por CLAE-UV.

Fármaco	Tempo de retenção (minutos)
Amitriptilina	N.D
Cefepime	9,3
Cefuroxima	28,0
Diazepan	N.D
Dipirona	26,0
Fluconazol	N.D
Hidroclorotiazida	19,0
Imipenem	22,7
Omeprazol	N.D
Oxacilina	N.D
Polimixina B	N.D
Tramadol	N.D
Vancomicina	17,4

N.D: Não detectado no tempo de corrida de 30 minutos.

2.3. LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E LIMITE DE DETECÇÃO

O método desenvolvido mostrou elevada sensibilidade, após diluições sucessivas, foram obtidos os limites de quantificação (LQ) de 0,8 µg/mL para cefepime ; 0,4 µg/mL para vancomicina e imipenem. O limite de detecção (LD) de 0,4 µg/mL para cefepime e 0,2 µg/mL para vancomicina e imipenem, os resultados obtidos do coeficiente de variação, das medias e desvio padrão encontram-se descritos na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 – Limites de quantificação e detecção

PARAMETRO	CEFEPIME	VANCOMICINA	IMIPENEM
LD (CV%)	8,3	8,9	7,1
LQ (CV%)	6,7	7,5	5,9
LD(media±DP)	0,38±0,02	0,17±0,01	0,21±0,01
LQ(media±DP)	0,76±0,04	0,40±0,02	0,42±0,01

Abreviaturas LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão da média.

2.4. LINEARIDADE E CURVA DE CALIBRAÇÃO

À análise dos agentes antimicrobianos mostrou boa linearidade após a análise simultânea no plasma. Os dados relativos à linearidade foram expressos pela média do coeficiente de correlação linear (r^2), intercepto e slope da função linear, com o erro padrão da média (SEM) como segue na Tabela 1.3.

Tabela 1.3 – Linearidade.

PARAMETRO	CEFEPIME	VANCOMICINA	IMIPENEM
Linearidade (µg/mL)	0,8 – 200	0,4-100	0,4-100
Coefficiente de correlação linear	$r^2 = 0,996$	$r^2 = 0,999$	$r^2 = 0,999$
Intercepto	0,0284(0,0011)	0,0296(0,0007)	0,0196(0,0007)
Slope	0,0587(0,0022)	0,0944(0,0039)	0,0841(0,0029)

Intercepto e slope expressos pela media e erro padrão da media (SEM)

Obteve-se boa linearidade conferindo ao método segurança para a determinação dos antimicrobianos, uma vez que as concentrações plasmáticas obtidas ao término da infusão não ultrapassaram o limite superior da faixa investigada.

Evidenciou-se boa correlação linear entre razões de área e as respectivas concentrações dos analitos. Sete calibradores foram considerados para a construção da curva de calibração diária de cada antimicrobiano: 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,3 e 3,12 µg/mL (cefepime) e 100; 50; 25; 12,5; 6,3, 3,2 e 1,6 µg/mL (vancomicina e imipenem). Paralelamente, os controles de qualidade internos alto, médio e baixo (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL; vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) foram analisados. A curva de calibração diária foi aceita a partir dos controles internos analisados em duplicata, com a rejeição de no máximo dois dos seis controles preparados, nunca sendo dois controles da mesma concentração.

As curvas de calibração, Figuras 11, 12 e 13, evidenciam a ótima linearidade para os antimicrobianos investigados, $r^2=0,999$.

Figura 11 - Curva de calibração diária para determinação do cefepime plasmático através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos de cefepime e o PI *versus* as concentrações do cefepime nos calibradores.

Figura 12 - Curva de calibração diária para determinação da vancomicina plasmática através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos de vancomicina e o PI *versus* as concentrações do vancomicina nos calibradores.

Figura 13 - Curva de calibração diária para determinação do imipenem plasmático através de CLAE. Plotaram-se as razões de área dos picos de imipenem e o PI *versus* as concentrações do imipenem nos calibradores.

2.5. PRECISÃO, EXATIDÃO E RECUPERAÇÃO.

Em relação aos estudos de precisão e exatidão intra e inter-dias, o método apresentou coeficientes de variação inferiores aos limites indicados na legislação, Tabela 1.4. A precisão do método analítico foi expressa através do coeficiente de variação percentual e a exatidão foi avaliada em função da “inexatidão percentual”.

Tabela 1.4 – Precisão e exatidão dos antimicrobianos intra e inter-dias.

FARMACO	Concentração Nominal (µg/mL)	Precisão (CV%)		Inexatidão (%)	
		Intra-dias ^a	Inter-dias ^b	Intra-dias ^a	Inter-dias ^b
CEFEPIME	160	0,04 %	0,55 %	0,86 %	1,89 %
	80	0,46 %	1,67 %	1,58 %	2,12 %
	3,2	0,45 %	2,53 %	3,81 %	4,95 %
	Media±DP	0,32±0,24	1,58±0,99	2,08±1,54	2,99±1,70
VANCOMICINA	80	0,99%	1,39%	1,37%	1,27%
	40	2,40%	1,36%	2,39%	2,01%
	1,6	0,91%	1,68%	3,37%	4,79%
	Media±DP	1,43±0,84	1,48±0,18	2,38±1,00	2,69±1,86
IMIPENEM	80	1,36%	1,55%	1,45%	0,55%
	40	1,40%	1,61%	1,27%	1,94%
	1,6	2,18%	1,97%	2,1%	1,85%
	Media±DP	1,65±0,46	1,71±2,23	1,61±0,44	1,45±0,78

Abreviaturas: CV: coeficiente de variação; DP desvio padrão da média.

^a Resultados expressos através da média de três replicatas no dia

^b Resultados expressos através da média de três replicatas em três dias consecutivos

O método mostrou boa recuperação relativa e absoluta para os fármacos através da análise simultânea. As Tabelas 1.5, 1.6 e 1.7 reúnem os parâmetros da validação do método bioanalítico na determinação de cefepime, vancomicina e imipenem em plasma para aplicação no monitoramento de pacientes queimados.

Tabela 1.5 - Recuperação absoluta e relativa do Cefepime.

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADOS	DESVIO PADRÃO RELATIVO %
Recuperação absoluta ^a			
Cefepime 160 µg/mL	%	99,64	±2,92
Cefepime 80 µg/mL	%	98,87	±4,84
Cefepime 3,2 µg/mL	%	97,33	±6,00
Recuperação relativa (cefepime/PI) ^b			
Cefepime 160 µg/mL	%	105,29	±3,34
Cefepime 80 µg/mL	%	104,74	±1,77
Cefepime 3,2 µg/mL	%	102,46	±7,25

Abreviaturas: PI padrão interno, cefuroxima;

^a Resultados expressos através da média de cinco replicatas^b Resultados expressos através da média de cinco replicatas**Tabela 1.6** - Recuperação absoluta e relativa da Vancomicina.

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADOS	DESVIO PADRÃO RELATIVO %
Recuperação absoluta ^a			
Vancomicina 80 µg/mL	%	98,09	±2,23
Vancomicina 40 µg/mL	%	95,36	±3,51
Vancomicina 1,6 µg/mL	%	93,84	±5,01
Recuperação relativa (cefepime/PI) ^b			
Vancomicina 80 µg/mL	%	102,56	±3,78
Vancomicina 40 µg/mL	%	104,09	±4,61
Vancomicina 1,6 µg/mL	%	98,30	±3,59

Abreviaturas: PI padrão interno, cefuroxima;

^a Resultados expressos através da média de cinco replicatas^b Resultados expressos através da média de cinco replicatas

Tabela 1.7 - Recuperação absoluta e relativa do imipenem

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADOS	DESVIO PADRÃO RELATIVO %
Recuperação absoluta ^a			
Imipenem 80 µg/mL	%	99,33	±2,92
Imipenem 40 µg/mL	%	96,06	±3,66
Imipenem 1,6 µg/mL	%	95,35	±3,40
Recuperação relativa (cefepime/PI) ^b			
Imipenem 80 µg/mL	%	103,92	±4,21
Imipenem 40 µg/mL	%	102,66	±3,09
Imipenem 1,6 µg/mL	%	100,97	±5,71

Abreviaturas: PI padrão interno, cefuroxima;

^a Resultados expressos através da média de cinco replicatas

^b Resultados expressos através da média de cinco replicatas

2.6. ESTABILIDADE DOS ANTIMICROBIANOS

Para os estudos de estabilidade dos antimicrobianos em fluídos biológicos adotou-se como critério da aceitação variação inferior a 15%, para todas as concentrações avaliadas. No estudo de estabilidade após ciclos de congelamento de descongelamento, verificou-se que os antimicrobianos se mantiveram estáveis por no mínimo três ciclos congelamento/descongelamento, para três concentrações (cefepime: 160, 80 e 3,2 µg/mL, vancomicina e imipenem: 80, 40 e 1,6 µg/mL) em triplicata com bom coeficiente de variação Tabela 1.8.

Tabela 1.8 - Estabilidade dos antimicrobianos após 3 ciclos de congelamento (n=3)

FARMACO	Nominal	Obtido ^a 1º Ciclo		Obtido ^a 2º Ciclo		Obtido ^a 3º Ciclo	
		µg/mL	(%)	µg/mL	(%)	µg/mL	(%)
CEFEPIME	3,2	3,00	7,39	3,09	8,91	3,01	7,63
	80	79,23	1,73	78,55	3,57	78,62	3,37
	160	159,45	2,11	158,55	1,27	158,35	1,31
VANCOMICINA	1,6	1,45	9,30	1,50	8,47	1,54	5,78
	40	40,30	3,85	38,49	5,36	39,67	5,91
	80	79,27	3,09	77,54	2,52	78,75	2,64
IMIPENEM	1,6	1,55	9,2	1,44	4,44	1,34	5,48
	40	39,49	5,97	38,87	3,91	39,48	5,18
	80	79,78	3,73	78,83	4,02	78,75	2,34

^a Resultados expressos através da média de triplicatas e coeficiente de variação (%)

No estudo de estabilidade após armazenagem de longa duração (congelamento durante 18 meses) e de curta duração (nas condições de análise), os resultados obtidos evidenciam uma boa estabilidade para os três fármacos na matriz biológica, Tabela 1.9

Tabela 1.9- Estabilidade de curta e longa duração agentes antimicrobianos em plasma determinados através de CLAE-UV (n=3)

FARMACO	Nominal	Obtido ^a		Obtido ^a	
		Curta duração/5 horas		Longa duração/18 meses	
	µg/mL	µg/mL	(%)	µg/mL	(%)
CEFEPIME	3,2	3,06	7,63	3,09	8,91
	80	78,46	3,97	79,56	4,64
	160	158,81	2,02	159,04	2,19
VANCOMICINA	1,6	1,53	9,93	1,47	6,84
	40	39,46	4,18	38,46	8,35
	80	79,15	1,50	78,15	2,41
IMIPENEM	1,6	1,46	7,28	1,53	9,71
	40	39,08	5,89	39,13	7,37
	80	78,58	2,33	79,17	1,76

^a Resultados expressos através da média de triplicatas e coeficiente de variação (%)

2.7. ROBUSTEZ

A robustez do método foi avaliada utilizando três concentrações plasmáticas (baixa, média e alta) para cada análise. Compararam-se as análises realizadas em dois sistemas cromatográficos e registraram-se coeficientes de variação na faixa compreendida entre 3,04% e 9,31%, além disso, registrou-se um coeficiente de variação entre 2,37% e 8,27% (CV%) pela comparação de duas colunas analíticas Supelcosil™ LC-18. Considera-se então que o método bioanalítico desenvolvido para a determinação simultânea de vancomicina, cefepime e imipenem em plasma mostra-se robusto nas condições descritas, Tabela 1.10.

Tabela 1.10 - Robustez do método analítico

FARMACO	Concentração Nominal	Sistemas cromatográficos	Colunas C18
	$\mu\text{g/mL}$	%	%
CEFEPIME	3,2	8,51	5,81
	80	5,81	2,88
	160	6,47	4,25
VANCOMICINA	1,6	7,97	6,29
	40	4,48	4,88
	80	3,04	2,37
IMIPENEM	1,6	9,31	8,27
	40	3,46	4,21
	80	6,36	2,94

^a Resultados expressos em função de coeficiente de variação

Resumindo, o método analítico CLAE-UV mostrou-se adequado principalmente pela sensibilidade e seletividade apresentadas na determinação de cefepime, vancomicina e imipenem em plasma, utilizando uma coluna de fase reversa C18 protegida por pré-coluna C18, fase móvel binária a baixo fluxo (0,8 mL/min) numa corrida de 30 minutos que permitiu a eluição de quatro antimicrobianos, incluindo o padrão interno. Ressalta-se que apenas 200 μL de amostras biológicas foram necessários para realizar o procedimento analítico.

3. DISCUSSÃO

Reportaram-se nos últimos 25 anos, diversos métodos analíticos para determinação de antimicrobianos em matrizes biológicas (sangue, urina bile e líquido) por CLAE-UV, entretanto a análise simultânea dos antimicrobianos cefepime, vancomicina e imipenem em plasma e aplicação no monitoramento de pacientes no controle da sepse, não foi descrito anteriormente.

Alguns procedimentos cromatográficos complexos foram reportados anteriormente para as análises cromatográficas desses antimicrobianos em matrizes biológicas; neles exigiu-se forno para a coluna analítica em compartimento termostaticado com aquecimento entre 35-40°C (CALAHORRA et al., 1999; CHERTI et al., 2001). Apesar da eluição dos componentes ser acelerada pelo aquecimento, deve-se considerar também que a vida útil da coluna seja reduzida substancialmente pelo uso de forno no CLAE. Adicionalmente, deve-se considerar ainda o problema da instabilidade desses antimicrobianos durante as análises cromatográficas, como a relatada para a vancomicina de conhecida degradação a CDP-1 em temperaturas a partir de 37°C Harris e colaboradores, (1983). Dentre os detectores utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência para análise de antimicrobianos em matrizes biológicas, a escolha prevalece para o detector universal na região do ultravioleta/UV (BACKES et al., 1998; BARBHAIYA et al., 1987; BREILH et al., 1990; CALAHORRA et al., 1999; CAPDEVILLA et al., 1997; CHANG et al., 2001; CHERTI et al., 2001; ELKHAILI et al., 1997; FARIN et al., 1998; FURATA et al., 2000; OCOÑA et al., 2004; GREEN et al., 1987; HOSOTSUBO et al., 1989; ISLA et al., 2005; JEHL et al., 1985; VALASSIS et al., 1999) relativamente ao detector eletroquímico reportado por Favetta e colaboradores (2001).

Relativamente ao sistema cromatográfico, considera-se que em todos os trabalhos se utilizam colunas de fase reversa C18 e fase móvel (binária, terciária e quaternária) em sistema isocrático de eluição. Alguns autores optaram pelo emprego da cromatografia de par iônico (PIC) pela adição de componentes específicos à fase móvel tais como ácido octanosulfônico (BARBHAIYA et al., 1987), aminas orgânicas como a n-octilamina para redução da cauda do analito (OCOÑA et al., 2004). Segundo Valassis e colaboradores, (1999) além do custo adicional destes produtos requeridos na preparação da fase móvel outras desvantagens podem ser relatadas tais como a redução da vida útil da coluna, prejuízo da robustez, aparecimento de picos fantasmas e ruídos na linha de base. Cumpre destacar que a adição de alquil-sulfonatos e aminas orgânicas não são essenciais à determinação de cefepime em extratos de plasma,

uma vez que não alteram de forma significativa a simetria do pico. Por outro lado, reportou-se que a simetria dos picos e a melhoria na sensibilidade podem ser obtidas na análise se for aumentada a proporção de metanol na mistura de acetonitrila e tampão fosfato (BREILH et al., 1990; VALASSIS et al., 1999).

O método descrito no presente estudo descreve fase móvel binária constituída por tampão acetato 0,075 M pH 5.0 e acetonitrila (92:8,v/v) em baixo fluxo (0,8 mL/min); essas condições se mostraram fundamentais na garantia da alta sensibilidade e seletividade adequadas na análise simultânea da vancomicina, imipenem e cefepime, utilizando a cefuroxima como padrão interno. Registrou-se ainda boa simetria para todos os picos eluídos no perfil cromatográfico incluindo o padrão interno. Finalmente, a corrida analítica de 30 minutos contribuiu para a realização de análise de grande número de amostras e facilitará obviamente o monitoramento desses antimicrobianos no plasma dos pacientes.

As análises desses antimicrobianos em matrizes biológicas tais como soro ou plasma (BARBHAIYA, et al., 1986; BREILH et al., 1990; ELKHAILI et al., 1997; IP et al., 1998; ISLA et al., 2005; JEHL et al., 1985; VALASSIS et al., 1999), urina (OCOÑA et al., 2004) ou bile (CHANG et al., 2001) foram descritas anteriormente para o cefepime ou para a vancomicina (GREEN et al., 1987; FAVETTA et al., 2001) ou ainda para o imipenem (GRAVALLESE et al., 1984; CAPDEVILLA et al., 1997).

Na Clínica, a otimização da terapia antimicrobiana deve ser realizada com base no monitoramento de antimicrobianos no plasma dos pacientes queimados de internação prolongada na UTI. Tal conduta requer coleta de número relativamente grande de amostras de sangue no seguimento farmacoterapêutico de cada paciente com sepse na UTI, uma vez que os mesmos apresentam área reduzida para a cateterização da veia, limitação da coleta de amostras sangüíneas e acesso venoso reduzido que prejudicam o seguimento do tratamento com esses antimicrobianos.

Conseqüentemente, um requisito importante a ser considerado é o volume requerido na análise quantitativa de fármacos em matrizes biológicas, fator considerado decisivo na escolha do método bioanalítico através de CLAE-UV. Reportaram-se volumes reduzidos de plasma para quantificação isolada da vancomicina (BACKES et al., 1998; FAVETTA et al., 2001; HOSOTSUBO et al., 1989) ou do cefepime (VALASSIS et al., 1999), ou ainda do imipenem (CAPDEVILLA et al., 1997); o método aqui proposto foi validado utilizando também volume reduzido de plasma, e apenas 200 µL da matriz biológica foram requeridos na análise simultânea de vancomicina, imipenem e cefepime para o monitoramento

farmacoterapêutico. Por outro lado, relativamente aos métodos descritos anteriormente, alguns métodos utilizaram maiores volumes de plasma para a quantificação isolada de vancomicina 500 μ L (FARIN et al., 1998) ou de cefepime 500 μ L (BARBHAIYA et al., 1987; CHEUNG et al., 1998; CALAHORRA et al., 1999; CHERTI et al., 2001; ISLA et al., 2005).

Com relação à preparação das matrizes biológicas para obtenção dos extratos purificados de plasma contendo cefepime, na maioria dos métodos de análise optou-se pela precipitação de proteínas com acetonitrila ou ainda com mistura de acetonitrila e ácido tricloroacético ou então acetonitrila e ácido perclórico (BARBHAIYA et al., 1986; CALAHORRA et al., 1999; CHERTI et al., 2001; VALASSIS et al., 1999). Ressalta-se que no presente estudo a precipitação das proteínas com acetonitrila forneceu ótima recuperação para os analitos em estudo (cefepime, a vancomicina e o imipenem) pela comparação com os resultados reportados anteriormente (BARBHAIYA et al., 1986; HOSOTSUBO et al., 1989; IP et al., 1998; CALAHORRA et al., 1999).

Adicionalmente, com relação à vancomicina, devido à alta hidrossolubilidade do fármaco função da alta polaridade, Jehl e colaboradores (1985) reportaram um aumento na recuperação do analito pela adição de álcool isopropílico à acetonitrila (JEHL et al., 1985). A desvantagem desse procedimento frente à vancomicina eluída do sistema cromatográfica é o aumento proporcional na recuperação do analito e dos componentes endógenos que obviamente reduzem a especificidade do método analítico.

Previamente a precipitação de proteínas com acetonitrila, os solventes clorados como diclorometano ou clorofórmio podem ser também utilizados para a lavagem do plasma e remoção de componentes apolares lipofílicos, melhorando a especificidade do método de determinação no caso da vancomicina (JEHL et al., 1985) ou do cefepime (BARBHAIYA et al., 1986; VALASSIS et al., 1999; CALAHORRA et al., 1999). Apesar de a acetonitrila ser o agente precipitante preferencial, o metanol também pode ser utilizado resultando; entretanto um extrato orgânico mais impuro foi obtido, uma vez que o metanol é agente precipitante menos efetivo que a acetonitrila (FAVETTA et al., 2001).

Outro procedimento muito empregado na purificação das matrizes biológicas, previamente a realização da análise por cromatografia líquida, é a extração de fase sólida reportada anteriormente para a vancomicina (GREEN et al., 1987; FARIN et al., 1998; BACKES et al., 1998). A desvantagem de sua utilização é o alto custo, o que limita sua aplicação na rotina de monitoramento dos antimicrobianos no plasma. Apesar da boa precisão

utilizando cartuchos Bond-Elute, os métodos descritos por Green et al., (1987) e Backes et al., (1998) apresentaram baixa sensibilidade. Além disso, para altas concentrações do analito no plasma, a capacidade dos cartuchos de forma geral é excedida, fato esse que reduziu consideravelmente a linearidade da vancomicina, justificando-se as duas faixas reportadas por aqueles autores.

Alguns trabalhos ainda reportam a obtenção de extratos purificados de plasma contendo a vancomicina e o cefepime através de procedimento de diálise em membrana de acetato de celulose em sistema automatizado (CHANG et al., 2001; FURATA et al., 2000). Entretanto, estes métodos além de mais complexos e de maior custo evidenciaram prejuízo na sensibilidade e na linearidade.

Com relação à validação de métodos bioanalíticos empregando CLAE-UV, os trabalhos publicados anteriormente descrevem procedimentos que evidenciam baixa linearidade e problemas relacionados à seletividade.

Reportou-se linearidade até 50 µg/mL na determinação isolada de cefepime, (BARBHAIYA et al., 1986; CHANG et al., 2001; ELKHAILI et al., 1997; VALASSIS et al., 1999) ; ou até 100 µg/mL (CHERTI et al., 2001; ISLA et al., 2005; IP et al., 1998) insuficiente para o monitoramento plasmático do analito e seguimento farmacoterapêutico, uma vez a faixa terapêutica varia entre 10-140 µg/mL.

Hosotsubo et al., (1989), relataram curva de calibração com duas linearidades na quantificação da vancomicina no plasma, fato este que na vigência de insuficiência renal, cardíaca ou ambas no paciente em sepse compromete a estimativa de altas concentrações do analito no plasma.

Por outro lado, boa linearidade foi reportada anteriormente na determinação isolada de cefepime (CALAHORRA et al., 1999; OCOÑA et al., 2004) ou para a vancomicina (GREENE et al., 1987; FARIN et al., 1998) ou ainda para o imipenem (CAPDEVILLA et al., 1997; MYERS et al., 1984).

Ressalta-se que com vistas ao monitoramento farmacoterapêutico dos pacientes queimados, boa faixa de linearidade e adequada sensibilidade (limite de detecção: LD) foram obtidas no presente estudo pela análise simultânea de cefepime (0,8 a 200 µg/mL, LD: 0,4 µg/mL), vancomicina e imipenem (0,4 a 100 µg/mL, LD: 0,4 µg/mL) em plasma.

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram-se ainda superiores aqueles reportados anteriormente para vancomicina (FAVETTA et al., 2001; FURATA et al., 2000;

GREENE et al., 1987; JEHL et al., 1985) para o cefepime (IP et al., 1998; OCOÑA et al., 2004) e para o imipenem (CARLUCCI et al., 1990; GRAVALLESE et al., 1984; MYERS et al., 1984).

Com relação aos parâmetros de validação considerados no presente estudo, cumpre ressaltar que os dados obtidos apresentaram linearidade, sensibilidade, recuperação, precisão e exatidão suficientes para a análise simultânea de vancomicina, cefepime e imipenem.

Os resultados obtidos descrevem ainda boa recuperação absoluta e relativa, superiores aos dados reportados por Farin et al., (1998) que foram de 92%. Por outro lado, aqueles autores descrevem análise cromatográfica em gradiente requerida para análise isolada da vancomicina plasmática, enquanto o presente estudo descreve a eluição isocrática de três antimicrobianos (vancomicina, cefepime e imipenem) num perfil de análise simultânea de quatro fármacos, considerando-se ainda a cefuroxima, escolhida como padrão interno.

Além disso, os estudos de robustez e estabilidade foram incluídos para o enriquecimento do estudo de validação, uma vez que os resultados são muito escassos na literatura. Uma das vantagens desse procedimento analítico consiste na determinação de cefepime, vancomicina e imipenem numa única corrida, pequeno volume de plasma requerido, utilização de coluna de fase reversa e fase móvel binária como sistema cromatográfico e eluição isocrática. O curto tempo de corrida permite a aplicação da metodologia em estudos clínicos incluindo monitoramento terapêutico e estudos farmacocinéticos em pacientes queimados.

4. CONCLUSÃO

Considera-se que o método bioanalítico proposto apresenta relativo baixo custo, simplicidade e fácil execução, vantajoso em termos de linearidade, recuperação dos analitos, robustez, seletividade e sensibilidade, além de boa estabilidade, precisão e exatidão aceitáveis. Finalmente, comparado aos demais procedimentos reportados previamente, o método analítico em CLAE-UV é adequado para o monitoramento desses agentes antimicrobianos para o seguimento farmacoterapêutico e aplicação em farmacocinética clínica.

**MONITORAMENTO TERAPÊUTICO E MODELAGEM FARMACOCINÉTICA DE
VANCOMICINA, CEFEPIME E IMIPENEM EM PACIENTES QUEIMADOS**

INTRODUÇÃO

O paciente em estado crítico é aquele que apresenta um grau de comprometimento à saúde podendo levá-lo a morte como nos casos de poli-traumatismo e trauma encefálico grave, cirurgia de risco em pacientes geriátricos, estado avançado da doença degenerativa e nas infecções refratárias à terapia antimicrobiana. Adicionalmente, devem-se considerar ainda os problemas relacionados à doença descompensada, como nos casos de insuficiência cardíaca e respiratória, em que o grau de anormalidade é grave e pouco responsivo à terapêutica convencional. Quando estes pacientes são admitidos nas unidades de terapia intensiva (UTIs), existe o risco de desenvolver infecções nosocomiais severas durante o período de internação; assim, os antimicrobianos são prescritos de forma geral aos pacientes de UTI para o controle dessas infecções (PATERSON, 2003; VINCENT et al., 1995; WEVER; RAASCH ; RUTALA , 1999).

Ressalta-se que o uso inapropriado desses agentes pode causar a falha terapêutica e desenvolvimento de resistência em consequência da longa exposição que contribui para a colonização e a propagação dos patógenos resistentes naquelas unidades (EGGIMANN; PITTET, 2001).

A utilização das concentrações plasmáticas dos antimicrobianos representou avanço importante na terapêutica para o controle das infecções graves; desta forma, pela individualização de terapia, garantiram-se a eficácia e o baixo risco de toxicidade desses agentes. Lamentavelmente, essa prática rotineira nos pacientes em estado crítico está limitada a alguns poucos antimicrobianos aminoglicosídeos e glicopeptídeos em número reduzido de hospitais.

Entretanto, o controle terapêutico desses agentes é efetivo e farmacoeconomicamente viável por proporcionar a individualização da terapia, a melhoria da qualidade de vida e a redução dos custos globais incluindo medicação, tempo de internação e risco de infecção nas diferentes fases da internação do paciente.

Os pacientes em estado crítico podem apresentar alteração da farmacocinética dos antimicrobianos com relação à extensão da distribuição e/ou à eliminação pela modificação da biotransformação e/ou excreção; então, a falha terapêutica ou a toxicidade desses agentes pode ocorrer após a utilização do regime de dose empírica (BOUCHER; WORD; SWANSON, 2006; PEA; FURLANUT, 2001).

A injúria térmica resulta em mudanças fisiopatológicas que afetam a distribuição e eliminação dos antimicrobianos no paciente queimado (BONAPACE et al., 1999). Essa

injúria térmica associada à condição fisiopatológica do paciente altera significativamente as características cinéticas e dinâmicas dos antimicrobianos (BLANCHET, 2008). Além disso, os pacientes queimados com infecção recebem grande número de medicamentos, especificamente antimicrobianos de amplo espectro no controle da infecção nosocomial.

A farmacocinética dos antimicrobianos está modificada no paciente queimado em decorrência da alteração na função renal, débito cardíaco, ligação às proteínas plasmáticas, volume plasmático e perda do fármaco através da queimadura. Os pacientes com queimaduras graves, geralmente necessitam de altas doses de antimicrobianos para manter as concentrações efetivas; nestes casos é difícil se prever a dose necessária para garantir a eficácia com base na disposição cinética reportada para pacientes não queimados (STEER, 1996).

Qualquer estado de doença (cardiovascular, renal, hepática, *diabetes mellitus*) ou mesmo situações relacionadas à perfusão renal inadequada durante a ressuscitação, presença de sepse, e ainda, pela administração de agentes vasoativos de conhecida toxicidade renal ou hepática irão alterar a disposição cinética dos fármacos nos pacientes queimados em estado crítico. Por outro lado, também devem ser considerados os fatores que afetam o *clearance* da creatinina, uma vez que os aminoglicosídeos, β -lactâmicos e os glicopeptídeos são altamente hidrofílicos, e fundamentalmente excretados através da filtração glomerular (WEINBREN et al., 1999).

Atualmente, a efetividade e a prevenção da multi-resistência tem sido investigadas pela relação entre a farmacocinética (PK) e a farmacodinâmica (PD) através da modelagem PK-PD, ferramenta de relevância e contribuição nesta área de investigação (BLONDEAU et al., 2004; THOMAS et al., 1998).

Os microorganismos mais comumente reportados como causadores das infecções nas unidades de queimados são *Staphylococcus aureus*, sensíveis ou não a meticilina, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* e *Acinetobacter Baumannii*. (SOARES DE MACEDO; SANTOS, 2006). Atualmente, a farmacoterapia antimicrobiana de escolha recomenda a utilização da vancomicina associada ao imipenem ou ao cefepime para os pacientes queimados portadores de sepse.

A vacomicina é o agente de primeira escolha no tratamento de infecções por *S. aureus* meticilina resistente, MRSA (LEVINE, 2006). Cabe ressaltar que as infecções causadas por MRSA são as mais comuns entre os pacientes queimados nas UTIs, sendo indicada a

administração da vancomicina no controle da colonização, transmissão e da resistência destes microorganismos. Além disso, diversos estudos têm demonstrado a eficácia e segurança desse agente quando administrado a esses pacientes (DE LA CAL, 2004; SILVESTRI, 2002).

Uma vez que nos pacientes queimados, a incidência de infecções é alta, quer por bactérias gram-positivas ou gram-negativas, recomenda-se o cefepime nas infecções por *Pseudomonas aeruginosa* e principalmente pela *Klebsiella pneumoniae*; o imipenem tem se mostrado efetivo nas infecções por *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Finalmente, dada a complexidade do paciente queimado das UTIs e considerando-se que a literatura é escassa relativamente à farmacocinética de antimicrobianos nesses pacientes, o presente estudo reporta o monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina, cefepime e imipenem após utilização do regime empírico. Adicionalmente, investigou-se a farmacocinética desses agentes de forma a justificar a necessidade de mudança do regime para a garantia de terapêutica segura e eficaz.

OBJETIVOS

- Monitorar as concentrações plasmáticas, da vancomicina e cefepime, nos pacientes queimados em fase de lesão ativa, obedecendo ao protocolo de dose empírica de administração desses antimicrobianos através da infusão intermitente.
- Monitorar as concentrações plasmáticas, da vancomicina e imipenem, nos pacientes queimados em fase de lesão ativa, obedecendo ao protocolo de dose empírica desses antimicrobianos através da infusão intermitente.
- Realizar a modelagem farmacocinética desses três antimicrobianos nos pacientes queimados em fase de lesão ativa, obedecendo ao protocolo de dose empírica recomendado internacionalmente para o tratamento da sepse.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1. ETAPA CLÍNICA

1.1.1. LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Hospital Geral “Dr. José Pangella” de Vila Penteado, localizado na região noroeste da cidade de São Paulo, Brasil.

1.1.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Protocolo de Pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) das unidades participantes. O presente protocolo recebeu auxílio à pesquisa no período (FAPESP nº 07/55770-4).

1.1.3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi previamente aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa das Instituições envolvidas no presente estudo (ANEXO C). Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram incluídos no estudo. O termo de consentimento foi assinado pelo paciente/ou seu representante legal e pelo clínico responsável, sendo uma via arquivada sob a guarda desse último.

1.1.4. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DOS PACIENTES

Incluíram-se pacientes queimados portadores de sepse internados na unidade de queimados do hospital no período compreendido entre outubro/2006 a maio/2008, os quais satisfizeram os critérios de elegibilidade descritos a seguir.

1.1.4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes de ambos os sexos, adultos, com idade entre 18 e 85 anos;
- Pacientes queimados com sinais e sintomas clínicos compatíveis com sepse, com necessidade de antimicrobiano sistêmico em associação (vancomicina e imipenem ou vancomicina e cefepime); paciente apresentando no mínimo dois dos seguintes sinais e sintomas:
 - Febre ($>38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia (temperatura axilar /central $<35^{\circ}\text{C}$).
 - Frequência cardíaca acima de 90bpm.
 - Frequência respiratória acima de 20 incursões respiratórias por minuto.
 - Condição mental alterada.
 - Íleo adinâmico ou com obstrução.
 - Intolerância à glicose.
 - Aumento parcial da espessura da lesão ou necrose total, mudança na coloração da lesão para o vermelho escuro, marrom ou violáceo.
 - Descoloração hemorrágica de tecido subescara.
 - Degeneração de tecido de granulação ou formação de nova escara.
 - Edema em pele não queimada à margem da ferida.
 - Pigmento verde visível em gordura subcutânea.
 - Lesão nodular necrótica em pele não queimada.
 - Separação rápida, não esperada da escara.
 - Lesões vesiculares na cicatriz ou queimadura com cicatrização parcial da espessura.
 - Finalmente suspeita de infecção a critério do médico responsável.
- Pacientes com função renal dentro dos limites da normalidade, avaliada através do *clearance* de creatinina estimado pelo nomograma de Cockcroft e Gault (COCKCROFT & GAULT, 1976).
- Capacidade de ler, entender e fornecer o TCLE. Caso o paciente não possa fornecer o termo, um representante legal deve assinar o TCLE.

1.1.4.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Paciente gravemente neutropênico (contagem absoluta de neutrófilos $< 500/\text{mm}^3$) ou paciente apresentando neutropenia grave no período de estudo devido à quimioterapia prévia ou planejada ou ainda no paciente com HIV apresentando contagem de CD4 < 200 nos últimos seis meses.
- Mulheres grávidas ou amamentando.
- Admissão anterior em estudo clínico.
- Hipersensibilidade conhecida ou intolerância aos medicamentos em estudo ou aos excipientes de sua formulação.

1.1.5. CASUÍSTICA

O estudo realizado refere-se ao monitoramento terapêutico de vinte e dois pacientes queimados com sepse que receberam infusão intermitente de antimicrobianos sistêmicos (cefepime ou imipenem, e vancomicina).

Os pacientes foram alocados de acordo com a ordem de inclusão no estudo (seqüencial crescente) sendo distribuídos em dois grupos em função do tipo de associação vancomicina e cefepime (Grupo A: #2, #3, #4, #7, #9, #11, #13, #18, #20 e #21) ou associação vancomicina e imipenem (Grupo B: #1, #5, #6, #8, #10, #12, #14, #15, #16, #17, #19 e #22).

As características das populações investigadas são descritas abaixo, e os parâmetros foram expressos através da média e desvio padrão da média:

- GRUPO A foi constituído por pacientes do sexo feminino (6/10) e do masculino (4/10), 30 ± 11 anos de idade, $68,7 \pm 13,1$ kg de peso corporal, $25,2 \pm 5,4$ Kg/m^2 de índice de massa corpórea e apresentando $35,9 \pm 20,3\%$ de superfície corporal queimada.
- GRUPO B foi constituído por pacientes do sexo feminino (3/12) e do masculino (9/12), 34 ± 13 anos de idade, $71,5 \pm 16,3$ kg de peso corporal, $24,8 \pm 5,2$ Kg/m^2 de índice de massa corpórea e apresentando $27,2 \pm 17,2\%$ de superfície corporal queimada.

As características individuais dos pacientes investigados para os Grupos A e B são descritas respectivamente no Quadro 3 e 4.

Quadro 3 - Características dos pacientes do Grupo A, dados individuais, (n = 10).

Paciente #	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ (%)
#2	F	25	55	1,68	19,5	1,6	45
#3	F	18	70	1,65	25,7	1,8	85
#4	F	46	76	1,60	29,7	1,8	33
#7	M	21	78	1,80	24,1	2,0	48
#9	M	18	48	1,76	15,5	1,6	30
#11	M	43	57	1,59	22,6	1,6	35
#13	M	38	73	1,54	30,8	1,7	27
#18	F	45	73	1,56	30,0	1,7	20
#20	F	23	64	1,70	22,2	1,6	23
#21	F	27	93	1,71	31,8	2,1	13

Abreviaturas: M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea SC: superfície corporal, SCQ: superfície corporal queimada.

Quadro 4 - Características dos pacientes do Grupo B, dados individuais, (n = 12).

Paciente #	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ (%)
#1	M	47	56	1,68	19,8	1,6	40
#5	F	21	58	1,60	22,7	1,6	47
#6	M	18	65	1,70	22,5	1,8	48
#8	M	63	70	1,74	23,1	1,8	20
#10	M	37	71	1,72	24,0	1,8	10
#12	M	36	55	1,75	18,0	1,7	40
#14	F	27	89	1,58	35,7	1,9	52
#15	F	24	50	1,55	20,8	1,5	23
#16	M	44	73	1,72	24,7	1,9	20
#17	M	43	85	1,64	31,6	1,9	6
#19	M	24	81	1,80	25,0	2,0	13
#22	M	24	105	1,87	30,0	2,3	7

Abreviaturas: M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea SC: superfície corporal, SCQ: superfície corporal queimada.

A função renal foi avaliada através da creatinina sérica (SCr: 0,6 e 1,4 mg/dL valor de referência, faixa normal); o *clearance* de creatinina (mL/min) foi estimado a partir da creatinina sérica, equação abaixo referida, utilizando o nomograma de Cockcroft e Gault (COCKCROFT & GAULT, 1976).

$$\text{Clearance creatinina} = \frac{(140 - \text{idade}) \times \text{Peso}(kg)}{72 \times \text{Cr}(mg / dL)}$$

No caso das mulheres, empregou-se a equação com fator de correção de 0,85, pois as mesmas apresentam uma menor produção de creatinina devido à sua massa muscular reduzida.

Os Quadros 5 e 6 reúnem os dados individuais de creatinina sérica, *clearance* de creatinina a albumina sérica dos pacientes do grupo A e B respectivamente.

Quadro 5 - Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados no Grupo A, (n=10).

Paciente #	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min. 1,73m ²)
#2F	1,1	0,4	199,4
#3F	1,0	0,5	197,1
#4F	2,4	0,4	203,8
#7M	2,4	0,6	187,7
#9M	2,1	0,3	296,8
#11M	1,9	0,6	140,1
#13M	1,9	0,9	116,3
#18F	1,8	0,7	117,0
#20F	3,3	0,8	117,0
#21F	1,9	0,5	209,4

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL), Salb:albumina sérica (1-4g/dL), *clearance* da creatinina: homens/mulheres: 85-125 / 75-115 mL/min 1,73m².

Quadro 6 - Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados no Grupo B, (n=12).

Paciente #	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min. 1,73m²)
#1M	3,4	0,5	153,5
#5F	3,3	0,5	176,2
#6M	3,2	0,6	181,5
#8M	1,5	0,6	117,3
#10M	2,7	0,9	106,1
#12M	1,4	0,7	117,6
#14/F	1,7	0,7	154,4
#15/F	2,3	0,5	161,2
#16M	2,0	0,8	113,2
#17M	2,3	0,7	153,6
#19M	2,2	0,8	140,4
#22M	2,5	0,9	141,4

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL), Salb:albumina sérica (1-4g/dL), *clearance* da creatinina: homens/mulheres: 85-125 / 75-115 mL/min 1,73m².

1.1.6. PROTOCOLO CLÍNICO

Investigaram-se os pacientes queimados portadores sepse admitidos na Unidade no período de estudo compreendido entre outubro/2006 a maio/2008, que receberam medicação intravenosa, segundo o protocolo recomendado para o controle da sepse, Quadro 7.

Quadro 7 - Regime de dose recomendado para administração dos antimicrobianos vancomicina, cefepime e imipenem no controle da sepse (Micromedex, 2006).

ANTIMICROBIANO (protocolo de coleta)	REGIME POSOLÓGICO		
	Dose diária	Infusão rápida	Intervalo entre doses
VANCOMICINA <i>1^a, 2^a, 4^a, 6^a, 8^a, 10^a, 12^a h</i>	2g	1g (2x ao dia) 1h	12/12 horas
CEFEPIME <i>0,25^a, 1^a, 2^a, 4^a, 6^a, 8^a h</i>	6g	2g (3x ao dia) 0,25 h	8/8 horas
IMIPENEM <i>0,25^a, 1^a, 2^a, 3^a, 4^a, 6^a h</i>	4g	1g (4x ao dia) 0,25 h	6/6 horas

Realizaram-se seis a nove coletas seriadas de sangue (2 mL cada) de acordo com o antimicrobiano considerado, através de cateter venoso, para a determinação das concentrações plasmáticas no intervalo de dose, conforme referido no Quadro 7. O pico foi obtido pela coleta ao término da infusão da medicação, e o vale pela coleta imediatamente antes da infusão subsequente. As coletas foram realizadas na unidade de queimados por profissional treinado da enfermagem.

O volume de sangue coletado na seringa foi transferido para tubos contendo EDTA sódico (BD, São Paulo, SP, Brasil), seguido de homogeneização, três vezes por inversão. O sangue foi centrifugado no laboratório clínico do hospital (3000 rpm, 30 minutos), volumes de 500 µL de plasma foram transferidos para tubos de Eppendorf (2 mL) contendo 250 µL de solução estabilizante ácido 3 N-morfolinopropano sulfônico a 10% (MOPS). Após o procedimento de estabilização das matrizes biológicas, os tubos foram acondicionados em caixas plásticas devidamente identificadas em isopor contendo placas de *GEL ICE* até o envio para a realização da Etapa Analítica. Nos Laboratórios de Farmacocinética Clínica, do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF USP), as matrizes biológicas congeladas foram armazenadas em congelador (-80° C) até a realização do ensaio.

1.2. ETAPA ANALÍTICA

A quantificação dos antimicrobianos nas amostras de plasma dos pacientes foi realizada através do método analítico de quantificação de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-UV), desenvolvido nos Laboratórios de Farmacocinética Clínica, FCF USP, já descrito em detalhes no CAPÍTULO I reportado por LÓPEZ *et al*, J.Chromatogr B. 2007.

1.3. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA

Aplicou-se o modelo aberto de um compartimento, considerando-se a transformação logarítmica das concentrações plasmáticas (C) obtidas em função do tempo (T) após administração intravenosa do fármaco em regime de doses múltiplas, através da utilização do programa *PK Solutions* versão 2.0 *Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA. Estimaram-se as constantes farmacocinéticas modelo-dependentes (constante de velocidade de eliminação e meia-vida biológica) e as modelo-independentes (depuração plasmática e volume aparente de distribuição) a partir da área sob a curva integrada no intervalo de dose, conforme descrito no Quadro 8.

A meia-vida biológica $t_{(1/2\beta)}$, estimada na fase terminal da curva de decaimento, é o tempo necessário para a redução da concentração plasmática em 50% na fase de eliminação. A constante da velocidade de eliminação (k_{el}) é definida a partir da inclinação da reta de eliminação, e a equação abaixo que permite correlacionar esses dois parâmetros do processo de eliminação. Após administração intravascular de cada antimicrobiano investigado, a depuração plasmática (Cl_T) foi estimada a partir da razão entre a dose infundida e a área sobre a curva integrada no intervalo de dose (ASC_{τ}^{SS}) considerando-se as concentrações plasmáticas obtidas no estado de equilíbrio. A distribuição foi estimada a partir do volume aparente que expressa à extensão da distribuição, uma vez que a velocidade do processo alfa não foi determinada no modelo utilizado. O volume aparente de distribuição (Vd) foi estimado através da razão entre a depuração plasmática e a constante de velocidade de eliminação (β).

Quadro 8 – Parâmetros farmacocinéticos, definições, unidades e equações.

PARÂMETRO	DEFINIÇÃO	UNIDADE	EQUAÇÃO
$t_{(1/2\beta)}$	Meia vida biológica	h	$0,693 / K_{el}$
β	Constante de velocidade de eliminação rápida	h^{-1}	$(\ln C_1 - \ln C_2) / \Delta t$
AUC_{τ}^{ss}	Área sob a curva período, integração ponto a ponto no intervalo de dose	$\mu g/mL.h$	Trapezóides (τ)
CL_T	Depuração plasmática	$mL/min.kg$	$Dose / AUC_{\tau}^{ss}$
V_d	Volume aparente de distribuição	L/kg	CL_T / β

DiPiro JT Spruill WJ, Blouin R.A, Pruemer JM, *Concept in clinical pharmacokinetics*. Americal Society of Health-System Pharmacyst, 3rd ed., 2002.

Programa: PK Solutions 2.0 *Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA.

1.4. ETAPA ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos através das médias, medianas, desvio padrão, faixa de variação IC95% (intervalo de confiança 95% delimitada pelos limites inferior e superior) bem como o valor mínimo e máximo obtidos para todos os parâmetros estudados na população de pacientes dos grupos A e B. Com relação aos dados laboratoriais, parâmetros antropométricos e concentrações plasmáticas da vancomicina obtidas para a população de pacientes de ambos os grupos, aplicaram-se para a análise estatística descritiva os programas *Microsoft Excel 2007* (Microsoft Corporation, USA), *GraphPad Prism for windows versão 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Utilizou-se o mesmo programa para aplicação do teste “t” Student para comparação dos parâmetros antropométricos e para comparação das concentrações plasmáticas da vancomicina; aplicou-se também o teste de Mann-Whitney (não paramétrico) para a comparação dos parâmetros farmacocinéticos da vancomicina.

Finalmente, através da aplicação do programa *GraphPad Instat*TM, *GraphPad Software Incorporated* (San Diego, USA) e *Stagraphics for windows versão 5.1*, *Statistical Graphics Corp.* (Virginia, USA) estabeleceu-se correlação linear entre os parâmetros de maior relevância para os antimicrobianos investigados.

2. RESULTADOS

2.1. CASUISTICA

Os dados antropométricos e populacionais (sexo, idade, peso, altura, índice de massa corpórea, superfície corporal e superfície corporal queimada) dos grupos A e B encontram-se descritos respectivamente nas Tabelas 2.1 e 2.2.; esses grupos são comparados e os resultados estão descritos na Tabela 2.3.

Tabela 2.1 - Caracterização da população de pacientes queimados investigados no Grupo A

Parâmetro	Sexo M/F	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ (%)
Média	4/6	30,4	68,7	1,7	25,2	1,8	36
DP	NAP	11,4	13,1	0,1	5,4	0,7	20
Vmín	NAP	18,0	48,0	1,5	15,5	1,6	13
Vmáx	NAP	46,0	93,0	1,8	31,8	2,1	85
LI IC 95%	NAP	22,3	58,3	1,6	21,3	1,6	21
LS IC 95%	NAP	38,5	78,1	1,7	29,1	1,9	50

Abreviaturas: NAP: Não Aplicável; M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea; SC: superfície corporal; SCQ: superfície corporal queimada; DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Tabela 2.2 - Caracterização da população de pacientes queimados investigados no Grupo B

Parâmetro	Sexo M/F	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ (%)
Média	9/3	34,0	71,5	1,70	24,8	1,82	27,2
DP	NAP	13,4	16,3	0,09	5,2	0,22	17,2
Vmín	NAP	18,0	50,0	1,55	18,0	1,47	6,0
Vmáx	NAP	63,0	105,0	1,87	35,7	2,30	52,0
LI IC 95%	NAP	25,5	61,20	1,64	21,5	1,68	16,1
LS IC 95%	NAP	42,5	81,80	1,76	28,1	1,96	38,1

Abreviaturas: NAP: Não Aplicável; M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea; SC: superfície corporal; SCQ: superfície corporal queimada; DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Tabela 2.3 - Dados antropométricos comparados entre os Grupos A e B, médias/DP

	Grupo A, n=10	Grupo B, n=12	Probabilidade
Idade (anos)	30,4±11,4	34,0±13,4	0,510
Peso (kg)	68,7±13,1	71,5±16,3	0,666
Altura (m)	1,66±0,09	1,70±0,09	0,350
IMC (kg/m²)	25,2±5,4	24,8±5,2	0,876
SC (m²)	1,75±0,16	1,82±0,22	0,408
SCQ (%)	35,9±20,3	27,2±17,2	0,289

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; IMC: índice de massa corpórea; SC: superfície corporal; SCQ: superfície corporal queimada.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA), GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Teste “t” para dados não pareados, significância estatística $p < 0,05$.

Uma vez que esses antimicrobianos são excretados fundamentalmente através dos rins, por filtração glomerular, a função renal foi avaliada nos grupos A e B. Os resultados obtidos para os grupos A e B encontram-se reunidos respectivamente, nas Tabelas 2.4 e 2.5 e o estudo comparativo está referido na tabela 2.6.

Tabela 2.4 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados no Grupo A

GRUPO A (n=10)			
	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min/ 1,73m ²)
Média	2,0	0,57	178,4
Mediana	1,9	0,55	192,4
DP	0,7	0,19	57,2
LI IC 95%	1,5	0,43	137,5
LS IC 95%	2,5	0,71	219,3

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL); Salb:albumina sérica(1-4g/dL), clearance da creatinina: homens/mulheres: 75-115 / 85-125 mL/min/ 1,73m²

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Tabela 2.5 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados no Grupo B

GRUPO B (n=12)			
	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min/ 1,73m ²)
Média	2,4	0,68	143,0
Mediana	2,3	0,70	147,5
DP	0,7	0,15	24,9
LI IC 95%	1,9	0,59	127,2
LS IC 95%	2,5	0,77	158,8

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL); Salb:albumina sérica(1-4g/dL), clearance da creatinina: homens/mulheres: 75-115 / 85-125 mL/min/ 1,73m²

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Tabela 2.6 - Parâmetros laboratoriais albumina e creatinina séricas e *clearance* da creatinina Comparação entre os grupos A e B, médias/DP.

Parâmetro	Grupo A, n=10	Grupo B n=12	Probabilidade
Salb g/dL	2,0±0,7	2,4±0,7	0,209
Scr mg/dL	0,57±0,19	0,68±0,15	0,128
Clcr mL/min/ 1,73m ²	178,4±57,2	143,0±24,9	0,066

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL); Salb:albumina sérica(1-4g/dL), *clearance* da creatinina: homens/mulheres: 75-115 / 85-125 mL/min /1,73m².

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows versão 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Teste “t” para dados não pareados, significância estatística p<0,05.

2.2. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA, CEFEPIME E IMIPENEM.

Os dados populacionais referentes às concentrações plasmáticas da vancomicina, cefepime e imipenem, obtidas em função dos diferentes tempos de coleta para os pacientes avaliados, se encontram expressas através de médias, desvio padrão da média, valor mínimo, valor máximo, limite inferior do intervalo de confiança 95% (LI IC95%) e limite superior do intervalo de confiança 95% (LS IC95%) representadas nas Tabelas 2.7 e 2.9 para vancomicina, respectivamente nos pacientes dos grupos A e B; Tabela 2.8 para o cefepime (grupo A) e Tabela 2.10 para o imipenem (grupo B).

Tabela 2.7 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, Grupo A (n = 10)

C (µg/mL)	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h
Média	2,7	23,9	15,7	11,1	7,8	5,5	4,0	3,0
DP	1,4	7,5	4,7	3,0	2,3	1,9	1,6	1,4
Vmín	1,2	15,0	6,8	5,4	4,2	3,2	2,2	1,2
Vmáx	5,4	35,5	21,0	15,1	11,0	8,8	7,0	5,4
LI IC95%	2,0	18,54	12,3	8,9	6,2	4,2	2,8	2,0
LS IC95%	4,0	29,30	19,1	13,2	9,4	6,9	5,1	4,0

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

Tabela 2.8 - Concentrações plasmáticas de cefepime, Grupo A (n = 10)

C (µg/mL)	0h	0,25	1h	2h	4h	6h	8h
Média	5,5	184,4	90,2	58,4	26,3	11,9	5,5
DP	3,4	43,7	24,1	18,1	10,3	6,0	3,4
Vmín	2,8	100,0	60,0	32,0	15,0	6,9	2,8
Vmáx	12,0	255,0	135,0	93,0	48,0	24,0	12,0
LI IC95%	3,1	153,1	72,9	45,4	18,9	7,6	3,1
LS IC95%	7,9	215,6	107,4	71,4	33,6	16,2	7,9

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

Tabela 2.9 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, Grupo B (n = 12)

C (µg/mL)	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h
Média	2,5	21,4	15,3	10,4	7,1	4,9	3,5	2,5
DP	1,4	9,9	6,0	4,1	2,9	2,1	1,8	1,4
Vmín	0,5	8,0	6,8	4,6	2,6	1,5	0,8	0,5
Vmáx	4,4	35,0	27,0	18,0	12,0	7,8	5,8	4,4
LI IC95%	1,6	15,1	11,5	7,8	5,3	3,6	2,4	1,6
LS IC95%	3,4	27,7	19,2	13,0	8,9	6,3	4,6	3,4

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

Tabela 2.10 - Concentrações plasmáticas de imipenem, Grupo B (n = 12)

C (µg/mL)	0h	0,25	1h	2h	3h	4h	6h
Média	2,9	40,6	16,0	6,5	4,3	2,9	1,5
DP	1,9	16,9	5,5	3,9	2,7	1,9	1,1
Vmín	0,7	16,0	8,0	1,8	1,1	0,7	0,2
Vmáx	7,0	61,0	25,0	15,0	10,3	7,0	3,2
LI IC95%	0,8	29,9	12,5	4,0	2,6	1,7	0,8
LS IC95%	2,1	51,4	19,5	9,0	6,0	4,1	2,1

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

A curva de decaimento da concentração plasmática em função do tempo para a vancomicina, expressa através das médias e desvio padrão, é representada na Figura 14.

Figura 14 - Curva de decaimento plasmático da vancomicina no decurso do tempo (grupo A, n=10), valores médios/desvio padrão da média; CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 µg/mL.

A faixa de variação do intervalo de confiança 95% para a concentração plasmática de vancomicina é referida para cada intervalo de tempo considerado conforme descrito a seguir: 18,5- 29,3 µg/mL (1^a h); 12,3-19,1 µg/mL (2^a h); 8,9-13,2 µg/mL (4^a h); 6,2-9,4 µg/mL (6^a h); 4,2-6,9 µg/mL (8^a h); 2,8-5,1 µg/mL (10^a h) e 2,0-4,0 µg/mL (12^a h). Considerando-se que a vancomicina tem a ação bactericida tempo dependente, recomenda-se concentração plasmática mínima eficaz de 5 µg/mL (LUNDSTROM et al., 2004). Portanto a atividade bactericida é perdida à medida que a concentração plasmática decai atingindo valores abaixo do recomendado. Conforme ilustrado na Figura 14, todos os pacientes mostraram nível adequado no intervalo (0-6 horas), evidenciando-se após a 6^a hora aumento do número de pacientes com concentração plasmática de vancomicina abaixo da recomendada; ressalta-se que esse incremento aumentou em função do tempo a partir da 8^a h (5/10); 10^a (8/10) h e na 12^a h (9/10).

A curva de decaimento da concentração plasmática em função do tempo para o cefepime é representada na Figura 15 através das médias e os respectivos desvios padrão no painel superior; no painel inferior desta figura representa-se a transformação logarítmica das médias.

Figura 15 - Curva de decaimento plasmático do cefepime no decurso do tempo. Painel superior: C vs T , valores médios/desvio padrão da média. Painel inferior: $\log C$ vs T ; regime posológico: 2g 8/8 horas.

A faixa de variação do intervalo de confiança 95% para a concentração plasmática do cefepime é referida para cada intervalo de tempo considerado, conforme descrito a seguir: 153,1-215,6 µg/mL (0,25^a h); 72,9-107,4 µg/mL (1^a h); 45,4-71,4 µg/mL (2^a h); 18,9-33,6 µg/mL (4^a h); 7,6-16,2 µg/mL (6^a h) e 3,1-7,9 µg/mL (8^a h).

O intervalo de tempo em que a concentração plasmática do antimicrobiano permanece acima da concentração inibitória mínima ($\Delta T > \text{CIM}$) é o melhor parâmetro para a predição da eficácia farmacodinâmica dos denominados antimicrobianos de ação tempo-dependente como o cefepime. A modelagem PK-PD foi aplicada no presente estudo para o cefepime em pacientes queimados (Grupo A, n=10) conforme ilustrado na Figura 16, com base na curva de decaimento plasmático no decurso do tempo, considerando-se o período de tempo (ΔT) em que a concentração plasmática do cefepime permanece acima do CIM ($\Delta T > \text{CIM}$); os parâmetros estimados estão representados através de eixos cartesianos (Y:X) em percentual de pacientes com concentração plasmática acima da CIM ($\Delta T > \text{CIM}$) *versus* a concentração inibitória mínima.

Figura 16 - Modelagem PK-PD para o cefepime em dois painéis (A) $\Delta T > \text{CIM} = 50\%$; (B) $\Delta T > \text{CIM} = 75\%$.

Considerando-se o grupo de pacientes recebendo vancomicina e imipenem, a curva de decaimento para a vancomicina está representada na Figura 17.

Figura 17 - Curvas de decaimento da vancomicina plasmática no intervalo de tempo (grupo B), valores médios/desvio padrão da média. CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 µg/mL.

A faixa de variação do intervalo de confiança 95% para a concentração plasmática de vancomicina da curva de eliminação é referida para cada intervalo de tempo considerado, conforme descrito a seguir: 15,1-27,7 µg/mL (1^a h); 11,5-19,2 µg/mL (2^a h); 7,8-13,0 µg/mL (4^a h); 5,3-8,9 µg/mL (6^a h); 3,6-6,3 µg/mL (8^a h); 2,4-4,6 µg/mL (10^a h) e 1,6-3,4 µg/mL (12^a h). Considerando-se que esse antimicrobiano tem ação bactericida tempo dependente, a CME recomendada é de 5 µg/mL; consequentemente, a atividade bactericida é perdida à medida que a concentração plasmática decai abaixo desse valor (LUNDSTRON, 2004). Após administração de vancomicina registrou-se aumento percentual dos pacientes que não atingiram a concentração plasmática efetiva em função do tempo: 17% (2/12) na 4^ah, 25% (3/12) na 6^a h, 42% (5/12) na 8^a h, 83% (10/12) na 10^a h com falha terapêutica em 100% dos pacientes desse grupo na 12^a h.

Relativamente ao imipenem, a curva de decaimento das concentrações no decurso do tempo foi expressa através das médias e o desvio padrão, está representada na Figura 18. A faixa de variação do intervalo de confiança 95% para a concentração plasmática do imipenem é referida para o intervalo de tempo: 29,9-51,4 $\mu\text{g/mL}$ (0,25^a h); 12,5-19,5 $\mu\text{g/mL}$ (1^a h); 4,0-9,0 $\mu\text{g/mL}$ (2^a h); 2,6-6,0 $\mu\text{g/mL}$ (3^a h); 1,7-4,1 $\mu\text{g/mL}$ (4^a h) e 0,8-2,1 $\mu\text{g/mL}$ (6^a h).

Figura 18 - Curva de decaimento plasmático do imipenem no decurso do tempo (regime 1g 6/6 hs). Painel superior: C vs T, valores médios/DP. Painel inferior: log C vs T.

Considerando-se que o imipenem tem ação bactericida tempo dependente, o tempo acima do CIM é o melhor predictor da eficácia farmacodinâmica dos carbapenêmicos, atingindo ótima eficácia para 40-50% do intervalo posológico (DRUSANO, 2003) e deve ser estendido para 70% conforme recomendação para os pacientes queimados (MCKINNON; DAVIS 2004). A concentração plasmática mínima eficaz do imipenem recomendada pode variar de acordo com o CIM da bactéria desde 0,032 até 8 mg/L, a atividade bactericida é perdida à medida que a concentração plasmática do imipenem decai para valores abaixo do recomendado.

O período de tempo (ΔT) em que a concentração plasmática do antimicrobiano permanece acima da CIM ($\Delta T \geq \text{CIM}$) é ilustrado na Figura 19; os parâmetros estimados estão representados através de eixos cartesianos (Y:X) em percentual de pacientes que apresentaram concentração plasmática acima da CIM ($\Delta T > \text{CIM}$) *versus* a concentração inibitória mínima.

Figura 19 - Modelagem PK-PD para o imipenem. Painel (A) $\Delta T \geq \text{CIM}$ (50%); Painel (B) $\Delta T \geq \text{CIM}$ (70%).

2.3. AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE INTERPACIENTES PARA AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS ANTIMICROBIANOS

2.3.1. VANCOMICINA

A Tabela 2.11 reúne os resultados das concentrações plasmáticas da vancomicina obtidas nos dois grupos de pacientes queimados recebendo o mesmo regime de dose, em associação ao cefepime (Grupo A) ou ao imipenem (Grupo B). Não se evidenciou diferença significativa entre os grupos A e B, destacando-se que a partir da 8ª hora as concentrações plasmáticas médias se mostraram abaixo do valor recomendado (5 µg/mL).

Tabela 2.11 - Avaliação comparativa das concentrações plasmáticas da vancomicina, em dois grupos de pacientes queimados no mesmo regime de dose, em associação ao cefepime (Grupo A) ou ao imipenem (Grupo B), médias.

Período (hora)	Grupo A, n=10 C (µg/mL)	Grupo B, n=12 C (µg/mL)	P	Grupo A+B, n=22 C±DP (µg/mL)
1 ^a	23,9	21,4	0,518	22,6±8,8
2 ^a	15,7	15,3	0,866	15,5±5,4
4 ^a	11,1	10,4	0,674	10,7±3,6
6 ^a	7,8	7,1	0,551	7,4±2,6
8 ^a	5,5	4,9	0,497	5,2±2,0
10 ^a	4,0	3,5	0,519	3,5±1,7
12 ^a	3,0	2,5	0,474	2,7±1,4

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; P: probabilidade. Significância estatística $p \leq 0,05$.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows versão 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Teste “t” para dados não pareados (significância $p < 0,05$).

A Figura 20 ilustra as concentrações plasmáticas médias da vancomicina na população (n=22); a variabilidade foi avaliada em função da dispersão da média.

Figura 20 - Concentração plasmática de vancomicina (n=22), médias e desvio padrão (CME=5 µg/mL)

Ao término da infusão, as concentrações obtidas para a vancomicina no plasma no decurso do tempo evidenciaram a variabilidade que foi estimada a partir das médias e os respectivos desvios padrão da média (DP) conforme referido na Tabela 2.11 e descrito a seguir para o parâmetro coeficiente de variação (CV%) e a faixa de variação do intervalo de confiança (FV IC95%): 39,0% na 1ª hora (19-26 µg/mL), 34,5% na 2ª hora (13-18 µg/mL), 33,2% na 4ª hora (9-12 µg/mL), 35,0% na 6ª hora (6-8 µg/mL), 38,4% na 8ª hora (4-6 µg/mL), 44,9% na 10ª hora (3-4 µg/mL) e 50,6% na 12ª hora (2-3 µg/mL).

Considerou-se ainda para esse fármaco após utilização do regime posológico empírico, a variabilidade inter-pacientes (n=22) para os parâmetros concentração plasmática no vale e área sob a curva (ASC), Figura 21.

Figura 21 - Variabilidade inter-pacientes para a vancomicina, dados individuais. Painel superior: concentração plasmática do antimicrobiano (vale) nos Grupos A+B, n=22, concentração mínima eficaz (CME=5 µg/mL). Painel inferior: área sob a curva integrada no intervalo de dose

Considerando-se os dados individuais dos pacientes investigados, as concentrações plasmáticas obtidas para vancomicina no vale se mostraram dentro do recomendado (≥ 5 $\mu\text{g/mL}$) em apenas 13,6% (3/22: #7,#13,#14) dos pacientes, enquanto que a grande maioria 86,4% (19/22) evidenciou valores abaixo do recomendado, sendo estratificados com base no valor numérico de vale, conforme segue:

$\Rightarrow \leq 0,5 \mu\text{g/mL}$ (pacientes #15 e #16),

$\Rightarrow 1,0-2,0 \mu\text{g/mL}$ (pacientes #3, #6, #11, #12 e #20)

$\Rightarrow 2,1-3,0 \mu\text{g/mL}$ (pacientes #2, #9, #17, #19 e #22)

$\Rightarrow 3,1-4,0 \mu\text{g/mL}$ (pacientes #1, #4, #5, #8, #10, #18, #21)

2.3.2. CEFEPIME

As concentrações obtidas para o cefepime no plasma no decurso do tempo após a infusão evidenciaram variabilidade que foi estimada a partir das médias e desvio padrão da média (DP) conforme referido na Tabela 2.8 e descrito a seguir para o coeficiente de variação (CV%) e a faixa de variação da concentração do intervalo de confiança (FV IC95%): 23,7% na 0,25ª hora (153-216 µg/mL), 26,8% na 1ª hora (73-107 µg/mL), 31,1% na 2ª hora (45-71 µg/mL), 39,1% na 4ª hora (19-34 µg/mL), 50,2% na 6ª hora (8-16 µg/mL), 61,9% na 8ª hora (3-8 µg/mL). A variabilidade inter-pacientes para o fármaco pela utilização do regime posológico empírico no vale (CV% 61,9%) e para o parâmetro ASC (CV% 28%) é ilustrado na Figura 22.

Figura 22 - Variabilidade inter-pacientes para o cefepime em dois painéis, dados individuais. Painel superior: concentração no vale. Painel inferior: ASC

2.3.3. IMIPENEM

As concentrações obtidas para o imipenem no plasma no decurso do tempo após a infusão evidenciaram variabilidade que foi estimada a partir das médias e o desvio padrão da média, conforme referido na Tabela 2.10 e descrito a seguir para o parâmetro coeficiente de variação (CV%) e a faixa de variação da concentração (FV IC95%): 41,6% na 0,25ª hora (30-51 µg/mL), 34,4% na 1ª hora (13-20 µg/mL), 59,8% na 2ª hora (4-9 µg/mL), 62,0% na 3ª hora (3-6 µg/mL), 65,3% na 4ª hora (2-4 µg/mL), 73,4% na 6ª hora (1-2 µg/mL). A Figura 23 ilustra a variabilidade inter-pacientes para o fármaco pela utilização do regime posológico empírico no vale (CV% 73,4%) e para o parâmetro ASC (CV% 38,5%); considera-se que o imipenem apresentou maior variabilidade inter-pacientes pela comparação às variabilidades obtidas para a vancomicina e o cefepime.

Figura 23 - Variabilidade inter-pacientes para o imipenem em dois painéis, dados individuais.
Painel superior: concentração no vale. Painel inferior: ASC

2.4. DISPOSIÇÃO CINÉTICA DOS ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS

Estimaram-se os parâmetros farmacocinéticos, após administração intravenosa de cada fármaco, através da utilização de programa *PK Solutions* (versão 2.0 *Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA).

Os parâmetros farmacocinéticos estimados para a vancomicina e cefepime, encontram-se referidos nas Tabelas 2.12 e 2.13, respectivamente. Os resultados obtidos foram expressos através da mediana, valor mínimo, valor máximo, limite inferior e limite superior do intervalo de confiança (IC95%). Adicionalmente, também foram incluídos os valores de referência descritos para os parâmetros farmacocinéticos.

Tabela 2.12 - Parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (Grupo A), n=10

	K_{el} h^{-1}	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T mL/min.kg	Vd L/kg
Mediana	0,16	4,5	2,3	0,53
V_{mín}	0,12	2,4	1,4	0,11
V_{máx}	0,29	6,0	4,3	2,07
LI IC95%	0,13	3,5	1,8	0,29
LS IC95%	0,21	5,1	3,4	1,17
Valores de Referência <i>Leader et al 1995</i>	0,12 – 0,17	3,8-7,4	1,3 – 1,5	0,33 – 0,45

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{1/2\beta}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

Tabela 2.13 - Parâmetros farmacocinéticos do cefepime (Grupo A), n=10

	K_{el} h ⁻¹	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T mL/min.kg	Vd L/kg
Mediana	0,39	1,8	1,4	0,18
Vmín	0,31	1,3	0,8	0,14
Vmáx	0,52	2,3	2,9	0,45
LI IC95%	0,36	1,5	1,2	0,17
LS IC95%	0,56	1,9	2,1	0,31
Valores de Referência Ribak 1996	0,28-0,35	2-2,5	1,7– 2,5	0,20 – 0,28

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{1/2\beta}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

Os parâmetros farmacocinéticos estimados para a vancomicina e o imipenem encontram-se referidos nas Tabelas 2.14 e 2.15, respectivamente. Os resultados obtidos foram expressos através da mediana, valor mínimo e máximo e limite superior e inferior da faixa de variação IC 95%. Adicionalmente, os valores de referência descritos para os parâmetros farmacocinéticos, também foram incluídos.

Tabela 2.14 – Parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (Grupo B), n=12

	K_{el} h^{-1}	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T $mL/min.kg$	V_d L/kg
Mediana	0,18	3,8	2,5	0,43
V_{mín}	0,10	2,1	1,4	0,10
V_{máx}	0,34	6,7	5,8	1,92
LI IC95%	0,15	3,1	1,9	0,22
LS IC95%	0,24	4,9	3,9	0,84
Valores de Referência <i>Leader et al 1995</i>	0,12 – 0,17	3,8-7,4	1,3 – 1,5	0,33 – 0,45

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; V_d : volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

Tabela 2.15 – Parâmetros farmacocinéticos do imipenem (Grupo B), n=12

	K_{el} h^{-1}	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T $mL/min.kg$	V_d L/kg
Mediana	0,42	1,7	4,1	0,67
V_{mín}	0,24	1,2	2,6	0,38
V_{máx}	0,57	2,8	11,9	1,37
LI IC95%	0,34	1,47	3,7	0,60
LS IC95%	0,48	2,17	7,4	1,00
Valores de Referência <i>Buckel et al 1992</i>	0,69-0,87	0,8-1,0	2,6 – 3,2	0,18 – 0,28

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; V_d : volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

2.5. FARMACOCINÉTICA DA VANCOMICINA - GRUPO A *VERSUS* GRUPO B

A farmacocinética da vancomicina foi comparada entre as populações de pacientes queimados (A *versus* B) e os dados estimados são representados na Tabela 2.16. Não se evidenciou diferença estatística para os parâmetros K_{el} , meia-vida, depuração plasmática e volume aparente de distribuição nos grupos A e B.

Tabela 2.16 - Disposição cinética comparativa da vancomicina: Grupo A e Grupo B, medianas (intervalo de confiança IC95%). Teste de Mann Whitney.

Parâmetro	Grupo A (n=10)	Grupo B (n=12)	p A vs B	Grupo A+B (n=22)	Valores de Referência Leader et al 1995
K_{el} (h ⁻¹)	0,16 (0,13 - 0,21)	0,18 (0,15 - 0,24)	0,531	0,16 (0,16 - 0,21)	0,12 – 0,17
$t_{(1/2\beta)}$ (h)	4,5 (3,5 – 5,1)	3,8 (3,1 – 4,9)	0,531	4,2 (3,4 – 4,9)	3,8 – 7,4
Cl_T (mL/min.kg)	2,3 (1,8– 3,4)	2,5 (1,9– 3,9)	0,817	2,3 (2,0– 3,5)	1,3 – 1,5
V_d (L/kg)	0,53 (0,29 – 1,17)	0,43 (0,22 – 0,84)	0,429	0,47 (0,31 – 0,93)	0,33 – 0,45

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; V_d : volume aparente de distribuição; p : probabilidade, significância $p \leq 0,05$.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

2.6. AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE CINÉTICA DOS ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS

2.6.1. VANCOMICINA

As constantes farmacocinéticas estimadas para a vancomicina (n=22) são ilustradas nas Figuras 24 a 26. A variabilidade expressa através do CV% se encontra descrita na Tabela 2.17.

Tabela 2.17 - Variabilidade dos parâmetros farmacocinéticos da vancomicina (n = 22)

	K_{el} (h ⁻¹)	$t_{(1/2\beta)}$ (h)	Cl_T (mL/min.kg)	Vd (L/kg)
Média	0,19	4,1	2,8	0,62
DP	0,06	1,29	1,38	0,55
CV%	34,9	31,2	49,7	88,3

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; DP: desvio padrão da média, CV: coeficiente de variação.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA).

A constante de velocidade de eliminação frente à faixa de referência se mostrou aumentada e a meia-vida reduzida para os pacientes #11,#12,#15,#16,#20, Figura 24.

Figura 24 - Dados individuais para a constante de eliminação e meia vida biológica da vancomicina; (n=22). ■ valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).

A depuração plasmática se mostrou aumentada em 59% (13/22) dos pacientes (#1,#2,#3,#4,#5,#6,#8,#9,#11,#12,#15,#16,#20), permanecendo dentro dos valores recomendados no restante dos pacientes, Figura 25.

Figura 25 - Dados individuais para depuração plasmática da vancomicina (n=22).

■ valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).

O volume aparente de distribuição se mostrou aumentado em 7/22 dos pacientes (#1,#2,#3,#4,#5,#15,#20), relativamente à faixa de referência. Ressalta-se que com exceção do paciente #15, o volume de distribuição aumentou proporcionalmente à depuração plasmática. Por outro lado, o volume aparente se mostrou reduzido em 3/22 dos pacientes (#6,#7,#8), provavelmente em função do balanço hídrico negativo, Figura 26.

Figura 26 - Dados individuais para o volume de distribuição da vancomicina (n=22).

■ valores recomendados: faixa de referência (Leader et. al., 1995).

A farmacocinética da vancomicina se mostrou alterada para a grande maioria dos pacientes, evidenciando-se aumentos substanciais na depuração plasmática ou no volume aparente de distribuição, ou em ambos em diferentes proporções, excetuando-se o paciente #15. Por outro lado, a disposição cinética permaneceu inalterada com vale efetivo (≥ 5 $\mu\text{g/mL}$) em apenas 13,6% (3/22, pacientes #7, #13, #14).

Desta forma, as concentrações plasmáticas obtidas no vale abaixo do recomendado em cerca de 90% dos pacientes queimados foram plenamente justificadas com base na disposição cinética alterada da vancomicina. Finalmente, tal alteração pode ser atribuída aos parâmetros de maior variabilidade como a depuração plasmática e o volume aparente de distribuição.

2.6.2. CEFEPIME

As constantes farmacocinéticas estimadas para o cefepime (n=10) são ilustradas na Figura 27. A variabilidade expressa através do CV% se encontra descrita na Tabela 2.18. Considera-se que a maior variabilidade inter-pacientes foi registrada para o volume de distribuição seguido pela depuração plasmática.

Tabela 2.18 - Variabilidade da farmacocinética do cefepime no Grupo A (n = 10)

	K_{el} (h ⁻¹)	$t_{(1/2\beta)}$ (h)	Cl_T (mL/min.kg)	Vd (L/kg)
Média	0,41	1,7	1,6	0,24
DP	0,07	0,3	0,6	0,10
CV%	17,5	17,4	39,1	43,1

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; DP: desvio padrão da média, CV: coeficiente de variação.
Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)

Figura 27 - Dados individuais para as constantes farmacocinéticas do cefepime (n=10).

▒ valores recomendados: faixa de referência (Ribak et. al., 1996).

2.6.3. IMIPENEM

Os dados individuais estimados para as constantes farmacocinéticas do imipenem (n=12) são ilustrados na figura 28, os parâmetros farmacocinéticos evidenciaram variabilidade que foi estimada a partir do coeficiente de variação (CV%) estimado a partir das respectivas médias e desvio padrão da média (Tabela 2.19).

Tabela 2.19 - Variabilidade da farmacocinética do imipenem no Grupo B (n = 12)

	K_{el} (h ⁻¹)	$t_{(1/2\beta)}$ (h)	Cl_T (mL/min.kg)	Vd (L/kg)
Média	0,41	1,8	5,5	0,80
DP	0,11	0,56	2,90	0,32
CV%	27,6	30,8	52,4	39,3

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; DP: desvio padrão da média, CV: coeficiente de variação.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA).

A constante de velocidade de eliminação do imipenem se mostrou diminuída, meia-vida e volume aparente de distribuição aumentado para todos os pacientes. A depuração plasmática se mostrou aumentada em 50% dos pacientes (#1,#6,#12,#14,#15,#16), permanecendo dentro dos valores recomendados no restante do grupo (#5,#8,#10,#17,#19,#22) Figura 28.

Figura 28 - Dados individuais para as constantes farmacocinéticas do imipenem (n=12).

■ valores recomendados: faixa de referência (Buckel et. al., 1992).

A farmacocinética do imipenem se mostrou alterada em todos os pacientes investigados (#1,#5,#6,#8,#10,#12,#14,#15,#16,#17,#19 e #22), sendo afetados em maior extensão os parâmetros depuração plasmática e/ou o volume aparente de distribuição. O aumento em cerca de duas vezes na meia-vida biológica mostrou-se indicador interessante do acúmulo expresso através do vale para o imipenem nos pacientes queimados, sugerindo-se que o compartimento periférico seja aquele de eleição para o antimicrobiano:

- Meia vida prolongada em duas vezes justificou o aumento do acúmulo para 7/12 (58,3%) dos pacientes desse grupo (#1,#5,#8,#12 #14, #17, #22);
- A meia-vida permaneceu inalterada para 4/12 (33,3%) nos pacientes #6,#10,#15,#16.

2.7. ESTUDO DE CORRELAÇÃO

Investigou-se a existência ou não de correlação entre diversos parâmetros relacionados à extensão da distribuição ou da eliminação dos três antimicrobianos com a superfície corporal queimada ou com o acúmulo do fármaco expresso através da concentração plasmática no vale; a Tabela 2.20 reúne os dados do estudo de correlação.

Evidenciou-se para o imipenem, boa correlação linear com significância estatística entre a depuração plasmática e a superfície corporal queimada; entretanto não se demonstrou qualquer correlação entre esses parâmetros relativamente à vancomicina e ao cefepime. Adicionalmente, nenhuma correlação foi obtida entre o volume aparente de distribuição e a superfície corporal queimada para os três antimicrobianos investigados.

Evidenciou-se boa correlação linear com significância estatística entre os parâmetros de eliminação (depuração plasmática e meia-vida biológica) e o vale de concentração plasmática obtido para a vancomicina e o imipenem; entretanto para o cefepime não se demonstrou correlação entre os parâmetros vale vs CL_T , embora boa correlação linear com significância estatística seja demonstrada entre o vale vs meia-vida.

Foi possível estabelecer boa correlação linear com significância estatística entre os parâmetros volume aparente de distribuição e depuração plasmática para o cefepime e para o imipenem; entretanto não se demonstrou correlação entre esses parâmetros para a vancomicina em função da alta variabilidade obtida para o volume aparente somada aos acréscimos não proporcionais desses parâmetros nos pacientes queimados, frente aos valores de referência. Por outro lado, a boa correlação linear com significância estatística obtida para o imipenem se deve a proporcionalidade nos acréscimos desses dois parâmetros, uma vez que os incrementos no volume aparente de distribuição foram da ordem de duas vezes aqueles ocorridos para a depuração plasmática desse antimicrobiano.

Tabela 2.20 – Estudo de correlação linear entre superfície corporal queimada ou concentração de vale e os parâmetros farmacocinéticos da vancomicina, cefepime e imipenem em pacientes queimados.

Antimicrobiano	Parâmetros	
	SCQ% versus CL_T	
	R	p
Vancomicina	0,31	0,17
Cefepime	0,04	0,91
Imipenem	0,71	0,01
	SCQ% versus Vd	
Vancomicina	0,09	0,71
Cefepime	0,14	0,71
Imipenem	0,34	0,27
	Vale versus $T_{(1/2\beta)}$	
Vancomicina	0,730	0,0001
Cefepime	0,884	0,001
Imipenem	0,697	0,014
	Vale versus CL_T	
Vancomicina	0,802	0,002
Cefepime	0,371	0,296
Imipenem	0,704	0,013
	Vd versus CL_T	
Vancomicina	0,227	0,309
Cefepime	0,766	0,013
Imipenem	0,676	0,019
	Reposição de fluidos versus Vd	
Vancomicina	0,160	0,475
Cefepime	0,418	0,228
Imipenem	0,642	0,024

Abreviaturas: $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; CL_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; SCQ: superfície corporal queimada.

Programa estatístico: Programa estatístico: GraphPad Prism for Windows 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA), Stargraphics for windows versão 5.1 (Statistical Graphics Corp. Virginia, USA).

Como os três antimicrobianos investigados nesse estudo são de eliminação predominantemente renal em pacientes não queimados, seria esperada boa correlação entre a depuração plasmática e o *clearance* da creatinina.

No presente estudo investigou-se a existência ou não de correlação entre a eliminação do fármaco e a filtração glomerular expressa através do *clearance* da creatinina nos pacientes queimados. A figura 29 ilustra a baixa correlação entre o *clearance* da creatinina e a

depuração plasmática para os três antimicrobianos, e com base nesses resultados sugere-se que a depuração extra-renal seria uma via de contribuição importante na eliminação desses antimicrobianos nos pacientes queimados.

Figura 29- Estudo de correlação linear entre a depuração plasmática dos antimicrobianos e o *clearance* de creatinina

Embora no paciente queimado não se tenha demonstrado para a vancomicina e para o cefepime qualquer correlação entre a reposição de fluidos e o volume aparente de distribuição, Tabela 20, evidenciou-se boa correlação linear com significância estatística para o imipenem entre esses parâmetros, Figura 30.

Figura 30 - Estudo de correlação entre o volume aparente de distribuição do imipenem (L/kg) e a reposição de fluidos, normalizada com o índice de massa corpórea (IMC: kg/m²) no paciente queimado.

Adicionalmente, os parâmetros plotados em eixos cartesianos (Y:X; Volume aparente de distribuição *versus* Volume de reposição fluida) foram ajustados pela aplicação do programa *Stagraphics for windows versão 5.1* (Statistical Graphics Corp. Virginia, USA). A curva de correlação (média $\pm$ 1 DP) foi construída através do modelo ajustado; obteve-se a equação abaixo representada, que forneceu a correlação linear entre volume aparente de distribuição do imipenem (L/kg) e a reposição de fluidos nos pacientes queimados. O coeficiente de correlação de 0,642, indicou relação moderadamente forte entre as variáveis com significância estatística (ANOVA) para um nível de confiança de 95%.

$$V_d = 0,028 + 0,022 * V$$

Onde:

V: volume de líquidos fornecido ao paciente queimado no intervalo de dose; esse volume foi normalizado com o índice de massa corpórea (IMC), mL/kg/m².

V_d: volume aparente de distribuição estimado para o imipenem, L/kg.

Figura 31 – Modelo ajustado no estudo de correlação do volume de distribuição (L/kg) do imipenem e a reposição de fluidos realizada nos pacientes queimados no intervalo de dose (mL/6 horas). *Stagraphics for windows versão 5.1, Stagraphics Software Corporation Virginia, USA, média +/- 1 DP (IC95%).*

3. DISCUSSÃO

3.1. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA, CEFEPIME E IMIPENEM

A infecção é a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes queimados (BOUCHER et al., 1992). A administração de antimicrobianos sistêmicos é a única alternativa para o controle das infecções complicadas que afetam estes pacientes. Entretanto, as mudanças fisiopatológicas que se seguem à injúria térmica alteram de forma significativa a disposição cinética dos fármacos nos queimados. (BOUCHER et al., 1992; BLANCHET et al., 2008; WEINBREN, 1999). A maior preocupação na Clínica está relacionada à subterapia, a qual esses pacientes estariam submetidos pela utilização de doses empíricas levando ao surgimento de resistência bacteriana; conseqüentemente, alta dose desses agentes tem sido requerida por período prolongado para se garantir a eficácia (STEER et al., 1996).

No presente estudo, realizou-se um ensaio clínico controlado em pacientes com sepse recebendo associação de dois tipos: vancomicina e cefepime ($35,9 \pm 20,3\%$, SCQ, grupo A) ou vancomicina e imipenem ($27,2 \pm 17,2\%$, SCQ, grupo B).

Após a dose empírica recomendada para a vancomicina (1g 12/12 horas), o monitoramento do vale ($n=22$) evidenciou valores abaixo do recomendado para 86,4% (19/22) dos pacientes; esses resultados estão de acordo com aqueles reportados por Garrelts & Peterie (1988) e por Rybak e colaboradores (1990). Tais resultados podem ser explicados pelo incremento na depuração plasmática dos pacientes queimados conforme reportado anteriormente (RYBACK et al., 1990; GARRELTS et al., 1988; BRATTER 1985). Conseqüentemente, o regime posológico empírico deve ser revisto naqueles pacientes de forma a alcançar a concentração recomendada no vale (5-10 $\mu\text{g/mL}$).

O monitoramento do vale para o cefepime ($n=10$) evidenciou valor de 5,5 (3,4) $\mu\text{g/mL}$ (media/DP) na 8ª hora após a dose empírica recomendada para esse antimicrobiano (2g 8/8 horas); esses resultados estão de acordo com aqueles reportados por Bonapace e colaboradores (1999) que descreveram dados semelhantes, com vale de 5,5 (2,6) $\mu\text{g/mL}$. O valor recomendado para o cefepime no vale é de 3,9 $\mu\text{g/mL}$ em pacientes não queimados (MICROMEDEX, 2008).

Nos pacientes queimados descritos no presente estudo; registrou-se variabilidade (CV%) de 62% para o vale do cefepime; resultados similares foram reportados anteriormente por Sampol e colaboradores (2000). Por outro lado, com base na grande variabilidade na farmacocinética dos queimados, Conil e colaboradores (2007) reportaram aumento em cerca de 3 vezes no coeficiente de variação inter-indivíduos (CV%: 156%) para o vale desse antimicrobiano.

Esta cefalosporina é adequada no tratamento de pacientes portadores de infecções por cepas sensíveis de *Pseudomonas aeruginosa* e da *Klebsiella pneumoniae*. Reportou-se CIM para a *Pseudomonas sp* frente ao cefepime variando mais frequentemente entre 1 - 8 mg/L; considera-se $CIM \leq 8$ mg/L para as cepas sensíveis, e superior a esse valor para aquelas resistentes. Por outro lado, CIM varia mais frequentemente entre 0,008-0,125 mg/mL nas infecções por *Klebsiella pneumoniae*; $CIM \leq 1$ mg/L para as cepas sensíveis e superior a 8 mg/L para cepas resistentes (EUCAST, 2009). (ANEXO D)

A farmacodinâmica do cefepime está relacionada ao período de tempo em que a concentração plasmática se encontra acima da CIM ($\Delta T \geq CIM$), sendo 50% o valor recomendado para o sucesso terapêutico; nos pacientes imunossuprimidos como os queimados, o período de tempo em que a concentração plasmática se encontra acima da CIM deve ser estendido para 75% (BERGMANN 2007; MCKINNON; DAVIS 2004).

No presente estudo, embora não se tenha determinado a CIM, efetuou-se proposta de modelagem PK- PD relacionada ao tempo em que a concentração plasmática se encontra acima da CIM ($\Delta T \geq CIM$) para aplicação do modelo nos pacientes investigados. Verificou-se que todos os pacientes (10/10) mostraram esse parâmetro ($\Delta T \geq CIM$) dentro do valor recomendado (50%) para cada CIM testada (consenso internacional EUCAST) da *Pseudomonas aeruginosa* e da *Klebsiella pneumoniae*; entretanto, ressalta-se que o número de pacientes que apresentariam sucesso terapêutico pela modelagem se reduziu de 10/10 para 8/10, quando esse período ($\Delta T \geq CIM$) foi estendido de 50 para 75%, isto é, nos casos de bactérias com CIM equivalente a 8 mg/L.

Considerando-se que o intervalo de tempo com concentrações plasmáticas acima da CIM ($\Delta T \geq CIM$) se manteve em 75% para todos os microorganismos ($CIM < 8$ µg/mL), então, o regime posológico utilizado no presente estudo seria suficiente para garantir eficácia nos pacientes queimados. Resultados semelhantes foram reportados por Bonapace e colaboradores (1999).

Relativamente ao imipenem, após a dose empírica recomendada (1g 6/6 horas; 4 g ao dia) registraram-se concentrações plasmáticas desse antimicrobiano de 40,6 µg/mL ao término da infusão e de $1,5 \pm 1,1$ µg/mL, imediatamente antes da dose subsequente; portanto, o monitoramento dos pacientes queimados (n=12) forneceu valores dentro dos recomendados (pico: 40-83 µg/mL e vale: <1,0 µg/mL) (BALFOUR; BRYSON; BROGDEN, 1996).

A eficácia dos carbapenêmicos (imipenem) como para as cefalosporinas (cefepime) depende do intervalo de tempo em que a concentração plasmática do antimicrobiano permanece acima da concentração inibitória mínima ($\Delta T > CIM$), e é atualmente o melhor parâmetro para a predição da eficácia farmacodinâmica desses agentes. A eficácia é garantida quando 40% do intervalo entre doses têm concentrações acima do CIM (DRUSANO, 2003). Esse período de tempo pode variar com o patógeno e com o agente antimicrobiano. Geralmente, esse intervalo varia entre 40-50% do intervalo de dose e deve ser estendido para 70% conforme recomendação para os pacientes queimados, considerados imunossuprimidos (MCKINNON; DAVIS 2004).

Este antimicrobiano é adequado no controle das infecções causadas por *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Reportou-se CIM para a *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* frente ao imipenem variando até 1 mg/L; por outro lado, reportou-se CIM variando entre 0,064 a 1 mg/L para *Klebsiella pneumoniae* e 0,032 a 1 mg/L para *Acinetobacter baumannii* nas cepas sensíveis e superior a 8 mg/L para as cepas resistentes. (ANEXO D)

A concentração inibitória mínima para *Pseudomonas aeruginosa* frente ao imipenem é de até 4mg/L sendo que o perfil de sensibilidade varia entre 0,25 a 4 mg/L; portanto, para cepas sensíveis reporta-se CIM inferior a 8 mg/L, e superiores a esse valor para as resistentes (EUCAST, 2009). (ANEXO D)

Os resultados obtidos no presente estudo pela proposta de modelagem PK-PD evidenciaram que o intervalo de tempo em que a concentração plasmática se manteve acima da CIM ($\Delta T > CIM$) foi de 70% para todos os microorganismos considerados ($CIM < 0,5$ mg/L). Em contrapartida, o número de pacientes que estariam protegidos se reduziria em função do aumento do CIM da bactéria equivalente a 1,2,4 ou 8mg/L, conforme ilustrado Figura 19. Conseqüentemente, no presente estudo, os regimes de dose empírica utilizados para o imipenem seriam adequados para garantir eficácia contra os microorganismos com $CIM < 0,5$ mg/L; deve-se considerar ainda a susceptibilidade dos microorganismos para o

ajuste de dose ou a modificação do regime posológico em se tratando de bactérias com CIM > 0,5 mg/L.

3.2. AVALIAÇÃO DA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DE ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES QUEIMADOS PORTADORES DE SEPSE

VANCOMICINA

A terapia empírica com a vancomicina prevê regime de 1g 12/12 horas para pacientes em estado crítico portadores de sepse. Considerando-se a farmacocinética da vancomicina nos 22 pacientes queimados, registrou-se no presente estudo, aumento do volume aparente de distribuição e da depuração plasmática que justificam plenamente o vale obtido, abaixo dos valores recomendados. De forma a alcançar o sucesso terapêutico, o paciente queimado tem necessidade do monitoramento freqüente das concentrações plasmáticas de vancomicina para alteração do regime de dose desse antimicrobiano. Acréscimos, frente aos valores de referência, não proporcionais foram obtidos para os parâmetros cinéticos volume aparente de distribuição e depuração plasmática.

Alta variabilidade na farmacocinética dos antimicrobianos foi reportada em queimados por Blanchet e colaboradores (2008), consequência do estado do paciente com sepse, da extensão e profundidade da lesão, do período decorrido desde o acidente, administração de fármacos vasoativos e balanço hídrico. No presente estudo, a variabilidade da farmacocinética da vancomicina nos pacientes queimados foi demonstrada e expressa através dos coeficientes de variação para a constante de eliminação e respectiva meia vida biológica (30-35%), ressaltando-se que variabilidade em maior extensão foi atribuída à depuração plasmática (49,7%) e ao volume de distribuição (88,1%).

Os resultados do presente estudo são concordantes em parte com aqueles reportados por Garrelts & Peterie (1988) e por Rybak (1990) uma vez que ambos registraram vale reduzido em consequência da depuração plasmática aumentada. Entretanto, nesses estudos o volume aparente de distribuição permaneceu inalterado, provavelmente em função da população de pacientes investigados por aqueles autores.

A vancomicina em pacientes portadores de sepse, não queimados é de excreção predominantemente renal. Rybak e colaboradores (1990) registraram valores superiores a unidade, estimada a partir da depuração renal e da depuração plasmática (razão >1), sugerindo que a secreção tubular deve contribuir em parte na eliminação renal desse antimicrobiano nos queimados. Por outro lado, a existência de correlação entre a depuração plasmática da vancomicina e o *clearance* da creatinina foi reportada para pacientes com taxa de filtração aumentada, sugere a utilização do *clearance* da creatinina como índice de predição da dose diária de vancomicina requerida para o paciente (BRATER, 1986; RYBAK, 1990).

Em contrapartida, Garrelts & Peterie (1988) reportaram que a falta de correlação entre a depuração da vancomicina e o *clearance* da creatinina (CL_T vs CL_{Cr}) em pacientes queimados estaria relacionada a existência de outras vias de eliminação não renal naqueles pacientes. No presente estudo, não foi possível estabelecer correlação entre o vale da vancomicina e o *clearance* da creatinina ou CL_T vs CL_{Cr} , uma vez que o aumento na depuração plasmática, que mede a eliminação total da vancomicina, estaria associada a somatória da excreção renal e extra-renal do antimicrobiano. Tal rota de eliminação extra-renal seria de contribuição importante para justificar a perda do fármaco dissolvido no fluido que exsuda através da ferida dos pacientes queimados. Adicionalmente, frente aos valores de referência, registrou-se no presente estudo acréscimo não proporcional entre a depuração plasmática e o volume aparente de distribuição.

Embora se tenha indicação de que o regime de dose empírica necessita de ajuste, ainda não está definido o melhor regime de dose para garantir a eficácia da vancomicina em queimados, pois a ação bactericida desse agente é dependente do tempo, e o vale deve ser mantido entre 5 e 10 $\mu\text{g/mL}$ no intervalo entre doses. Desta forma, com base na falha terapêutica decorrente das alterações na farmacocinética da vancomicina, sugere-se que a individualização de dose seja segura, efetiva e farmacoeconomicamente viável nos pacientes queimados durante todo o seguimento do tratamento com esse antimicrobiano.

CEFEPIME

A terapia empírica com cefepime prevê regime de 2g 8/8 horas para pacientes em estado crítico portadores de sepse. Bonapace e colaboradores (1999) reportaram que a farmacocinética do cefepime está alterada em queimados, uma vez que a depuração

plasmática e o volume aparente de distribuição se mostraram aumentados em decorrência do incremento na taxa de filtração glomerular e pela gravidade da queimadura comparativamente aos pacientes não queimados. Não obstante, esses autores sugerem que o regime de dose não necessita de ajuste com base no tempo em que a concentração do fármaco permanece acima do CIM, ($\Delta T \geq \text{CIM}$).

Controversamente, Sampol e colaboradores (2000) reportaram que a farmacocinética do cefepime não está alterada; no presente estudo, resultados semelhantes foram obtidos uma vez que os parâmetros farmacocinéticos se mostraram dentro da faixa de referência recomendada. Desta forma a dose empírica se mostrou efetiva para os pacientes queimados sem disfunção renal; entretanto, a dose deve ser ajustada naqueles casos de pacientes com disfunção renal durante a permanência do paciente queimado no hospital.

Sampol e colaboradores (2000) reportaram que os dados de ASC (22%), $t_{1/2}$ (20%), CL_T (22%), e Vd (29%) dos pacientes queimados, não mostraram grande variabilidade inter-individual; os autores sugerem não ser necessário alterar o padrão de dosagem do cefepime em pacientes queimados. No presente estudo, apesar da efetividade do regime empírico utilizado para o cefepime (2g 8/8 horas), registrou-se baixa variabilidade ($\text{CV} < 20\%$) para a constante de eliminação e a respectiva meia vida biológica, enquanto maior variabilidade foi atribuída à depuração plasmática (39,1%) e ao volume de distribuição (43,1%) nos pacientes queimados.

Barbhaiya e colaboradores (1992a, 1992b) demonstraram boa correlação entre a depuração plasmática do cefepime e o *clearance* de creatinina em pacientes não queimados portadores de vários graus de disfunção renal. Posteriormente, Dixit e colaboradores (2000) recomendaram ainda o ajuste da dose para o cefepime em pacientes não queimados com base na idade além do *clearance* de creatinina.

Em contrapartida, no presente estudo realizado em pacientes queimados portadores de função renal normal, não foi possível estabelecer correlação entre o *clearance* de creatinina e a depuração total do cefepime. Entretanto, os dados obtidos até o momento relativos à farmacocinética do cefepime permitem recomendar a utilização do regime de dose empírica nos queimados e o ajuste de dose com base no monitoramento plasmático do antimicrobiano, principalmente nos pacientes com disfunção renal.

IMIPENEM

A terapia empírica com o imipenem prevê regime de 1g 6/6 horas para pacientes em estado crítico portadores de sepse. Boucher e colaboradores (1990) reportaram que a farmacocinética do imipenem não está alterada nos pacientes queimados; por outro lado, Dailly e colaboradores (2003) discordaram desses achados anteriores em investigação conduzida em pacientes queimados. No presente estudo, também se registrou alteração da farmacocinética do imipenem nos pacientes queimados investigados, uma vez que os parâmetros cinéticos se mostraram fora da faixa recomendada por Buckley e colaboradores (1992). Registrou-se aumento da depuração plasmática em duas vezes e do volume aparente de distribuição em cerca de quatro vezes; como consequência dessas alterações em diferentes proporções, a meia-vida biológica se mostrou prolongada, em decorrência do aumento mais pronunciado do volume aparente relativamente à depuração plasmática.

Boucher e colaboradores (1990) reportaram variabilidade de 30% a 40% (CV%: $t_{1/2}$ (42%), CL_T (22%), e V_d (38%)), para os parâmetros farmacocinéticos do imipenem em queimados. Resultado semelhante foi obtido no presente estudo com variabilidade de 30% na constante de eliminação e a respectiva meia-vida biológica; maior variabilidade foi atribuída à depuração plasmática (52,4%) e ao volume de distribuição (39,3%).

Boucher e colaboradores (1990) reportaram boa correlação entre a depuração plasmática do imipenem e o *clearance* de creatinina em queimados. Adicionalmente, Dailly e colaboradores (2003) recomendam o ajuste da dose para o imipenem com base no *clearance* de creatinina desses pacientes.

Por outro lado, e conforme já referido para a vancomicina no presente estudo, não foi possível estabelecer correlação entre o *clearance* de creatinina e a depuração total do imipenem nos pacientes queimados portadores de função renal normal, uma vez que existem outras rotas de eliminação não renal. Os dados obtidos até o momento para a farmacocinética do imipenem permitem recomendar a alteração do regime de dose nos pacientes queimados, com base no monitoramento plasmático desse carbapenêmico para a individualização da terapia antimicrobiana.

CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos pela realização do presente estudo conclui-se que:

- O monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina, imipenem e do cefepime fornece a sustentação laboratorial requerida no ajuste de dose e permite ao Clínico substituir com segurança o regime de dose empírica tanto para a vancomicina quanto para o imipenem; ressalta-se que o regime empírico utilizado para o cefepime mostrou-se efetivo não havendo necessidade de alteração do mesmo.
- A farmacocinética da vancomicina e do imipenem está alterada nos pacientes queimados, enquanto que a farmacocinética do cefepime se mostrou inalterada.

Finalmente, o monitoramento plasmático da vancomicina e do imipenem nos pacientes queimados mostrou-se de grande importância, uma vez que as concentrações plasmáticas para esses antimicrobianos foram inferiores às recomendadas, indicando que a maioria dos pacientes permanece em subterapia no regime de dose empírica. De forma a se evitar a emergência bacteriana e o óbito, recomenda-se o controle terapêutico dos queimados com sepse, uma vez que ocorrem profundas alterações na farmacocinética da vancomicina e do imipenem.

**MONITORAMENTO TERAPEUTICO E FARMACOCINETICA DA
VANCOMICINA APÓS OS PROCEDIMENTOS DE DESBRIDAMENTO *VERSUS*
ENXERTO**

INTRODUÇÃO

A infecção é a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes queimados (SHARMA et al., 2006). O controle das infecções e das complicações que afligem estes pacientes depende fundamentalmente do regime terapêutico dos antimicrobianos empregados. No paciente queimado, a extensão da superfície corporal atingida somada à profundidade da lesão térmica são as responsáveis pela quantidade de tecido destruído, determinando a gravidade da queimadura. Enquanto, o Clínico procura dimensionar a magnitude das repercussões sistêmicas que poderão advir em consequência da extensão da lesão, o cirurgião busca a reparação das feridas, que tanto poderão cicatrizar espontaneamente como necessitar de cirurgias de desbridamento e enxerto (GOMES; SERRA; GUIMARÃES, 2001).

A incidência de sepse na injúria térmica é muito alta devido à extensa destruição da barreira natural, dano celular e alterações da imunidade humoral (BANG et al., 1998). Geralmente, os pacientes queimados requerem terapia de alta dose para uma série de antimicrobianos de forma a manter concentração efetiva (BLANCHET et al., 2008). Reportou-se ainda a necessidade de aumento da dose fracionada e/ou da frequência de dose diária nesses pacientes (GARRELTS; PETERIE, 1988; RYBAK et al., 1990). Por outro lado, a farmacocinética e a farmacodinâmica estão alteradas em queimados, reportando-se também alta variabilidade interindividual e intra-individual nestes pacientes (ROSCHEFER et al., 1982; JAEDE; SORGEL, 1995; WEIMBRE, 1999; BLANCHET, et al., 2008).

A cirurgia de desbridamento visa à retirada do tecido inviável com capacidade reduzida ou mesmo nula de regeneração. Este tecido abriga e estimula a proliferação de microorganismos, que por sua vez podem determinar a sepse invasiva da queimadura. A associação do desbridamento de tecido inviável à terapêutica antimicrobiana, hidratação adequada e suporte nutricional visa atingir o equilíbrio paciente-microorganismo até que ocorra o fechamento permanente das feridas (PELLON, 1995).

Por outro lado, o procedimento de enxerto de pele é requerido para cobrir a área queimada quando a derme subjacente à área atingida pela queimadura sofre muitas lesões. O enxerto consiste em uma fração de pele saudável retirada de áreas não queimadas do corpo da própria vítima, de outra pessoa viva ou morta ou ainda de outras espécies, geralmente suínos (MACIEL; SERRA; 2006).

Dalley e colaboradores (2007) registraram aumento do risco de infecção hospitalar durante a cirurgia de desbridamento nos pacientes queimados em decorrência da subterapia

com beta-lactâmicos; desta forma, sugere-se extensa revisão dos regimes de dose para os antimicrobianos nos pacientes queimados (DALLEY et al., 2007).

A maior frequência de sepse causada por bactérias gram-positivas foi documentada anteriormente com destaque para o *Staphylococcus aureus*, microorganismo potencialmente patogênico e predominante em pacientes queimados, considerando-se tanto o meticilino sensível quanto o meticilino resistente (MACEDO et al., 2005). A infecção produzida por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) é um problema epidemiológico grave de difícil diagnóstico (HARDY et al., 2004). Comparados a pacientes cirúrgicos não queimados, os pacientes queimados adquirem com maior frequência MRSA (GANG, 2000).

A prevalência das infecções causadas pelo *Staphylococcus aureus*, meticilino resistente justifica o largo emprego da vancomicina nesses pacientes, uma vez que a subterapia relacionada à concentração plasmática inferior à efetiva mínima é consequência da terapia empírica. Desta forma, o uso apropriado de antimicrobianos é crucial sob o ponto de vista de resultado clínico e na prevenção da resistência bacteriana; entretanto, permanece ainda em discussão a necessidade de substituição da terapia empírica pela dose ajustada para evitar a falha terapêutica (BLANCHET et al., 2008; DALLEY et al., 2007; RICE, 1992; RYBAK et al., 1990).

A farmacocinética da vancomicina nos pacientes queimados ainda não foi investigada após procedimentos cirúrgicos de desbridamento e de enxerto. Desta forma, a realização de protocolo controlado comparando esses dois procedimentos com base nas concentrações plasmáticas é de extrema relevância para garantia da eficácia terapêutica e justifica a alteração do regime empírico. O monitoramento plasmático da vancomicina associado à modelagem farmacocinética tornou-se ferramenta indispensável na investigação da falha terapêutica com o risco de resistência bacteriana.

OBJETIVOS

- Monitorar as concentrações plasmáticas da vancomicina em pacientes queimados após os procedimentos de desbridamento *versus* enxerto, obedecendo ao protocolo de administração através de infusão intermitente no regime posológico empírico internacional recomendado no controle da sepse.
- Investigar a farmacocinética da vancomicina em pacientes queimados após os procedimentos de desbridamento e de enxerto.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1 ETAPA CLÍNICA

1.1.1. LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Hospital Geral “Dr. José Pangella” de Vila Penteado, localizado na região noroeste da cidade de São Paulo, SP, Brasil.

1.1.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Protocolo de Pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) das unidades participantes. O presente protocolo recebeu auxílio à pesquisa no período (FAPESP nº 07/55770-4).

1.1.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi previamente aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa das Instituições envolvidas no presente estudo (ANEXO C). Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram incluídos no estudo. O termo de consentimento foi assinado pelo paciente/ou seu representante legal e pelo clínico responsável, sendo uma via arquivada sob a guarda desse último.

1.1.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DOS PACIENTES

Incluíram-se pacientes queimados portadores de sepse internados na unidade de queimados do hospital no período compreendido entre outubro/2006 a maio/2008, os quais satisfizeram os critérios de elegibilidade descritos a seguir.

1.1.4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes de ambos os sexos, adultos, com idade entre 18 e 85 anos;
- Pacientes queimados com sinais e sintomas clínicos compatíveis com sepse, com necessidade de antimicrobiano sistêmico em associação (vancomicina e imipenem ou vancomicina e cefepime); paciente apresentando no mínimo dois dos seguintes sinais e sintomas:
 - Febre ($>38^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia (temperatura axilar /central $<35^{\circ}\text{C}$)
 - Frequência cardíaca acima de 90bpm,
 - Frequência respiratória acima de 20 incursões respiratórias por minuto,
 - Condição mental alterada,
 - Íleo adinâmico ou com obstrução,
 - Intolerância à glicose,
 - Aumento parcial da espessura da lesão ou necrose total, mudança na coloração da lesão para o vermelho escuro, marrom ou violáceo,
 - Descoloração hemorrágica de tecido subescara,
 - Degeneração de tecido de granulação ou formação de nova escara,
 - Edema em pele não queimada à margem da ferida,
 - Pigmento verde visível em gordura subcutânea,
 - Lesão nodular necrótica em pele não queimada,
 - Separação rápida, não esperada da escara,
 - Lesões vesiculares na cicatriz ou queimadura com cicatrização parcial da espessura,
 - Finalmente suspeita de infecção a critério do médico responsável.
- Pacientes com função renal dentro dos limites da normalidade, avaliada através do *clearance* de creatinina estimado pelo nomograma de Cockcroft e Gault (COCKCROFT & GAULT, 1976).
- Capacidade de ler, entender e fornecer o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Caso o paciente não possa fornecer o termo, um representante legal deve assinar o TCLE.

3.2.1.1. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Paciente gravemente neutropênico (contagem absoluta de neutrófilos $< 500/\text{mm}^3$) ou paciente apresentando neutropenia grave no período de estudo devido à quimioterapia prévia ou planejada ou ainda no paciente com HIV apresentando contagem de CD4 < 200 nos últimos seis meses;
- Mulheres grávidas ou amamentando;
- Admissão anterior em estudo clínico;
- Hipersensibilidade conhecida ou intolerância aos medicamentos em estudo ou aos excipientes de sua formulação.

1.1.5. CASUÍSTICA

Foram incluídos nove pacientes no presente estudo. Todos eles assinaram o TCLE, previamente aprovado pelas instituições envolvidas (1.1.3).

O estudo final e a análise de dados referem-se a nove pacientes queimados com sepse de ambos os sexos, com idade entre 18 e 46 anos, que receberam infusão intermitente de vancomicina pós-desbridamento e pós-enxerto.

Os dados antropométricos individuais dos pacientes incluídos no protocolo estão descritos no Quadro 9.

Quadro 9 - Características dos pacientes avaliados no estudo da vancomicina nos períodos pós-desbridamento e pós-enxerto, dados individuais, (n = 9).

Paciente #	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ 3º grau(%)
1	F	46	76	1,6	29,7	1,8	33
2	F	24	50	1,6	20,8	1,5	23
3	M	44	73	1,7	24,7	1,9	20
4	M	43	85	1,6	31,6	1,9	6
5	F	45	73	1,6	30,0	1,7	20
6	M	24	81	1,8	25,0	2,0	13
7	F	23	64	1,7	22,2	1,7	23
8	F	18	60	1,6	23,4	1,6	40
9	M	24	105	1,9	30,0	2,3	7

Abreviaturas: M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea SC: superfície corporal, SCQ: superfície corporal queimada

A função renal foi avaliada através da creatinina sérica (SCr: 0,6 e 1,4 mg/dL valor de referência, faixa normal); o *clearance* de creatinina (mL/min) foi estimado a partir da creatinina sérica, equação abaixo referida, utilizando o nomograma de Cockcroft e Gault (COCKCROFT & GAULT, 1976).

$$\text{Clearance creatinina} = \frac{(140 - \text{idade}) \times \text{Peso(kg)}}{72 \times \text{Cr(mg / dL)}}$$

No caso das mulheres, empregou-se a equação com fator de correção de 0,85, pois as mesmas apresentam uma menor produção de creatinina devido à sua massa muscular reduzida.

O Quadro 10 reúne os valores relativos à função renal, avaliada através da creatinina sérica e *clearance* de creatinina (CL_{CR}) de cada paciente investigado após o procedimento cirúrgico realizado (desbridamento seguido de enxerto).

Quadro 10 - Avaliação Laboratorial dos pacientes investigados, dados individuais, (n=9).

DESRIDAMENTO				ENXERTO		
Paciente	Salb	Scr	CLcr	Salb	Scr	CLcr
#	(g/dL)	(mg/dL)	(mL/min)	(g/dL)	(mg/dL)	(mL/min ²)
1F	2,4	0,4	210,8	2,4	0,7	120,5
2F	2,3	0,5	136,9	3,0	0,6	114,1
3M	2,0	0,8	121,7	2,0	0,7	139,0
4M	2,3	0,8	143,1	2,6	0,9	127,2
5F	1,8	0,7	117,0	1,7	0,7	117,0
6M	2,2	0,9	145,0	2,8	0,8	163,1
7F	3,3	0,8	110,5	3,3	0,8	110,5
8F	1,4	0,2	432,1	1,0	0,3	288,1
9M	2,5	0,9	188,0	2,5	1,0	169,2

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL), Salb:albumina sérica (1-4g/dL), *clearance* da creatinina: homens/mulheres: 85-125 / 75-115 mL/min 1,73m²

Verificou-se após os dois procedimentos cirúrgicos, que os pacientes investigados não apresentaram insuficiência renal. Entretanto, registrou-se em alguns deles, aumento do *clearance* de creatinina, consequência do estado hiperdinâmico do paciente.

1.1.6. PROTOCOLO CLÍNICO

Investigaram-se os pacientes queimados portadores sepse admitidos na Unidade no período de estudo compreendido entre outubro/2006 a maio/2008, que receberam medicação intravenosa, segundo o protocolo recomendado para o controle da sepse, Quadro 11.

Quadro 11 - Regime de dose recomendado para administração dos antimicrobianos vancomicina, cefepime e imipenem no controle da sepse. Micromedex, 2006.

ANTIMICROBIANO	REGIME POSOLÓGICO		
	Dose diária	Infusão rápida	Intervalo entre doses
VANCOMICINA	2g	1g (2x ao dia) 1h	12/12 horas
CEFEPIME	6g	2g (3x ao dia) 0,25 h	8/8 horas
IMIPENEM	4g	1g (4x ao dia) 0,25 h	6/6 horas

Realizaram-se sete coletas seriadas de sangue (2 mL cada), através de cateter venoso central, para a determinação das concentrações plasmáticas da vancomicina na 1^a, 2^a, 4^a, 6^a, 8^a, 10^a e 12^a hora. As coletas foram realizadas na UTI de Queimados por profissional treinado da enfermagem durante a permanência do paciente em duas etapas independentes, isto é, após a cirurgia de desbridamento e após a cirurgia de enxerto; portanto cada paciente foi submetido aos dois procedimentos cirúrgicos durante a internação. Uma vez que durante a cirurgia ocorre perda de sangue e reposição de fluídos, investigou-se cada paciente cirúrgico no pós-operatório tardio de forma a garantir a estabilidade hemodinâmica, equilíbrio entre os compartimentos fluidos para a manutenção do estado de equilíbrio atingido através do regime de infusão múltipla; desta forma, previamente a coleta seriada de sangue, aguardou-se um período de 24 a 48 horas da realização do procedimento cirúrgico.

O sangue coletado foi transferido para tubos contendo EDTA sódico (BD, São Paulo, SP, Brasil), seguido de homogeneização, três vezes por inversão, e centrifugação (3000 rpm, 30 minutos); volumes de 500 µL de plasma foram transferidos para tubos de Eppendorf (2 mL) contendo 250 µL de solução estabilizante ácido 3 N-morfolinopropano sulfônico a 10% (MOPS). Após o procedimento de estabilização das matrizes biológicas, os tubos foram acondicionados em caixas plásticas (devidamente identificadas por paciente e por tipo de procedimento realizado) em isopor contendo placas de GEL ICE até o envio para a realização da Etapa Analítica. Nos Laboratórios da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, todas

as amostras procedentes da Etapa Clínica foram conferidas em relação ao número de tubos enviados e rotulagem, e quanto à documentação e identificação de cada paciente. As matrizes biológicas congeladas contidas nos tubos/caixas foram armazenadas em congelador (-80° C) até a realização do ensaio.

1.2. ETAPA ANALÍTICA

A quantificação dos antimicrobianos nas amostras de plasma dos pacientes foi realizada através do método analítico de quantificação de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-UV), desenvolvido nos Laboratórios de Farmacocinética Clínica, FCF USP, já descrito em detalhes no CAPÍTULO I reportado por LÓPEZ *et al*, J.Chromatogr B. 2007. Realizou-se a determinação da vancomicina plasmática com objetivo de monitoramento terapêutico e investigação da farmacocinética nos pacientes queimados.

1.3. ANÁLISE FARMACOCINÉTICA

Aplicou-se o modelo aberto de um compartimento, com base nas características do fármaco, uma vez que ele apresenta desprezível ligação às proteínas plasmáticas, não sofre biotransformação e é de eliminação renal predominantemente através da filtração glomerular. Considerando-se a transformação logarítmica das concentrações plasmáticas (C) obtidas em função do tempo (t) após administração intravenosa do fármaco, aplicou-se o programa *PK Solutions* versão 2.0 *Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA, sendo representado pelo diagrama esquemático de decaimento exponencial, Esquema 1.

Esquema 1 - Curva de decaimento $C \times t$ – Modelo Monocompartimental

Estimaram-se as constantes farmacocinéticas modelo-dependente (constante de velocidade de eliminação e meia vida biológica) e modelo-independente (depuração plasmática e volume aparente de distribuição) a partir da área sob a curva integrada no intervalo de dose, conforme descrito no Quadro 12. A distribuição foi estimada a partir do volume aparente que expressa a extensão da distribuição, uma vez que no modelo utilizado a velocidade do processo alfa não foi determinada.

A meia-vida biológica $t_{(1/2\beta)}$, estimada na fase terminal da curva de decaimento é o tempo necessário para a redução da concentração plasmática em 50% na fase de eliminação. A constante da velocidade de eliminação (k_{el}) é definida a partir da inclinação da reta de eliminação, e a equação abaixo que permite correlacionar esses dois parâmetros do processo de eliminação.

Após administração intravascular do antimicrobiano investigado, a depuração plasmática (Cl_T) foi estimada a partir da razão entre a dose infundida e a área sob a curva integrada no intervalo de dose (ASC_{τ}^{SS}) considerando-se as concentrações plasmáticas obtidas no estado de equilíbrio. O volume aparente de distribuição (V_d) foi estimado através da razão entre a depuração plasmática e a constante de velocidade de eliminação (β).

Quadro 12 - Definições, representação, equações e unidades dos parâmetros farmacocinéticos.

PARÂMETRO	DEFINIÇÃO	UNIDADE	EQUAÇÃO
$t_{(1/2\beta)}$	Meia vida biológica	h	$0,693 / K_{el}$
β	Constante de velocidade de eliminação rápida	h^{-1}	$(\ln C_1 - \ln C_2) / \Delta t$
ASC_{τ}^{ss}	Área sob a curva período, integração ponto a ponto no intervalo de dose	$\mu g/mL.h$	Trapezóides (τ)
CL_T	Depuração plasmática	$mL/min.kg$	$Dose / AUC_{\tau}^{ss}$
V_d	Volume aparente de distribuição	L/kg	CL_T / β

DiPiro JT Spruill WJ, Blouin R.A, Pruemer JM, *Concept in clinical pharmacokinetics*. Americal Society of Health-System Pharmacyst, 3rd ed., 2002

Programa: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA.

Estimou-se o acúmulo da vancomicina através da concentração de vale, normalizado com o pico. Adicionalmente, estimaram-se os fatores de retenção, de perda e de acúmulo através equações descritas:

- Fator de retenção: $(e^{-k_{el} \cdot \tau})$
- Fator de perda: $(1 - e^{-k_{el} \cdot \tau})$
- Fator de acúmulo: $[1 / (1 - e^{-k_{el} \cdot \tau})]$

1.4. ETAPA ESTATÍSTICA

Com relação aos dados laboratoriais e antropométricos dos pacientes incluídos no protocolo de estudo, aplicou-se o programa estatístico *Microsoft Excel 2007* (Microsoft Corporation, USA) para análise descritiva. Os resultados foram expressos através das médias, medianas, desvio padrão, faixa de variação (intervalo de confiança 95% delimitado pelos limites inferior e superior) e valores mínimo e máximo obtidos.

Na avaliação estatística do monitoramento do decaimento plasmático da vancomicina em função do tempo, os resultados foram expressos através das médias, medianas, desvio padrão, faixa de variação (IC 95%) e valores mínimo e máximo obtidos para as concentrações em cada intervalo de tempo considerado. A análise estatística foi realizada através da utilização dos programas *Microsoft Excel 2007* (*Microsoft Corporation*, USA) e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0* (*GraphPad Software Inc.*, San Diego, CA, USA).

O programa estatístico recomendou a aplicação de análise estatística não paramétrica para os dados obtidos de concentrações plasmáticas em função do tempo. Desta forma, realizou-se a comparação entre os dois procedimentos cirúrgicos através do Teste de Wilcoxon; assim, a avaliação estatística inter-grupos utilizou teste não paramétrico para dados pareados; o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Nesta fase do estudo, comparou-se a farmacocinética da vancomicina após os procedimentos cirúrgicos de desbridamento e de enxerto nos pacientes queimados.

Após a modelagem farmacocinética, realizou-se teste de correlação linear pela aplicação do teste de Spearman com o programa *GraphPad InStat™*, *GraphPad Software Incorporated* (San Diego, USA).

2. RESULTADOS

2.1 CASUÍSTICA

Os dados antropométricos (sexo, idade, peso, altura, índice de massa corpórea, superfície corporal e superfície corporal queimada) dos pacientes incluídos no protocolo encontram-se resumidos na Tabela 3.1

Tabela 3.1 - Caracterização a população de pacientes queimados investigados após o procedimento cirúrgico de desbridamento seguido de enxerto (n = 9)

Parâmetro	Sexo M/F	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)	SC (m ²)	SCQ 3º grau (%)
Média	4/5	32,3	74,1	1,67	26,4	1,8	21
DP	NAP	11,1	14,9	0,10	3,8	0,2	10
Vmín	NAP	18,0	50,0	1,55	20,8	1,5	6
Vmáx	NAP	46,0	105,0	1,87	31,6	2,3	40
LI IC 95%	NAP	25,1	64,4	1,60	23,9	1,7	14
LS IC 95%	NAP	39,6	83,9	1,74	28,8	2,0	27

Abreviaturas: NAP: Não Aplicável; M: masculino; F: feminino; IMC: índice de massa corpórea; SC: superfície corporal; SCQ: superfície corporal queimada; DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo.

Programa estatístico: Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) e GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

A função renal dos pacientes incluídos neste protocolo de pesquisa foi avaliada nos períodos pós-desbridamento e pós-enxerto. Desta forma, para a estimativa do *clearance* de creatinina, empregou-se o nomograma de Cockcroft e Gault (COCKCROFT & GAULT, 1976). Os resultados obtidos para ambos os grupos encontram-se resumidos na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Avaliação da função renal dos pacientes investigados (n=9).

	DESBRIDAMENTO			ENXERTO		
Paciente #	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min)	Salb (g/dL)	Scr (mg/dL)	CLcr (mL/min)
Média	2,2	0,7	178,3	2,4	0,7	149,9
Mediana	2,3	0,8	143,1	2,5	0,7	127,2
DP	0,5	0,2	100,7	0,7	0,2	55,97
LI IC 95%	1,8	0,5	100,9	1,8	0,6	106,8
LS IC 95%	2,7	0,9	255,8	2,9	0,9	192,9

Valores de referência: Scr: creatinina sérica (0,6-1,2 mg/dL); Salb:albumina sérica(1-4g/dL), clearance da creatinina: mulheres/homens: 75-115 / 85-125 mL/min/ 1,73m²

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%

Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

Não se evidenciou diferença significativa entre procedimentos nos pacientes investigados, tanto com relação à creatinina plasmática ($p= 0,156$) quanto à albumina plasmática ($p= 0,324$), pela comparação do desbridamento *versus* enxerto.

2.2. MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA APÓS CIRURGIA DE DESBRIDAMENTO E DE ENXERTO

Os dados populacionais obtidos pós-desbridamento e pós-enxerto da concentração plasmática versus tempo decorrido entre infusões consecutivas, se encontram expressos através de média, mediana, desvio padrão da média, valor mínimo, valor máximo, limite inferior do intervalo de confiança 95% (LI IC95%) e limite superior do intervalo de confiança 95% (LS IC95%) representadas na Tabela 3.3 e 3.4 pós-cirurgia de desbridamento e pós-enxerto respectivamente.

Tabela 3.3 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, período pós-desbridamento (n = 9)

C(µg/mL)	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h
Média	2,1	24,0	15,1	10,0	6,6	4,6	3,1	2,1
Mediana	2,5	21,0	15,0	10,0	6,8	4,6	3,4	2,5
DP	1,1	7,6	5,2	3,6	2,6	2,0	1,5	1,1
Vmín	0,5	12,5	8,0	4,6	2,6	1,5	0,8	0,5
Vmáx	3,5	35,0	21,3	14,2	9,8	6,8	4,9	3,5
LI IC95%	1,3	19,0	12,0	7,8	5,0	3,3	2,1	1,4
LS IC95%	3,0	29,0	18,3	12,2	8,3	5,7	4,0	2,8

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%
Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

Tabela 3.4 - Concentrações plasmáticas da vancomicina, período pós-enxerto (n = 9)

C(µg/mL)	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h
Média	4,8	27,0	17,6	13,2	10,0	7,6	6,0	4,8
Mediana	3,1	28,0	16,4	12,6	9,2	6,0	3,9	3,1
DP	4,6	6,1	6,5	5,4	5,1	5,0	4,9	4,6
Vmín	1,5	18,0	7,6	5,5	3,9	2,8	2,0	1,5
Vmáx	17,5	39,0	25,8	24,0	22,0	20,0	18,5	17,5
LI IC95%	1,8	23,0	12,7	9,9	6,8	4,6	2,9	1,8
LS IC95%	8,6	31,0	21,6	16,5	13,2	10,7	9,0	8,6

Abreviaturas: C: concentração; DP: desvio padrão da média; Vmín: valor mínimo; Vmáx: valor máximo; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%
Programa estatístico: *Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA)* e *GraphPad Prism for Windows versão 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)*.

A Tabela 3.5 descreve os resultados obtidos das concentrações plasmáticas da vancomicina (medianas, valores mínimo e máximo) e a análise estatística comparativa.

Não se evidenciou diferença estatística pela comparação das concentrações plasmáticas da vancomicina entre 1-4 horas da infusão pós-desbridamento e pós-enxerto ($p > 0,05$). Entretanto, a partir da sexta hora, registrou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as concentrações plasmáticas obtidas após os dois procedimentos, provavelmente devido a maior perda pela ferida pelo desbridamento. Registrou-se decaimento mais lento das concentrações plasmáticas do antimicrobiano após a cirurgia de enxerto comparada ao desbridamento. A partir da oitava hora pós-desbridamento ressalta-se que as concentrações plasmáticas obtidas se encontraram abaixo da faixa de referência descrita para o vale ou Concentração Mínima Eficaz (CME), enquanto que no pós-enxerto, as concentrações plasmáticas obtidas foram inferiores à CME somente à partir da décima hora.

Tabela 3.5 - Monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina, após as cirurgias de desbridamento e de enxerto, valores populacionais (n= 9).

	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h
Mediana								
<i>Desbridamento</i>	2,5	21,0	15,0	10,0	6,8	4,6	3,4	2,5
<i>Enxerto</i>	3,1	28,0	16,4	12,6	9,2	6,0	3,9	3,1
<i>p</i>	0,0039	0,4258	0,4409	0,2500	0,0177	0,0090	0,0039	0,0039
V_{mín}								
<i>Desbridamento</i>	0,5	10,1	8,0	4,6	2,6	1,5	0,8	0,5
<i>Enxerto</i>	1,5	9,0	7,6	5,5	3,9	2,8	2,0	1,5
V_{máx}								
<i>Desbridamento</i>	3,5	35,0	21,3	14,2	9,8	6,8	4,9	3,5
<i>Enxerto</i>	17,5	39,0	25,8	24,0	22,0	20,0	18,5	17,5

Abreviaturas: valor mínimo (V_{mín}); valor máximo (V_{máx})

Programa estatístico: GRAPHPAD PRISMA, versão 4.0 Estatística

Comparação Intergrupos (significância $p < 0,05$), Teste Wilcoxon

A Figura 32 representa o decaimento plasmático da vancomicina após cada procedimento cirúrgico, representado através das médias e o erro padrão.

Figura 32 - Curvas de decaimento plasmático da vancomicina no decurso de tempo, após desbridamento e enxerto, valores médios/desvio padrão da média; CME: concentração mínima eficaz, valor de referência: 5 µg/mL, Lundstrom (2004)

A concentração plasmática de vancomicina expressa através da faixa de variação do intervalo de confiança 95% é referida no período de estudo pós-desbridamento: 19,0-29,0 µg/mL (1^a h); 12,0-18,3 µg/mL (2^a h); 7,8-12,3 µg/mL (4^a h); 5,0-8,3 µg/mL (6^a h); 3,3-5,7 µg/mL (8^a h); 2,1-4,0 µg/mL (10^a h) e 1,4-2,8 µg/mL (12^a h); por outro lado no pós-exerto, as concentrações plasmáticas da vancomicina decaíram no período 23,0-31,0 µg/mL (1^a h); 13,6-21,6 µg/mL (2^a h); 9,9-16,5 µg/mL (4^a h); 6,8-13,2 µg/mL (6^a h); 4,6-10,7 µg/mL (8^a h); 2,9-8,9 µg/mL (10^a h) e 1,8-7,8 µg/mL (12^a h). Considerando-se que a vancomicina tem a ação bactericida tempo dependente, recomenda-se CME $\geq$ 5µg/mL; portanto, a atividade bactericida é perdida à medida que a concentração plasmática decai para valores abaixo do recomendado.

O número de pacientes que apresentou no desbridamento *versus* enxerto, respectivamente, concentração plasmática abaixo do recomendado (<5µg/mL) cresceu em função do tempo: 2^a h (1/9 vs 0/9); 4^a h (1/9 vs 0/9); 6^a h (3/9 vs 1/9); 8^a h (5/9 vs 1/9); 10^a h (9/9 vs 5/9) e na 12^a h (9/9 vs 7/9). Ressalta-se que todos os pacientes mostraram-se dentro do

recomendado até 4 horas do início da infusão no pós-enxerto, enquanto que nenhum paciente evidenciou concentração plasmática mínima eficaz a partir da 10ª hora no pós-desbridamento.

A Figura 33 representa a transformação logarítmica das concentrações plasmáticas da vancomicina obtidas em função do tempo, após os dois procedimentos cirúrgicos (médias). O decaimento das concentrações plasmáticas da vancomicina foi mais acentuado no pós-desbridamento comparativamente ao pós-enxerto, indicando que a constante de velocidade de eliminação da vancomicina é maior no pós-desbridamento do que no pós-enxerto.

Figura 33 - Transformação logarítmica das concentrações plasmáticas da vancomicina após desbridamento e após enxerto, valores médios.

A Figura 34 representa as concentrações plasmáticas da vancomicina no vale após cada procedimento cirúrgico, ilustrando a variabilidade inter-pacientes para o regime posológico empírico utilizado. Os resultados obtidos para as concentrações plasmáticas de vale (valores obtidos: mínimo e máximo) foram 0,5 µg/mL e 3,5 µg/mL pós-desbridamento e 1,5 µg/mL e 17,5 µg/mL pós- enxerto.

Figura 34 - Concentração no vale da vancomicina em pacientes avaliados pós desbridamento e enxerto. Valores individuais e valores expressos em média e mediana. CME: concentração mínima eficaz. (CME: 5 µg/mL)

O acúmulo da vancomicina expresso pela razão vale/pico (valor normalizado) é ilustrado na Figura 35. Os dados obtidos foram interpretados com relação à faixa de referência para o vale (5-10 µg/mL) e o pico (20-50 µg/mL), reportada anteriormente (LUNDSTROM; SOBEL, 2004). Os resultados da razão (vale/pico) indicam que o fármaco se acumula em menor extensão no pós-desbridamento comparativamente ao pós-enxerto, consequência da maior perda de vancomicina após esse último procedimento.

Figura 35 - Acúmulo da Vancomicina, os dados populacionais expressos pela razão vale : pico, media/DP.

Obteve-se boa correlação linear ($R > 0.95$) quando se plotou fator da retenção *versus* razão vale/pico da vancomicina para os pacientes após cada procedimento cirúrgico, ilustrado nas Figuras 36 e 37.

Figura 36 - Acúmulo da vancomicina após desbridamento: fator da retenção ($e^{-k_{el} \cdot \tau}$) *versus* razão vale/pico; correlação linear ($R > 0.95$).

Figura 37 - Acúmulo da vancomicina após enxerto: fator da retenção ($e^{-k_{el} \cdot \tau}$) *versus* razão vale/pico; correlação linear

2.3. AVALIAÇÃO DA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DA VANCOMICINA APÓS CIRURGIA DE DESBRIDAMENTO E DE ENXERTO

2.3.2. FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL

Estimaram-se os parâmetros farmacocinéticos com base no modelo aberto de um compartimento, através do programa *PK Solutions* (versão 2.0 *Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, Ashland, OH, USA).

Os parâmetros farmacocinéticos estimados (depuração plasmática, volume aparente de distribuição, constante de eliminação e meia-vida biológica) para a população de pacientes investigados pós-desbridamento e pós-enxerto encontram-se referidos na Tabela 3.6 e 3.7, respectivamente. Os resultados obtidos foram expressos através da mediana, valores obtidos mínimo e máximo, limite superior e inferior da faixa (FV IC 95%).

Tabela 3.6 – Parâmetros farmacocinéticos após cirurgia de desbridamento

	K_{el} h^{-1}	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T $mL/min.kg$	V_d L/kg
Média	0,21	3,6	2,9	0,62
Mediana	0,19	3,6	2,3	0,55
DP	0,07	1,0	1,6	0,19
V_{mín}	0,14	2,1	1,4	0,43
V_{máx}	0,34	5,0	5,5	0,97
LI IC95%	0,17	2,9	1,8	0,50
LS IC95%	0,26	4,2	3,9	0,74

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{1/2\beta}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; V_d : volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

Tabela 3.7 – Parâmetros farmacocinéticos após cirurgia de enxerto

	K_{el} h ⁻¹	$t_{1/2\beta}$ h	Cl_T mL/min.kg	Vd L/kg
Média	0,15	5,9	2,1	0,67
Mediana	0,16	4,3	1,7	0,56
DP	0,06	4,4	1,0	0,25
V_{mín}	0,04	3,0	0,8	0,46
V_{máx}	0,23	17,2	4,5	1,25
LI IC95%	0,11	3,0	1,4	0,50
LS IC95%	0,19	8,7	2,7	0,83

Abreviaturas: DP: desvio padrão da média; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{1/2\beta}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição; LI IC95%: limite inferior do intervalo de confiança 95%; LS IC95%: limite superior do intervalo de confiança 95%.

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

Através da análise estatística, os parâmetros farmacocinéticos estimados após as cirurgias de desbridamento e de enxerto mostraram diferenças significativas; Tabela 3.8 compara os resultados pós-desbridamento e pós-enxerto, frente aos valores de referência reportados anteriormente (LEADER et al., 1995).

Tabela 3.8 – Disposição cinética da vancomicina em pacientes queimados após cirurgia de desbridamento *versus* enxerto, n= 9; medianas (intervalo de confiança IC95%)

Parâmetro Farmacocinético	Desbridamento (D)	Enxerto (E)	Probabilidade (D vs E)	Valores de Referência(*)
β (h ⁻¹)	0,194 (0,167 - 0,256)	0,161 (0,113 - 0,189)	0,0273	0,116 – 0,173
$t_{(1/2\beta)}$ (h)	3,6 (2,9 - 4,2)	4,3 (3,0 – 8,7)	0,0273	3,8-7,4
Cl_T (mL/min.kg)	2,3 (1,8 - 3,9)	1,7 (1,4 - 2,7)	0,0391	1,3 – 1,5
V_d (L/kg)	0,55 (0,50 - 0,74)	0,56 (0,50 - 0,83)	0,0089	0,33 – 0,45

Abreviaturas: K_{el} : constante de velocidade de eliminação; $t_{(1/2\beta)}$: meia-vida biológica; Cl_T : depuração plasmática; V_d : volume aparente de distribuição; intervalo de confiança (IC95%), D: desbridamento; E: enxerto

Programa estatístico: *GraphPad Prism for Windows 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Comparação Inter-grupos/procedimentos (Significância Estatística $p < 0,05$), Teste de Wilcoxon

Programa farmacocinético: *PK Solutions 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis*, (Ashland, OH, USA).

(*) LEADER; CHANDLER; CASTIGLIA,1995

A Figura 38 compara os resultados pós-desbridamento e pós-enxerto, a faixa de variação demarcada na ilustração representa os valores de referência para indivíduos não queimados reportados na literatura.

Figura 38 - Desbridamento seguido pelo enxerto em pacientes queimados. Os dados cinéticos foram expressos como medianas. ■ Faixa de referência para cada parâmetro cinético. (LEADER; CHANDLER; CASTIGLIA,1995)

2.3.2. FARMACOCINÉTICA DOS PACIENTES INDIVIDUAIS

Os dados individuais dos pacientes após as cirurgias de desbridamento e de enxerto para a constante de eliminação e a respectiva meia-vida biológica estão representados nas Figuras 39 e 41, enquanto a variabilidade inter e intra indivíduos é ilustrada nas Figuras 40 e 42.

Considerando-se a constante de velocidade, cinco dos nove pacientes mostraram valores acima da faixa de referência, indicando aumento do parâmetro na maioria dos pacientes no pós-desbridamento; após o enxerto, apenas dois dos nove pacientes mostraram aumento do parâmetro, Figura 39.

Figura 39 - Constante de eliminação da vancomicina. Valores individuais, valores expressos em média, mediana e valores de referência/ mínimo e máximo. FR: faixa de referência.

A Figura 40 ilustra alta variabilidade inter e intra-individual para a constante de eliminação pela comparação entre os dois procedimentos cirúrgicos, quando expressa através da razão pós-enxerto/pós-desbridamento o parâmetro variou em cerca de cinco vezes.

Figura 40 - Razão da constante de eliminação enxerto/desbridamento. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.

Considerando-se a meia vida biológica, cinco dos nove pacientes mostraram valores abaixo da faixa de referência, indicando redução da meia vida na maioria dos pacientes no pós-desbridamento; após o enxerto, apenas dois dos nove pacientes mostraram meia vida reduzida, Figura 41.

Figura 41 - Meia-vida biológica da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.

A Figura 42 ilustra alta variabilidade inter e intra-individual pela comparação entre os dois procedimentos cirúrgicos, para a meia-vida biológica, uma vez que expressa através da razão pós-enxerto/pós-desbridamento o parâmetro variou em cerca de três vezes.

Figura 42 - Razão da meia vida biológica enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.

Registrou-se diferença significativa na depuração plasmática da vancomicina pela comparação dos procedimentos cirúrgicos ($p < 0,05$); o aumento da depuração plasmática em 78% (7/9) dos pacientes pós-desbridamento *versus* 67% (6/9) dos pacientes pós-enxerto justifica a redução da meia-vida biológica descrita anteriormente para o paciente pós-desbridamento, Figura 43.

Figura 43 - Depuração plasmática da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.

A Figura 44 ilustra alta variabilidade inter e intra-individual pela comparação entre os dois procedimentos cirúrgicos para a depuração plasmática; quando expressa através da razão pós-enxerto/pós-desbridamento obteve-se variação em cerca de 3 vezes conforme já referido anteriormente para a meia-vida biológica.

Figura 44 - Razão da depuração plasmática enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.

Com relação ao volume aparente de distribuição no pós-desbridamento e pós-enxerto, sete dos nove pacientes mostraram valores acima da faixa de referência, sugerindo que o parâmetro se encontre aumentado no paciente cirúrgico independentemente do tipo de procedimento realizado, Figura 45; alta variabilidade interindivíduos foi registrada para o parâmetro.

Figura 45 - Volume aparente de distribuição da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média, mediana e valores de referência/mínimo e máximo. FR: faixa de referência.

Entretanto, pela comparação dos procedimentos cirúrgicos baixa variabilidade intra-individual foi registrada para o volume aparente de distribuição, expresso através da razão pós-enxerto/pós-desbridamento, o parâmetro variou entre 1,0 e 1,3 vezes, Figura 46.

Figura 46 - Razão do volume aparente de distribuição enxerto/desbridamento da vancomicina. Valores individuais e valores expressos em média e mediana.

Finalmente, a farmacocinética da vancomicina pós-desbridamento comparado ao pós-enxerto evidenciou aumento da constante de velocidade de eliminação e da depuração plasmática, registrando-se redução proporcional na meia vida biológica.

2.4. CORRELAÇÃO LINEAR

Tabela 3.9 - Correlação linear entre os parâmetros estimados para a vancomicina em pacientes queimados pós-desbridamento e pós-enxerto, n= 9, Teste de Spearman.

Parâmetros Y:X	Desbridamento			Enxerto		
	R ²	R	p	R ²	R	p
Fr: Vale/Pico	0,972	0,983	0,0001	0,921	0,957	0,0001
Vale: (ASC/dose)	0,518	0,720	0,0288	0,796	0,892	0,0012
t _(1/2β) : (Vale/Pico)	0,964	0,983	0,00001	0,959	0,979	0,00001
CL _T : t _(1/2β)	0,151	-0,388	0,3016	0,590	-0,768	0,0260
CL _T : Kel	0,255	0,505	0,1660	0,666	0,816	0,0135
Log vale : CL _T	0,712	-0,844	0,0043	0,633	-0,796	0,0103
Vd : t _(1/2β)	0,310	0,558	0,1181	0,586	0,765	0,0163
CL _T : Vd	0,008	0,089	0,8195	0,174	-0,417	0,2644
CL _T : CL _{creatinina}	0,106	0,325	0,3920	0,002	0,045	0,9140

Abreviaturas: Fr: fator de retenção; ASC: área sob a curva; K_{el}: constante de velocidade de eliminação; t_(1/2β): meia-vida biológica; CL_T: depuração plasmática; Vd: volume aparente de distribuição

Programa estatístico: GraphPad Prism for Windows 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Após cada procedimento cirúrgico realizado nos pacientes queimados foi possível estabelecer boa correlação linear entre os parâmetros de acúmulo do fármaco conforme referido a seguir: a) fator de retenção vs vale normalizado com o pico, b) vale vs ASC normalizada com a dose, c) meia vida biológica vs vale normalizado com o pico, d) vale (transformação logarítmica) vs depuração plasmática. Evidenciou-se boa correlação entre os parâmetros plotados tanto no pós-desbridamento quanto no pós-enxerto, Tabela 3.9.

Obteve-se boa correlação linear quando se plotou a depuração plasmática vs meia-vida biológica e a depuração plasmática vs constante de velocidade de eliminação; entretanto, registrou-se redução dessas correlações no pós desbridamento, sugerindo-se que após ambos os procedimentos cirúrgicos, os parâmetros modelo dependentes sejam alterados em diferentes proporções.

Relativamente ao volume aparente, obteve-se boa correlação linear quando se plotou o volume aparente de distribuição vs meia-vida biológica no pós-enxerto; entretanto, como

descrito anteriormente para a depuração plasmática, registrou-se também uma redução dessa correlação no pós-desbridamento. Adicionalmente, não foi possível estabelecer correlação entre o volume aparente de distribuição vs depuração plasmática em decorrência das alterações de meia-vida biológica e da constante de velocidade de eliminação nos pacientes queimados, somadas aquelas ocorridas em diferentes proporções após ambos os procedimentos cirúrgicos.

3. DISCUSSÃO

MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VANCOMICINA APÓS CIRURGIA DE DESBRIDAMENTO E ENXERTO

A vancomicina tem a ação bactericida tempo-dependente; a concentração plasmática deve estar acima da concentração inibitória mínima (CIM) em cerca de quatro vezes, e à medida que decai abaixo desse valor, a atividade bactericida é perdida (RIBAK, 2006). A literatura internacional recomenda concentração plasmática para a vancomicina variando entre 20-50 µg/mL para o pico e entre 5-10 µg/mL para o vale (LUNDSTROM; SOBEL, 2004).

Garrelts & Peterie (1988), empregando regime posológico empírico para a vancomicina (1 g infusão cada 12 horas), observaram que a concentração recomendada no vale não foi alcançada, sendo necessário aumentar em 1,5 vezes a dose diária do antimicrobiano nos pacientes queimados relativamente aos não queimados. Com relação à maior dose requerida de vancomicina para os pacientes queimados, resultados semelhantes foram obtidos por Rybak e colaboradores (1990) em estudo realizado em 10 pacientes (SCQ entre 16 e 45%). Segundo esses autores, o mecanismo que justifica maior dose nesses pacientes é ainda desconhecido; assim, recomenda-se a individualização da terapia com esse antimicrobiano com base no monitoramento plasmático do vale.

É importante destacar que pela utilização da dose empírica de vancomicina, os pacientes queimados ficam expostos à subterapia conforme resultado registrado no presente estudo. Adicionalmente, pela realização dos procedimentos cirúrgicos nos pacientes queimados, investigaram-se as alterações ocorridas no decaimento plasmático e na farmacocinética da vancomicina. O monitoramento das concentrações plasmáticas do fármaco através de CLAE-UV forneceu os resultados: 18,9 a 28,9 µg/mL (FV IC 95%) para o pico pós-desbridamento e 23,1 a 31,0 µg/mL pós-enxerto; 1,25 a 2,98 µg/mL para o vale pós-desbridamento e 1,07 a 8,59 µg/mL pós-enxerto. Registrou-se decaimento plasmático mais rápido no pós- desbridamento comparado ao pós-enxerto; justifica-se então essa diferença pelo menor acúmulo do fármaco pós-desbridamento provavelmente pela maior perda de vancomicina através da ferida, decorrente desse procedimento cirúrgico. Anteriormente, reportou-se excreção extra-renal aumentada nos pacientes queimados como mecanismo adicional de eliminação para os aminoglicosídeos (SAWCHUK; RECTOR, 1980). De acordo

com esses resultados, e com base no presente estudo sugere-se revisão do regime posológico empírico, de forma que a terapia antimicrobiana garanta eficácia nos pacientes queimados durante o seguimento terapêutico pós-desbridamento e pós-enxerto.

AValiação da Disposição Cinética da Vancomicina Após Cirurgia de Desbridamento e de Enxerto

O aumento da incidência de *S. aureus* metilina resistente justifica a maior demanda na prescrição de vancomicina no controle da sepse. Reportou-se anteriormente alteração na farmacocinética da vancomicina nos pacientes queimados (BRATER et al., 1986; GARRELTS; PETERIE, 1988; ROTSCHARFER et al., 1986 RYBAK et al., 1990).

A comparação dos procedimentos cirúrgicos nos queimados, descrita no presente estudo, resultou em aumento significativo da depuração plasmática pós-desbridamento (1,8-3,9 mL/min.kg, LI-LS IC95%) *versus* pós-enxerto (1,4-2,7 mL/min.kg). Adicionalmente, evidenciou-se redução significativa (40%) da meia-vida biológica da vancomicina pós-desbridamento, fato esse explicado pelo aumento da depuração plasmática após a realização desse procedimento cirúrgico.

Registrou-se ainda neste estudo, depuração plasmática acima dos valores recomendados (1,3-1,5 mL/min.kg) após ambos os procedimentos cirúrgicos, com destaque no pós-desbridamento, uma vez que o parâmetro sofreu acréscimo em cerca de duas vezes nesses pacientes. Por outro lado, registrou-se meia-vida biológica (3,6 h) abaixo do valor recomendado (5,6 h) no pós-desbridamento; esses resultados estão de acordo com aqueles reportados por Garrelts & Peterie (1988) para pacientes queimados (3,8 h) *versus* não queimados (5,2 h).

Estudos anteriores confirmam os resultados do presente estudo relativamente à depuração plasmática aumentada para pacientes (sem disfunção renal) queimados *versus* não queimados, 2,04 *versus* 0,97 mL/min.kg, respectivamente (RIBAK et al., 1990). Esses autores sugerem que o aumento do parâmetro seja consequência do acréscimo na taxa de filtração glomerular, secreção tubular ou de ambos após a queimadura. Registrou-se também alta

variabilidade obtida para a depuração plasmática (0,13- 2,74 mL/min.kg) em pacientes queimados com e sem disfunção renal (BRATER et al.,1986).

Por outro lado, sugerem-se dois mecanismos adicionais tais como o aumento da eliminação não renal, particularmente através da ferida da queimadura e a alteração na ligação às proteínas, que poderiam justificar o incremento na depuração plasmática da vancomicina em queimados (BLOEDOW et al.,1986; BRATER et al., 1986).

Relativamente à extensão da distribuição da vancomicina em queimados, o presente estudo registrou volume aparente de distribuição aumentado em 78% dos pacientes após a realização de ambos os procedimentos cirúrgicos. Esses resultados estão de acordo com aqueles reportados por Dailly e colaboradores (2003) para a ceftazidima em estudo conduzido também em pacientes queimado; controversamente, Rybak e colaboradores (1990) reportam que o volume aparente de distribuição não está alterado nesses pacientes.

Os dados obtidos no presente estudo com relação ao volume aparente de distribuição podem ser justificados pela forma como a distribuição do antimicrobiano ocorre no organismo, ou seja, após administração parenteral, o fármaco hidrofílico de baixa ligação às proteínas se distribui em todos os compartimentos fluidos intra e extravascular (intracelular, extracelular e intersticial). A distribuição é alterada por diversos fatores específicos relacionados ao paciente, como a frequência cardíaca, fluxo sanguíneo, função fisiológica dos órgãos depuradores, além da água corporal total (FRY, 1996). Por outro lado, o paciente queimado se caracteriza pelo estado hiperhidratado, que contribui para maior seqüestro do antimicrobiano hidrofílico da circulação sistêmica pelos compartimentos fluidos extravasculares.

Além disso, após a queimadura, o líquido procedente do tecido abaixo da escara constitui um compartimento fluido específico, sendo o seu acúmulo resultante da dilatação das veias, e do aumento tanto da pressão osmótica extravascular como da permeabilidade microvascular no tecido queimado (ARTURSON, 1979). Sabe-se ainda que o líquido da subescara e plasma são semelhantes (HEGGERS, 1980); consequentemente, este novo compartimento poderia contribuir para o seqüestro da molécula hidrofílica da vancomicina, e justificar o aumento do volume aparente de distribuição após ambos os procedimentos cirúrgicos realizados nos pacientes queimados.

ESTUDO DE CORRELAÇÕES

Na prática clínica, a estimativa da função renal é importante no seguimento do paciente e fornece sustentação laboratorial no ajuste de dose. Desta forma, a alteração do regime posológico é requerida na individualização da farmacoterapia para antimicrobianos hidrofílicos como a vancomicina de eliminação renal e estreita margem de segurança. Se o fármaco é eliminado em cerca de 90% sob forma inalterada pelos rins através da filtração glomerular, faz-se necessário o ajuste de dose para o paciente com insuficiência renal, com maior acúmulo decorrente da depuração plasmática diminuída, fato esse que justifica o prolongamento da meia-vida biológica (MANDELL & PETRI, 1996).

Por outro lado, Brater e colaboradores (1986) reportaram boa correlação entre a depuração plasmática da vancomicina e o *clearance* da creatinina, sugerindo que o ajuste de dose poderia ser realizado apenas pela utilização desse parâmetro nos pacientes queimados.

Controversamente, Garrelts & Peterie (1988) sugerem que o aumento na taxa de filtração glomerular em pacientes queimados não seja o fator responsável pelo aumento de dose requerida. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a inexistência de correlação entre as concentrações plasmáticas da vancomicina e a depuração de creatinina neste grupo de pacientes. Desta forma, sugere-se que a falta de correlação entre os níveis plasmáticos da vancomicina e o *clearance* da creatinina, seja conseqüência do estado hipermetabólico no paciente queimado, situação essa registrada ao redor de 48 horas do acidente/queimadura; deve-se considerar ainda o efeito sistêmico da inflamação e o estresse oxidativo.

Nesse período hipermetabólico, após a administração adequada de fluidos, o paciente entra no estado hiperdinâmico, e ocorre aumento da contractilidade cardíaca, elevação do fluxo cardíaco e redução da resistência vascular sistêmica. Além disso, o fluxo de sangue regional é aumentado, especialmente no fígado e nos rins, o que leva a um aumento da depuração plasmática de fármacos hidrofílicos através da filtração glomerular, indicado pelo *clearance* da creatinina (CL_{CR}).

Considerando-se o *clearance* extra-renal, segundo Blanchet e colaboradores (2008), a depuração não renal (CL_{NR}) de antimicrobianos estaria aumentada pelo extravasamento de fluido através da lesão de áreas queimadas; desta forma, apesar da vancomicina apresentar eliminação renal, os resultados obtidos no presente estudo em pacientes queimados pós-

cirúrgicos sugerem que a depuração plasmática estaria aumentada pela contribuição significativa da depuração não renal, principalmente no pós-desbridamento. Consequentemente, o *clearance* de creatinina não seria bom parâmetro para o ajuste de dose de vancomicina nos pacientes queimados.

4. CONCLUSÕES

- Os procedimentos de desbridamento e de enxerto realizados rotineiramente em pacientes queimados alteram as concentrações plasmáticas da vancomicina em diferentes proporções no período pós-cirúrgico.
- A farmacocinética da vancomicina está alterada em pacientes queimados, sendo que os parâmetros cinéticos mostraram diferença significativa pós-desbridamento relativamente ao pós-enxerto.
- O ajuste do regime de dose realizado com base no monitoramento terapêutico da vancomicina é recomendável nos pacientes queimados pós-cirúrgicos, de forma a evitar a falha terapêutica e reduzir o risco de resistência bacteriana, decorrente da farmacocinética alterada.

ALVAN, G.; NORD, C.E. Adverse effects of monobactams and carbapenems. **Drug Safety**, v. 12, n. 5, p. 305-313, 1995.

ÁLVAREZ-LERMAA F.; OLAECHEAB, P.; GRAUC, S.; MARÍNC, M.; DOMÍNGUEZ, A.; MARTÍNEZ-LANAOE J. Recomendaciones para la monitorización de antibióticos en pacientes críticos ingresados en UCI. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 26, n. 4, p. 230-239, 2008.

AMATO NETO, V.; LEVI, G.C.; LOPES, H.V.; MENDOÇA, J.S.; BALDY, J.L.S. Antibióticos na prática médica. 4ª edição. São Paulo. Editora Sarvier. 1994.

ARTURSON, G.; JONSSON, C.E. Transcapillary transport after thermal injury. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 13, p. 29-38, 1979.

BACKES, D.W.; ABOLENEEN, H.I.; SIMPSON, J.A. Quantitation of vancomycin and its crystalline degradation product (CDP-1) in human serum by high-performance liquid chromatographic. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, V.16, p.1281-1287, 1998.

BAKKER-WOUDENBERG, A.J.M; ROOSENDAAL, Impact of dosage regimens on the efficacy in the immunocompromised host. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 21, n.2, p. 145, 1988.

BALE, S. A Guide to Wound Debridement. **Journal of Wound Care**, V.6, p.179-182, 1997.

BALFOUR, J.A.; BRYSON, H.M.; BROGDEN, R.N. Imipenem/cilastatin: an update of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy in the treatment of serious infections. **Drugs**, v. 51, n. 1, p. 99-136, 1996.

BANG, L.R.; GANG RK, SANYAL SC, MOKADDAS E, EBRAHIM MK. Burn septicemia: an analysis of 79 patients. **Burns**, v. 24, p. 354-61, 1998.

BARBHAIYA, R.H.; FORGUE, S.T.; SHYU, W.C.; PAPP, E.A; PITTMAN, K.A. BARRADEL, L.B.; BRYSON, H.M. Cefepime. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. **Drugs**, v. 47, n. 3, p. 471-505, 1994.

BARBHAIYA, R.H.; KNUPP, C.A.; FORQUE, S.T.; MATZKE, G.R.; GUAY, D.R.; PITTMAN, K.A. Pharmacokinetics of cefepime in subjects with renal insufficiency. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 48, n. 3, p. 268-276, 1990.

BARBHAIYA, R.H.; KNUPP, C.A.; TENNEY, J.; MARTIN, R.R.; WEIDLER, D.J.; Safety, tolerance, and pharmacokinetics of cefepime administered intramuscularly to healthy subjects. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 30, n.10, p. 900-910,1990.

BERGAM, S.J.; SPEIL, C.; SHORT, M.; KOIRALA, J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antibiotic use in high-risk populations. **Infections Disease Clinics of North America**, v.21, p.821-846, 2007.

BJERKNES, R.; VINDENES, H.; LAERUM, O.D. Altered neutrophil functions in patients with large burns. **Blood Cells**, v. 16, n. 1, p. 127–141, 1990.

BLANCHET, B.; JULLIEN, V.; VINSONNEAU, C.; TOD, M. Influence of burns in pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs used in the care of burn patients. **Clinical pharmacokinetics**, v. 47, n.10, p. 635-654, 2008.

BLOEDOW, D.C.; HANSBROUGH, J.F.; HARDIN, T.; SIMMONS, M. Postburn serum drug binding and serum protein concentrations. **Journal of Clinical Pharmacology**, v.26, p. 147-152, 1986.

BONAPACE, C.M.; WHITE, R.L.; FRIEDRICH, L.V.; NORCROSS, E.D.; BOSSO, J. A. Pharmacokinetics of cefepime in patients with Thermal Burn Injury. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, V.43, p. 2848-2854,1999.

BOUCHER, B.A.; KUHL, D.A.; HICKERSON, W.L. Pharmacokinetics of systemically administered antibiotics in patients with thermal injury. **Clinical Infection Diseases**, v.14, p. 458-463, 1992.

BOUCHER, B.A.; HICKERSON, W.L.; KUHL, D.A.; BOMBASSARO, A.M.; JARESKO, G.S.; Imipenem pharmacokinetics in patients with burns. **Clinical Pharmacologic Therapeutic**, v.48, s. 2, p.130-7, 1990.

BRADER, D.C.; BAWDON, S.A.; ANDERSON, S.A.; PURDUE, G.F.; HUNT, J.L. Vancomycin elimination in patients with burn injury. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v.39, p. 631-634, 1986.

BRASIL, Resolução n. 899, de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003. Sessão1. [Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos]. Disponível em <http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word>

BREILH, D.; LAVALLEE, C.; FRATTA, A.; DUCINT, D.; CONY-MAYHOUL, P.; SAUX M.C.Determination of cefepime and cefpirone in human serum by high-performance liquid

chromatographic using na ultrafiltration for antibiotics serum extraction. **Journal of chromatographic B**, v.734, p.121-127, 1990

BUCKLEY, M.M.; BROGDEN, R.N.; BARRADELL, L.B.; GOA, K.L.; Imipenem/cilastatin: a reappraisal of its antibacterial activity, pharmacokinetics properties and therapeutic efficacy. **Drugs**, v.44, p.408-444, 1992.

BURDGE, J.J; CONKRIGHT, J.M; RUBERG, R. Nutritional and metabolic consequences of thermal injury. **Clinical Plastic Surgery**, v.13, p.49-55,1987.

BURGESS, D.S.; HASTINGS, R.W.; HARDIN, T.C.; Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefepime administered by intermittent and continuous infusion. **Clinical therapeutic**, v.22, n.1, 66-75, 2000.

CALAHORRA, B.; CAMPANERO, M.A.; SADABA, B.; AZANZA J.R. Rapid high-performance liquid chromatographic determination of cefepime in human plasma **Biomedical Chromatography**, v.13, p. 272-275,1999.

CARLUCCI, G.; BIORDI, L.; VICENTINI, C.; BOLOGNA, M. Determination of imipenem in human plasma, urine and tissue by high-performance liquid chromatography. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v.8, p.283-286,1990.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis. Viewpoint and discussion. **Journal of Chromatography B Biomedical Sci Appl.**, v.689, n.1, p.175-80, 1997.

CERDA, E.; ABELLA, A.; DE LA CAL M.A.; LORENTE, J.A.; GARCIA-HIERRO, P.; VAN SAENE, H.K.; ALIA, I.; ARANGUREN, A. Enteral vancomycin controls methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endemicity in an intensive care burn unit: a 9-year prospective study. **Annals of surgery**, v. 245, n. 3, p. 397-407, 2007.

CERRA, F.B.; MADDAUS, M.A.; DUNN, D.L.; WELLS, C.L.; KONSTANTINIDES, N.N.; LEHMANN, S.L.; MANN, H.J. Selective gut decontamination reduces nosocomial infections and length of stay but not mortality or organ failure in surgical intensive care unit patients. **Archives of surgery**, v. 127, n. 2, p. 163-167, 1992.

CHANG, Y.L.; CHOU, M.H.; LIN, M.F.; CHEN, C.F.; TSAI T.H. Determination and pharmacokinetic study of unbound cefepime in rat bile by liquid chromatography with on-line microdialysis. **Journal of chromatography A**, v.914, p. 77-82, 2001.

CHERIF, H.; BJÖRKHOLM, M.; ENGERVALL, P.; JOHANSSON, P.; LJUNGMAN, P.; HAST, R.; KALIN, M. A prospective, randomized study comparing cefepime and imipenem-cilastatin in the empirical treatment of febrile neutropenia in patients treated for haematological malignancies. **Scandinavian journal of infectious diseases**, v. 36, n. 8, p. 593-600, 2004.

CHERTI, N.; KINOWSKI, J.M.; LAFRANT, J.L.; BRESSOLLE, F. High-performance liquid using a column-switching technique. **Journal of chromatografic B**, v.754 p.377-386, 2001.

COCKCROFT, DW.; GAULT, MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v. 16, n. 1, p. 31-41, 1976.

CONIL, J.J.; GEORGES, B.; LAVIT, M. Intermittet administration f ceftazidime to burns patients: influence of glomerular filtration. **International Journal of Clinical Pharmacology Therapeuthics**. v.45, n. 3, p.133-142, 2007.

CUNHA, B.A.; GILL, M.V. Cefepime. **The Medical Clinics of North America**, v. 79, n.4, p. 721-732, 1995.

DAILLY, E.; KERGUERISM, F.; PANNIER, M.; JOLLIET, P.; BOURIN, M. Population pharmacokinetics of imipenem in burn patients. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.17, n. 6, p. 645-650, 2003.

DAILLY, E.; KERGUERIS, M.F.; PANNIER, M.; JOLLIET, P.; BOURIN, M. DELL'AQUILA AM, MCCULLOCH JÁ, MAMIZUKA EM, SANTOS SR, PEREIRA CA. Serum levels of vancomycin should be monitored in burn patients. **Burns**, v.30,p.386-7,2004.

DAILLY, E.; PANNIER, M.; JOLLIET, P. Population pharmacokinetics of ceftazidime in burn patients. **British Journal of Clinical Pharmacoly**, v.56, p. 629-634, 2003.

DALLEY, A.J.; LIPMAN J.; VENKATESH, B.; RUDD, M.; ROBERTS, M.S.; CROSS, S.E. Inadequate antimicrobial prophylaxis during surgery: a study of beta-lactam levels during burn debridement. **The journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 60, n. 1, p. 166-169, 2007.

DARKO, W.; MEDICIS, J.J.; SMITH, A.; GUHARROY, R.; LEHMANN, D.E. Mississippi mud no more: cost-effectiveness of pharmacokinetic dosage adjustment of vancomycin to prevent nephrotoxicity. **Pharmacotherapy**, v. 23, n. 5, p. 643-650, 2003.

DE GROOT, R.; SMITH, A.L.: Antibiotic pharmacokinetics in cystic fibrosis: differences and clinical significance. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 13, p. 228-253, 1987.

DE LA CAL, M.A.; CERDA, E.; VAN SAENE HK, GARCIA-HIERRO, P.; NEGRO, E.; PARRA M.L.; ARIAS, S.; BALLESTEROS, D. Effectiveness and safety of enteral vancomycin to control endemicity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical/surgical intensive care unit. **The journal of hospital infection**, v. 56, n. 3, p. 175-183, 2004.

DEITCH, E.A.; DOBKE, M.; BAXTER, C.R. Failure of local immunity: a potential cause of burn wound sepsis. **Archives of Surgery**, v.120, n.1, p.78-84, 1985.

EDWARDS-JONES, V.; GREENWOOD, J.E. On behalf of the Manchester Burns Research Group: what's new in burn microbiology. **Burns**, v.29, p.15-24, 2003.

EGGIMANN, P.; PITTET, D. Infection control in the ICU. **Chest**, v. 120, n. 6, p. 2059-2093, 2001.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST) http://www.escmid.org/research_projects/eucast/mic_distribution_of_wild_type_bacteria/. Acesso em 1 abril, 2009.

ELKHAILI, H.; LINGER, L. ;MONTEIL, H.; JEHL F. High-Pressure Liquid Chromatographic assay for cefepime in serum. **Journal of chromatographic B**, v. 690, p. 181-188, 1997.

FARIN, D.; A PIVA, G.; GOZLAN, I.; KITZES-COHEN, R.A modified HPLC method for the determination of vancomycin in plasma and tissues and comparison to FPIA (TDX). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.18, p. 367-372, 1998.

FAVETTA, P.; GUITTON, J.; BLEYZAC, N.; DUFRESNE, C.; BUREAU, J. New sensitive assay of vancomycin in human plasma using high-performance liquid chromatography and electrochemical detection. **Journal of Chromatography B**, v.751 p.377-382. 2001.

FRIMODT-MOLLER, N. How predictive is PK/PD for antibacterial agents?. **International Journal of Antimicrobial agents**. v.19, p. 333-339, 2002.

FRY, DE. The importance of antibiotic pharmacokinetics in critical illness. **American journal of surgery**, v. 172, n. 6A, p. 20S-25S, 1996.

FURATA, I.; KITAHASHI, T.; KURODA, T. ; NISHIO, H.; OKA, C.; MORISHIMA, Y. Rapid serum vancomycin assay by high-performance liquid chromatography using semipermeable surface packing material column. **Clinica Chimica Acta**. v.301, p.31-39, 2000.

GALLINARO, R.; CHEADLE, W.G.; APPELEGATE, K.; POLK, H.C. The role complement system in trauma and infection. **Surgery, Gynecology and Obstetrics**, v.174, n.5, p.435-440,1992.

GANG, R.K.; SANYAL, S.C.; BANG, R.L.; MOKADDAS, E.; LARI, A.R. Staphylococcal septicaemia in burns. **Burns**, v. 26, n. 4, p. 359-203, 2000.

GARCIA-CAPDEVILA, C. LÓPEZ-CALULL, C.ARROYO, M.A MORAL,M.A MANGUES,J.BONAL. Determination of imipenem in plasma by high-performance liquid chromatography for pharmacokinetic studies in patients. **Journal Chromatography B**, v.692 ,p.127-132,1997.

GARRELTS, J.C.; PETERIE, J.D. Altered vancomycin dose vs. serum concentration relationship in burn patients. **Clinical Pharmacology and therapeutics**, v. 44, n. 1, p. 9-13, 1988.

GIANOTTI, L.; ALEXANDER, J.W.; PYLES, T.; JAMES, L.; BABCOCK, G.F. Relationship between extent of burn injury and magnitude of microbial translocation from the intestine. **The journal of burn care & rehabilitation**, v. 14, n. 3, p. 336-342, 1993.

GOMES, D.R.; CABRAL M., Avaliação pré-hospitalar. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; MACEIRA, L. Condutas atuais em queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 2001.

GOMES, D.R.; CABRAL M., Infecções em queimados. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; MACEIRA, L. Condutas atuais em queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 2001.

GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; GUIMARÃES, M.L. Condutas na internação. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; MACEIRA, L. Condutas atuais em queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 2001. p. 19 -32.

GRAVALLESE, D.A; MUSSON, D.G.; PAULIUKONIS, L.T. ; BAYNE, W.F. Determination of imipenem (N-Formimidoyl thienamycin) in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography, comparison with microbiological methodology and stability. **Journal Chromatography**. v.310, p.71-84,1984.

GREEN, S.V.; ABDALLA, T.; MORGAN, S.L. High-performance liquid chromatographic analysis of vancomycin in plasma, bone, atrial appendage tissue and pericardial fluid. **Journal of Chromatography**, v.417, p. 121-128, 1987.

GREENFIELD, E.; MCMANUS, A.T. Infections complications: prevention and strategies for their control. **The nursing Clinics of North America**, v.32, n.2, p.297, 1997

HALLYNCK, T; SOEP, H.H.; DETTLI, L. Influence of age and renal disease on aminoglycoside dosage. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 8, p. 1 -9, 1981

HARDY, K.J.; HAWKEY, P.M.; GAO, F.; OPPENHEIM, B.A. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. **British Journal of anaesthesia**, v. 92, n.1, p. 121–130, 204, 2004.

HARRIS, C.M., KOPEKA, H; HARRIS, T.M., Vancomycin structure and transformation to CDP-1. **J. American Chemical. Soc**, v.105, p.6915, 1983.

HEGGERS, J.P.; KO, F.; ROBSON, M.C.; HEGGERS, R.; CRAFT, K.E. Evaluation of burn blister fluid. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v. 65, p. 798-804, 1980.

HEIMBACH, D.; ENGRAV, L.; GRUBE, B. MARVIN, J. Burn Depth: A Review. **World Journal of Surgery**, v. 16, n.1, p. 10-15, 1992.

HETTIARATCHY, S.; DZIEWULSKI, P. Pathophysiology and types of burn. **BMJ (Clinical reasearch)**, v.328; p.1427-1429, 2004.

HOSOTSUBO H. Rapid and specific method for the determination of vancomycin in plasma by high-performance liquid chromatography on na aminopropyl column. **Journal of Chromatography**, v.487, p. 421-427, 1989.

HORREVORTS, A.M.; DE WITTE, J.; DEGENER, J.E.; DZOLJIC-DANILOVIC, G.; HOP, W.C.J.; DRIESSEN, O.; MICHEL, M.F.; KERREBIJN. R.F. Tobramycin in patients with cystic fibrosis: adjustment in dosing interval for effective treatment. **Chest**, v. 92, p. 844—848, 1987.

HOWARD, P.A.; CALCIO, L.C.; MCMANUS, A.T.; GOODWIN, C.W. What's new in burn associated infections?. **Current Surgery**, v.56, p.397-405, 1999.

IP, M.; AU, C.; CHEUNG, S.W.; CHAN, C.Y.; CHENG, A F.B. A rapid high-performance liquid chromatographic assay for cefepime, cefpirone and meropenem. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. V.42, p. 121-123, 1998

ISLA A, ARZUAGA A, MAYNAR J, GASCÓN ^aR, SOLINÍS M.A, CORRAL E, PEDRAZ J.L. Determination of ceftazidime and cefepime in plasma and dialysate-ultrafiltrate from patients undergoing continuous veno-venous hemodiafiltration by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.39, p.996-1005, 2005.

JAEHDE, U.; SÖRGEL, F. Clinical pharmacokinetics in patients with burns. **Clinical pharmacokinetics**, v. 29, n. 1, p. 15-28, 1995.

JEHL, F.; GALLION, C.; THIERRY, R.C.; MONTEIL H. Determination of Vancomycin in Human Serum by High-pressure Liquid Chromatography. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.27; p.503-507, 1985.

KESSLER, R.E. Cefepime microbiologic profile and update. **The pediatric Infectious Disease journal**, v. 20, n. 3, p. 331-336, 2001.

KOPPEL, B.S.; HAUSER, W.A.; POLITIS, C.; VAN DUIN, D.; DARAS, M. Seizures in the critically ill: the role of imipenem. **Epilepsia**, v. 42, n.12, p. 1590-1593, 2001.

KRIZEK, T.J.; ZIMMERMAN, T.J., Thermal induced dermal injury: A review of pathophysiologic events and therapeutic intervention. **Journal of Burn Care and Research**. V.5, n.3, p.193-20, 1984.

LEADER, W.G.; CHANDLER, M.H.; CASTIGLIA, M. Pharmacokinetic optimization of vancomycin therapy. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 28, p.327-342, 1995.

LEONARDO, M.J. Interleukin 2 programs mouse lymphocytes for apoptosis. **Nature**, V.353, p.858-861, 1991.

LEVINE, D.P. Vancomycin: a history. *Clinical Infectious Diseases*, v. 42, n. 1, s. 5-12, 2006.

LÓPEZ, K.J.V.; BERTOLUCI, D.F.; VICENTE, K.M.; DELL'ALQUILLA A.; SANTOS, S.R. Simultaneous determination of cefepime, vancomycin and imipenem in human plasma of burn patients by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**. v. 860, p.241-245.

LUNDSTROM, T.S.; SOBEL, J.D., Antibiotics for gram-positive bacterial infections: vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. **Infect Disease Clinical North America**, v.18, p.651-668, 2007.

LUNDSTROM, T.S.; SOBEL, J.D. Antibiotics for gram-positive bacterial infections: vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.18, n. 3, p. 651-668, 2004.

MACEDO, J.L.; SIMONE, R.S; CLLENE, S.K.; SANTOS, J. B. Sepsis no paciente queimado: estudo microbiológico e da sensibilidade antimicrobiana. **Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia plástica**. V.20, n.4, p.220-224, 1997

MACIE, E.; SERRA M.C. Tratado de queimaduras. São Paulo: Atheneu. 2006

MACLENNAN, N.; HEIMBACH, D.; CULLEN, B.F. Anesthesia for Major Thermal Injury. **Anesthesiology**. V. 89, n.3, p. 749-770, 1998.

MANN, H. J.; CANAFAX, D.M.; CIPOLLE, R. J.; DANIEIS, C.E.; WARWICK, W. J. Increased dosage requirements of tobramycin and gentamicin for treating pseudomonas pneumonia in patients with cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 1, p. 238-243, 1985.

MCKINNON, P.S.; DAVIS, S.L.; Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of bacterial infections diseases. **European Journal Clinical Infection Diseases**, v.23, n.4, p.271-288, 2004.

MANDEL, G.L.; PRETI, W.A. Antimicrobial agents: Penicillins, cephalosporins and other β -lactam antibiotics. In: HARMAN, J.G; LIBERT, L.E. Ed. Goodman & Gilman's The Pharmacological Bases of Therapeutic. 9^{ed} Mc. McGRAWHILL, 1996.

MATTIE, H.; CRAIG, W.A.; PECHERE, J.C. Determinants of efficacy and toxicity of aminoglycosides. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.24, p. 281-293, 1989.

Micromedex® Healthcare Series. MICROMEDEX, Inc., Greenwood Village, Colorado, 2006

MILESKE, W.; BORGSTROM, D.; LIGHTFOOT, E.; ROTHLEIN, R.; FAANES, R.; LIPSKY, P.; BAXTER, C. Inhibition of leukocyte-endothelial adherence following thermal injury, **The Journal of Surgical Research**, v.52, n. 4, p. 334-339, 1992.

MOELLERING, R.C. The specter of glycopeptides resistance: current trends and future considerations. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 5a, p. 3S-6S, 1998.

MORRIS, S.E.; NAVARATNAM, N.; HERNDON, D.N. A comparison of effects of thermal injury and smoke inhalation on bacterial translocation. **The journal of Trauma**, v. 30, n. 6, p. 639-643, 1990.

MOUTON, J.W.; TOUZW, D.J.; HORREVORTS, A.M.; VINKS, A.A. Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 39, n. 3, p. 185-201, 2000.

MOUTON, J.M.; HORREVORTS, A.M.; MULDER, P.G.H.; PRENS, E.P. Pharmacokinetics of ceftazidime in serum and suction blisters fluid during continuous and intermittent infusion in healthy volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, p. 2307- 2311, 1990.

MUNSTER, A.M. Immunologic alterations following injury. **Adv Orthopaedy Surgery**. P. 328, 1985.

MUNSTER, A.M. Immunologic response of trauma and burns. **American Journal of Medicine**, v. 76, n. 3, p. 142-145, 1984.

MYERS, C.M.; BLUMER, J.L. Determination of imipenem and cilastatina in serum by high-pressure liquid chromatography. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.26, p. 78-81,1984.

NASSER, S.; MABROUK, A.; MAHER, A. Colonization of burn wounds in Ain Shamas University Burn Unit. **Burns**, v. 29, n. 3, p. 229–233, 2003

NGUYEN, T.T.; GILPIN, D.A. MEYER, N.A.; HERNDON, D.N. Current treatment of severely burned patients. **Annals of Surgery**, v. 223, n. 1, p. 14–25, 1996.

NICAS, T.I.; ZECKEL, M.L; BRAUN, D.K. Beyond vancomycin: new therapies to meet the challenge of glycopeptide resistance. **Trends Microbiology**, v.5, n.6, p.240-249,1997.

OCOÑA GONZÁLEZ J.A, JIMÉNEZ PALACIOS F.J, CALLEJÓN MOCHÓN M, BARRAGÁN DE LA ROSA F.J. Simultaneous determination of cefepime and grepafloxacin in human urine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**,v.36,p.117-123,2004.

ONCUL. O. F., YUKSEL, F. ALTUNAY, H. ACIKEL, ACIQUEL, C. CELIKOZ, B. CAVUSLU, S.P. The evaluation of nosocomial infection during 1-year-period in the burn unit of a training, hospital in Istanbul, Turkey. **Burns**, v. 28, n. 8, p. 738-744, 2002

OSTER, S.; EDELSTEIN, H.; CASSANO, K.; McCABE, R. Open trial of cefepime (BMY 28142) for infections in hospitalized patients. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 6, p. 954-957, 1990.

PARMET, S.; LYNN, C.; GLASS, R.M. Burn injuries. **The Journal of American association**, v. 290; n.6, p.844, 2003.

PATERSON, D.L. Restrictive antibiotic policies are appropriate in intensive care units. **Critical Care Medicine**, v. 31, n.1, p. 25-28, 2003.

PELLON, M.A. Desbridamento cirúrgico. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; PELLON, M.A. Queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 1995. p. 117-125.

PELLON, M.A. Queimaduras. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; PELLON, M.A. Queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 1995. p. 77-115.

PELLON, M.A. Queimaduras. In: GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; PELLON, M.A. Queimaduras. Rio de Janeiro : Revinter, 1995. p. 9-28.

PRANDOLA, J. Clinical pharmacology of antibiotics and other drugs in cystic fibrosis. **Drugs**, v. 35, p. 542-578, 1988.

PRODUCT INFORMATION: MAXIPIME(R), cefepime. Bristol-Myers Squibb Company, Princeton, NJ, 2003.

PRODUCT INFORMATION: MAXIPIME(R) IV, IM INJECTION, cefepime hcl IV, IM injection. Bristol-Myers Squibb Company, San Diego, CA, 2007

PRUITT, B.A.; MCMANUS, A.T.; KIM, S.H.; GOODWIN, C.W. Burn wound infections: current status. **World journal of surgery**, v. 22, n. 2, p. 135–145, 1998.

REYNOLDS, P.E. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 8, n. 11, p. 943-950, 1989.

RICE, T.L. Simplified dosing and monitoring of vancomycin for the burn care clinician. **Burns**, v. 18, n. 5, p. 355-361, 1992

RICE, T.L. Simplified dosing and monitoring of vancomycin for the burn care clinician. **Burns: journal of the international society for burn injuries**, v. 18, n. 5, p. 355-361, 1992.

ROBSON, M.C.; HEGGERS, J.P. Prostaglandins and troboxane. **Critical Care Clinics**. v.1, n.1,p,59-77, 1985.

RODLOFF, A.C.; GOLDSTEIN, E.J.; TORRES, A. Two decades of imipenem therapy. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 5, p. 916–929, 2006.

ROTSCHAFER, J.C.; CROSSLEY, K.; ZASKE, D.E.; MEAD, K.; SAWCHUK, R.J.; SOLEM, L.D. Pharmacokinetics o vancomycin: observations in 28 patients and dosage recommendations. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 22, n. 3, p. 391-394, 1982.

RYBAK, M.J.; ALBRECHT, L.M.; BERMAN, J.R.; WARBASSE, L.H.; SVENSSON, CK. Vancomycin pharmacokinetics in burn patients and intravenous drug abusers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 5, p. 792-795, 1990.

RYBAK, MJ. The pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of vancomycin. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n.1, p.35-39, 2006.

RYBAK, M. The pharmacokinetic profile of a new generation of parenteral cephalosporin. **Americam Journal of Medicine**, v.100, p 39- 34, 1996.

RYBAK, M.; LOMAESTRO, B.; ROTSCHAFER, J.C.; MOELLERING, R.; CRAIG W.; BILLETER, M.; DALOVISIO, J.R.; LEVINE, D. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 66, p. 82 – 98, 2009.

SAMPOL E, JACQUET A, VIGGIANO M, BERNINI V, MANELLI JC, LACARELLE B, DURAND A. Plasma, urine and skin pharmacokinetics of cefepime in burns patients. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.47, p. 315-317, 2000.

SANDER, H.S.; FRITSCHÉ, T.R.; JONES, R.N. Potency and spectrum trends for cefepime tested against 65746 clinical bacterial isolates collected in North American medical centers: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-2003). **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 52, n. 3, p. 265-273, 2005.

SANDERS, C.C. Cefepime: the next generation? **Clinical Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 369-379, 1993.

SANTOS CR, FEFERBAUM R, PAULA MLSA, BERTOLINE MA, OMOSAKO CEK, SANTOS SRCJ. Micrométodo para quantificação de vancomicina em plasma através da cromatografia líquida de alta eficiência. Modelagem farmacocinética simplificada na sustentação farmacológica de neonatos com sepse. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, s.1, p.87-93, 2001.

SAUNDERS, N.J. Why monitor peak vancomycin concentrations?. **Lancet**, v. 344, p. 1748–1750, 1994.

SAWCHUK, R.J.; RECTOR, T.S. Drug kinetics in burn patients. **Clinical Pharmacokinetic**, V.5, n.6, p.548-556, 1980

SENGUPTA, S.; KUMAR, P.; CIRAJ, A.M.; SHIVANANDA, P.G. *Acinetobacter baumannii* – an emerging nosocomial pathogen in burns unit Manipal, India. **Burns**, v.27, n.2, p.140-144, 2001.

SHAH, P.M.; ISAACS, R.D. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 52, n. 4, p. 538-542, 2003.

SHARMA, B.R.; HARISH, D.; GUPTA, M.; SINGH, V.P. Dowry—a deep-rooted cause of gender based violence in India. **Medicine, science and the law**, v. 45, n.2, p. 161–168, 2005.

SHARMA, B.R.; HARISH, D.; SINGH, V; BANGAR, S. Septicemia as a cause of death in burns: An autopsy study. **Burns**, v. 32, p.545–549, 2006.

SILVESTRI, L.; MILANESE, M.; OBLACH, L.; FONTANA, F.; GREGORIO, D.; GUERRA, R. VAN, SAENE, HK. Enteral vancomycin to control methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in mechanically ventilated patients. **American journal of Infection Control**, v, 23, n7, p. 391-399, 2002.

SKHIRTLADZE, K.; HUTSCHALA, D. FLECK, T.; THALHAMMER, F.; EHRLICH, M.; VUKOVICH, T.; MÜLLER, M.; TSCHERNKO, E.M. Impaired target site penetration of vancomycin in diabetic patients following cardiac surgery. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 1372–1375, 2006.

SOARES DE MACEDO, J.L.; SANTOS, J.B. Nosocomial infections in a Brazilian Burn Unit. **Burns**, v.32, n. 4, p. 477-481, 2006.

TAYLOR, G.D.; KIBSEY, P.; KIRKLAND, T.; BURROUGHS, E. TREDGET.- Predominance of Staphylococcal organisms in infections occurring in a burns intensive care unit. **Burns**, v. 18: n 4, p. 332–335, 1992

TAVARES, W. Resistência bacteriana. In. TAVARES W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos . 2^{da} Ed. São Paulo: Atheneu; 1996. p.43-100.

TUNKEL, A.R.; HARTMAN, B.J.; KAPLAN, S.L. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. **Clinical Infect Disease**. v.39, n.9, p.1267-1284, 2004.

UNITED STATES. Department of healthy and human services. Food and drug administration. Guidance for Industry : Bioanalytical Method Validation, may 2001. 25p

VALASSIS, I.N.; PARISSI-POULOU, M.; MACHERAS, P. Quantitative determination of cefepime in plasma and vitreous by high performance liquid chromatographic. **Journal of chromatographic B**, v.721, p.249-255, 1999.

VALE, S.C.E. Inicial management of burns: approach by dermatologists. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n.1, p.9-19, 2005.

VAN DIJK, W.C.; VERBRUGH, H.A; VAN RIJSWIJK, R.E; VOS.A; VERHOEF, J. Neutrophil function, serum opsonic activity and delay hypersensitivity in surgical patients. **Surgery**, v.92 , n.1, p. 21-29, 1982.

VANCE-BRYAN, K.; ROTSCHAFER, J.C.; GILLILAND, S.S.; RODVOLD, K.A.; FITZGERALD, C.M.; GUAY, D.R. A comparative assessment of vancomycin-associated nephrotoxicity in the young versus elderly hospitalized patients. **The journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 33, n.4, p. 811-821, 1994.

VINCENTE, J.L.; BIHARI, D.J.; SUTER, P.M.; BRUINING, H.A.; WHITW, J.; NICOLAS-CHANOIN, M.H.; WOLF. M.; SPENCER, R.C.; HEMMER, M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. **The American Journal of Medicine**, v. 274, n. 8, p.639-644, 1995.

VINDENES, H.; BJERKNES, R. Microbial colonization of large wounds. **Burns**, v. 21, n. 8, p. 575–579, 1995.

WALLACE, A.W.; JONES, M.; BERTINO, J.R. Evaluation of four once-daily aminoglycoside dosing nomograms. **Pharmacotherapy**, v. 22, n. 9, p. 1077-1083, 2002.

WARD, P.A.; FRIELD, H.P. Roles of histamine, complement and xantine oxidase in thermal injury of skin. **American Journal of Pathology**, v.135, n. 1, p. 203-217, 1989.

WASSERMANN, D. Systemic complications of extended burns. **Annales Chirurgie Plastique et esthétique**, v. 46, n. 3, p. 196–209, 2001.

WEINBREN MJ. Pharmacokinetics of antibiotics in burn patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.44,p.319-27,1999

WEBER, D.J.; RAASCH, R.; RUTALA, W.A. Nosocomial infections in the ICU: the growing importance of antibiotic-resistant pathogens. **Chest**, v. 115, n. 3, p. 34-41, 1999.

WINNIE, G.B.; COOPER, J.A.; WILSON, J.; COWAN, R.G. Comparison of 6 and 8 hourly tobramycin dosing intervals in treatment of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v.10, p. 381-386, 1991.

WISEMAN, D.H.; GROSSMAN, A.R. Hyperbaric Oxygen in the treatment of Burns. **Critical Care Clinics**, v.1, n.1, p. 129-143, 1985.

ZANETTI, G.; BALLY, F.; GREUB, G.; GARBINO, J.; KINGE, T.; LEW, D.; ROMAND, J.A.; BILLE, J.; AYMONT, D.; STRATCHOUNSKI, L.; KRAWCZYK, L.; RUBINSTEIN, E.; SCHALLER, M.D.; CHIOLERO, R.; GLAUSER, M.P.; COMETTA, A. Cefepime versus imipenem-cilastatin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 47, n. 11, p. 3442-3447, 2003.

ZASKE DE; CIPOLLE, R.J.; ROTSCHAFER, J.C.; SOLEM, L.D.; MOSIER, N.R.; STRATE. Gentamicin pharmacokinetics in 1640 patients: method for control of serum concentrations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 21, p. 407-411, 1982

ANEXO A

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco

Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO B

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 86 /2006

São Paulo, 27 de junho de 2006.

Ilmo(a). Sr(a).
Profa. Silvia Regina Cavani Jorge Santos
FBF

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 26 de junho de 2006, **APROVOU** o projeto "Monitoramento de Antimicrobianos numa Unidade de Queimados" (Protocolo CEP nº 374) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Valentina Porta
Coordenadora do Comitê de Ética Pesquisa
FCF/USP

ANEXO C

Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE
 CEP:.....TELEFONE: (.....)
 2.RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO.:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Monitoramento Terapêutico e Modelagem Farmacocinética de Antimicrobianos em Pacientes Queimados da Unidade de Terapia Intensiva**

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: (responsável clínico)

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
 RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 3 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa ; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconforto e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.
1. **Justificativa e os objetivos da pesquisa:** Se o(a) senhor(a) apresentar sinais de infecção serão empregados antibióticos para o tratamento, isto é, medicações que visam tratar a infecção, conseqüente da lesão pela queimadura. Os antibióticos atualmente utilizados para esta finalidade são vancomicina, cefepime, imipenem. O objetivo do presente estudo é avaliar se um destes antibióticos, na dose e forma utilizadas, atinge quantidades satisfatórias no sangue.
2. **Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais:** o senhor receberá um antibiótico nas doses e nos momentos normalmente utilizados pelos pacientes com infecção devido a queimaduras. Serão coletadas 6 amostras de sangue conforme segue: término da infusão (1ª hora), 2ª, 3ª, 4ª, 6ª hora e imediatamente antes da dose subsequente. Será coletado através de cateter venoso (dispositivo que substitui a picada) volume inferior a 15 mL de seu sangue para a dosagem do medicamento. No sangue será dosada a concentração do antibiótico utilizando método laboratorial específico.
3. **Desconforto e riscos esperados:** o risco a que o senhor será submetido é mínimo pois o procedimento é feito por profissionais altamente treinados, de forma estéril, com todo o material descartável.
4. **Benefícios que poderão ser obtidos:** após os resultados de cada avaliação, caso seja necessário, serão realizados ajustes nas doses e intervalos de doses de antibióticos utilizados no tratamento de infecções em queimados. Este estudo deverá futuramente beneficiar muito outros pacientes queimados como o senhor.
5. **Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo:** neste caso, não há procedimentos alternativos, pois se trata de procedimento de escolha e o melhor para pacientes queimados com infecção, A vancomicina, o imipenem e o cefepime, são os antibióticos previstos no protocolo de tratamento de infecções com antimicrobianos em grandes queimados.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

4. Disponibilidade de assistência no Hospital Geral “Dr. José Pangella” de Vila Penteado , por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Em caso de intercorrências clínicas e reações adversas relacionadas ao estudo atual, entrar em contato com:

HOSPITAL GERAL “*DR. JOSÉ PANGELLA*” DE VILA PENTEADO

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 200 .

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO

(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CEP FCFUSP deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

ANEXO D

CIMs bacterianos

Imipenem / *Klebsiella pneumoniae*
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database
EUCAST MIC Distribution

Imipenem / *Acinetobacter baumannii*
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database
EUCAST MIC Distribution