

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em Fármacos e Medicamentos
Área: Produção e Controle Farmacêuticos

Abordagem PK/PD para avaliar a efetividade do fluconazol nas
infecções fúngicas causadas por *Candida spp.* em pacientes queimados
de UTI

Victor Kaneko Matsuno

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Cavani Jorge Santos

São Paulo
2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em Fármacos e Medicamentos
Área: Produção e Controle Farmacêuticos

Abordagem PK/PD para avaliar a efetividade do fluconazol nas
infecções fúngicas causadas por *Candida spp.* em pacientes queimados
de UTI

Victor Kaneko Matsuno

Versão Corrigida

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Cavani Jorge Santos

São Paulo
2021

Victor Kaneko Matsuno

Abordagem PK/PD para avaliar a efetividade do fluconazol nas
infecções fúngicas causadas por *Candida spp.* em pacientes queimados
de UTI

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Cavani Jorge Santos
Orientadora/Presidente

1º examinador

2º examinador

3º examinador

4º examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

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

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Matsuno, Victor Kaneko
M434a Abordagem PK/PD para avaliar a efetividade do fluconazol nas
infecções fúngicas causadas por *Candida spp.* em pacientes queimados
de UTI. / Victor Kaneko Matsuno. -- São Paulo, 2021.
85p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos.
Orientador: Santos, Silvia Regina Cavani Jorge.

1. Farmacocinética 2. Queimaduras I. T. II. Santos, Silvia
Regina Cavani Jorge, orientadora.

615.7f CDD

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pela compreensão e apoio incondicional, a quem dedico todas minhas vitórias.

Aos meus queridos amigos Fabiana, Cinthia, Kamilla e Marcus, pelos conselhos, incentivos e apoio emocional, que foram fundamentais para eu me manter motivado e conseguir superar as dificuldades em mais essa etapa.

À professora Silvia, pela confiança e oportunidade de trabalhar na área de farmacocinética clínica, na qual me identifico cada vez mais. Pelos ensinamentos e orientação desde a época da graduação, que contribui para o profissional que sou hoje, serei eternamente grato.

À Adriana, Laila e todos os colegas do Laboratório de Farmacocinética Clínica pelo suporte laboratorial (e emocional).

Ao professor David de Souza Gomez e todos os profissionais de UTI de Queimados do ICHC-FMUSP pela parceria no trabalho e cuidado direto aos pacientes queimados, os quais sem, não seria possível realizar este trabalho.

Ao secretário do Departamento de Farmácia, David, que me auxiliou desde a inscrição até a defesa de forma atenciosa e proativa.

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

RESUMO

MATSUNO, V.K. **Abordagem PK/PD para avaliar a efetividade do fluconazol nas infecções fúngicas causadas por *Candida spp.* em pacientes queimados de UTI.** 2021. 85 p. Dissertação para obtenção do Título de Mestre. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Introdução: Pacientes queimados são mais suscetíveis à colonização e infecção fúngica, e estão sujeitos a alterações farmacocinéticas principalmente associadas ao estado inflamatório secundário à queimadura ou sepse. O gênero *Candida* representa 80% das infecções fúngicas hospitalares, sendo ainda mais prevalente em unidades de terapia intensiva, chegando a cerca de 2,5 casos/1000 admissões e associado a mais de 50% de mortalidade. O fluconazol apresenta ação fundamentalmente fungistática com efeito pós-antifúngico prolongado, além de ação fungicida dose-dependente. Poucos estudos avaliaram a relação farmacocinética-farmacodinâmica do fluconazol, ainda menos quando considerado pacientes queimados e espécies com sensibilidade dose-dependente como a *C.glabrata* (CIM 16-32 mg/L). **Objetivo:** Realizar o monitoramento sérico do fluconazol, investigar as possíveis alterações na farmacocinética e avaliar a cobertura da terapia antifúngica através da abordagem PK/PD nos pacientes críticos grandes queimados, visando à individualização e otimização do tratamento antifúngico, de forma a alcançar a cura clínica e microbiológica. **Metodologia:** Foram incluídos oito paciente (4F/4M) com queimadura térmica (5/8) ou trauma elétrico (3/8), lesão inalatória (7/8), necessidade de ventilação mecânica (7/8), SAPS-3 61, 35 anos, 70kg e 46% de superfície corpórea total queimada (medianas). Foi iniciado fluconazol no regime de 200mg EV q12h, sendo ajustado ao longo do seguimento conforme abordagem PK/PD. Os níveis séricos foram obtidos por CLAE-UV após coleta de amostra sanguínea ao final da infusão de 1h (1ª hora), duas horas após (3ª hora) e antes da próxima dose (12ª hora). Os dados farmacocinéticos foram comparados aos dados reportados em voluntários saudáveis. A abordagem PK/PD foi realizada com base na área sob a curva de concentração-tempo de 24h (ASC^{ss}_{0-24h}) e o índice de predição de efetividade melhor descrito em literatura ($ASC^{ss}_{0-24h}/CIM > 25$). **Resultados:** Os pacientes queimados apresentaram todos os parâmetros farmacocinéticos alterados. Foi observado um volume de distribuição de 3-7 vezes reduzido (6,35-16,33 L vs. 37,65-59,75 L) uma meia-vida reduzida em cerca de 2-3 vezes (8,66-12,90 h vs. 18,23-36,77 h), e o clearance corporal total levemente reduzido (0,54-0,86 L/h vs. 0,88-1,48 L/h), mas com diferença estatisticamente significativa em relação ao valor de referência. A meia-vida e o clearance corporal total se correlacionaram diretamente com o volume de distribuição (r Pearson 0,9434 e 0,8364, respectivamente, $p < 0,001$). Foi necessário o aumento da dose para 400mg EV q12h (11,4 mg/kg/dia) para a cobertura empírica para *Candida spp.* com CIM 32 mg/L. **Conclusão:** A farmacocinética do fluconazol está profundamente alterada nos grandes queimados, especialmente em relação ao volume de distribuição. Doses maiores que as usuais são necessárias para garantir a cobertura antifúngica, principalmente para *Candida spp.* com sensibilidade dose-dependente (CIM até 32 mg/L). Portanto, o monitoramento sérico do fluconazol individual e a abordagem PK/PD podem auxiliar na otimização da terapia antifúngica em tempo real.

Palavras-chave: fluconazol; abordagem PK/PD; *Candida glabrata*; grandes queimados; terapia intensiva.

ABSTRACT

MATSUNO, V.K. **PK/PD approach to evaluate fluconazole effectiveness against infection caused by *Candida spp.* in ICU burned patients.** 2021. 85 p. Dissertation (Master's degree). Faculty of Pharmaceutical Sciences of Sao Paulo University, Sao Paulo, 2021.

Background: Burned patients are an easy target for fungal colonization and infection due to skin barrier disruption and immunocompromised state associated with burn lesions. *Candida* genus represents about 80% of nosocomial fungal infections and it is estimated around 2.5 cases per 1000 admissions in critical care units, being associated with more than 50% mortality. Fluconazole has fungistatic activity with prolonged post-antifungal effect and dose-dependent fungicidal activity. Few fluconazole pharmacokinetics-pharmacodynamics studies are available, and even fewer considering burned patients and *Candida* species with dose-dependent susceptibility as *C. glabrata* (MIC 16-32 mg/L). **Objectives:** Monitoring fluconazole serum concentration, investigating possible pharmacokinetic changes and evaluating antifungal therapy coverage for dose-dependent *Candida* species applying PK/PD approach in critically ill burned patients. **Methodology:** Were enrolled eight patients (4F/4M), by thermal (5/8) or electric burn (3/8), inhalation lesion (7/8), requiring mechanical ventilation (7/8), SAPS-3 61, 35 years, 70kg e 46% total body surface area burned (median). Fluconazole was initiated with 200mg q12h and was adjusted accordingly to PK/PD approach. Blood samples were collected at the end of the one-hour-infusion (first hour), two hours after the end of the infusion (third hour) and one hour before the next dose (12th hour). Serum concentrations were obtained by HPLC-UV. Pharmacokinetic parameters were calculated and compared to reference reported in healthy subjects. An effectiveness predictive index of $AUC_{0-24h}^{ss}/MIC > 25$ was considered. **Results:** All pharmacokinetic parameters were reduced. Distribution volume was about 3-7 times lower (6.35-16.33 L vs. 37.65-59.75 L), biological half-life was 2-3 times shorter (8.66-12.90 h vs. 18.23-36.77 h) and total body clearance was slightly altered (0.54-0.86 L/h vs. 0.88-1.48 L/h) but statistically significant, comparing to healthy subjects. Both half-life and clearance were correlated to distribution volume (*r Pearson* 0.9434 and 0.8364, respectively, $p < 0.001$). An increase in fluconazole daily dose to 400mg q12h (11,4 mg/kg/day) was necessary for *Candida spp.* with MIC 32 mg/L empiric coverage. **Conclusion:** Burned patients pharmacokinetics are notably altered, especially fluconazole distribution volume. Higher than usual dose is necessary to reach PK/PD index and guarantee empirical antifungal coverage to dose-dependent *Candida* species (up to MIC 32 mg/L). Therefore fluconazole serum concentration monitoring and PK/PD approach can help optimize antifungal therapy in a real time basis.

Key words: fluconazole; PK/PD approach; *Candida glabrata*; burned patients; ICU.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Letalidade por gravidade e localidade dos pacientes em sepse e choque séptico (ILAS, 2020).....	29
Figura 2 Índice PK/PD para predição de efetividade de agentes anti-infecciosos.....	30
Figura 3 Extração de fluconazol da matriz biológica.....	38
Figura 4 Dados laboratoriais dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3.....	48
Figura 5A Evolução dos exames laboratoriais dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3: (A) Uréia (B) Creatinina (C) <i>Clearance</i> de creatinina.....	49
Figura 5B Evolução dos exames laboratoriais dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3: (D) PCR (E) Lactato.....	50
Figura 5C Evolução dos exames laboratoriais dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3: (F) Leucócitos (G) Neutrófilos (H) Plaquetas.....	51
Figura 6 Doses e biodisponibilidade do fluconazol nos pacientes queimados.....	53
Figura 7 Índice de predição de efetividade e cobertura empírica do fluconazol contra <i>Candida glabrata</i> (CIM até 32 mg/L) nos pacientes queimados.....	55
Figura 8 Parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos paciente queimados.....	56
Figura 9 Correlação linear dos parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos pacientes queimados.....	57

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Características demográficas dos pacientes queimados.....	43
Tabela 2 Características clínicas dos pacientes queimados na admissão em UTI.....	44
Tabela 3 Perfil laboratorial dos pacientes queimados na admissão em UTI.....	45
Tabela 4 Dados clínicos de internação dos pacientes queimados.....	46
Tabela 5 Exames laboratoriais dos pacientes queimados nos seguimentos 1, 2 e 3.....	47
Tabela 6 Dose e biodisponibilidade do fluconazol nos pacientes queimados.....	52
Tabela 7 Índice de predição de efetividade (ASC^{ss}_{0-24h}/CIM) do Fluconazol contra <i>Candida glabrata</i> (CIM até 32 mg/L) dos pacientes queimados.....	54
Tabela 8 Índice de predição de efetividade ($fASC^{ss}_{0-24h}/CIM$) do Fluconazol contra <i>Candida glabrata</i> (CIM até 32 mg/L) dos pacientes queimados.....	55
Tabela 9 Parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos pacientes queimados.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Características físico-químicas do fluconazol.....	Pág. 27
Quadro 2	Parâmetros farmacocinéticos para regime de doses múltiplas em infusão intermitente.....	40
Quadro 3	Farmacocinética do fluconazol em indivíduos saudáveis.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPESQ	Comissão de Avaliação de Projetos de Pesquisa
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
EV	Endovenoso
ILAS	Instituto Latino Americano da Sepsis
IMC	Índice de massa corpórea
IQ	Intervalo interquartil
NA	Não aplicável
ND	Não descrito
PCR	Proteína C reativa
PD	Farmacodinâmica
PK	Farmacocinética
SAPS-3*	<i>Simplified Acute Physiology Score (América Latina)</i>
SC	Superfície corpórea
SCQT	Superfície corporal total queimada
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Tinf	Tempo de infusão
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
WHO	<i>World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

$\%f \Delta T > CIM$	Porcentagem de tempo em que a fração livre do antimicrobiano permanece acima da CIM do patógeno
τ	Intervalo entre as doses na terapia de doses múltiplas
$ASC^{ss}_{0-\tau}$	Área sob a curva integrada da concentração <i>versus</i> tempo no estado de equilíbrio no intervalo entre as doses
ASC^{ss}_{0-24h}	Área sob a curva integrada da concentração <i>versus</i> tempo no estado de equilíbrio de 24h
$CICr$	<i>Clearance</i> de creatinina
CL_T	<i>Clearance</i> total corporal
Cr	Creatinina sérica
C^{ss}_{max}	Concentração máxima no estado de equilíbrio
C^{ss}_{min}	Concentração mínima no estado de equilíbrio
F	Feminino
Kel	Taxa de eliminação
Ko	Taxa de infusão
Ln	Logaritmo neperiano
$\log P$	Coeficiente de partição
M	Masculino
n	Número de indivíduos
pKa	Coeficiente de ionização
T	Tempo
$t_{(1/2)\beta}$	Meia-vida biológica de eliminação
Vd^{ss}	Volume aparente de distribuição no estado de equilíbrio

LISTA DE UNIDADES

cel	Células
dL	Decilitro
g	Gramma
h	Hora
kg	Quilograma
L	Litro
m²	Metro quadrado
mg	Miligramma
min	Minutos
ml	Mililitros
mm	Milímetro
mm³	Milímetro cúbico
mol	Mol

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	25
1.1. QUEIMADURA.....	25
1.2. INFECÇÃO FÚNGICA INVASIVA.....	26
1.3. FLUCONAZOL.....	27
1.4. ABORDAGEM FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÂMICA	28
2. OBJETIVOS.....	33
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	35
3.1. ETAPA CLÍNICA.....	35
3.1.1. Desenho do estudo	35
3.1.2. Critérios de inclusão	35
3.1.3. Critérios de exclusão	35
3.1.4. Coleta de dados demográficos, clínicos e laboratoriais	36
3.1.5. Administração e posologia da terapia antifúngica	36
3.1.6. Coleta seriada das amostras de sangue	37
3.2. ETAPA ANALÍTICA.....	37
3.3. ETAPA ESTATÍSTICA.....	39
3.3.1. Modelagem farmacocinética e abordagem PK/PD	39
3.3.2. Estudo populacional e análise estatística	40
3.4. QUESTÕES ÉTICAS.....	41
3.5. GERENCIAMENTO DOS DADOS E CONFIDENCIALIDADE.....	41
4. RESULTADOS.....	43
5. DISCUSSÃO.....	59
6. CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXOS.....	81

1. INTRODUÇÃO

1.1. QUEIMADURA

As queimaduras são lesões primárias de pele ou de órgãos causadas por calor, radiação, radioatividade, eletricidade, fricção ou produtos químicos. Apresentam grande impacto econômico devido ao tempo de internação prolongado e à alta taxa de mortalidade e sequelas. Estima-se uma incidência de óbito de 180.000 casos por ano, sendo mais prevalente nos países e regiões subdesenvolvidas. E tem como principal fator de risco associado, o nível socioeconômico da população (SMOLLE et al., 2017; WHO, 2018). No Brasil, estima-se uma incidência anual de um milhão de queimaduras e 2.500 óbitos causados direta ou indiretamente por queimaduras (BRASIL, 2017).

A mortalidade nos queimados está associada principalmente à extensão da queimadura e à presença de lesão inalatória, que é causada principalmente pelo efeito direto do calor ou produto tóxico, podendo levar ao edema e obstrução das vias aéreas, à deterioração do sistema de transporte mucociliar e à disfunção na troca de gases, com consequente impacto na oxigenação sistêmica (BHANSALI et al., 2017; BHARWANA et al., 2016; BITTNER et al., 2015).

Queimaduras extensas com superfície corpórea total queimada (SCTQ) acima de 15% resultam em resposta inflamatória intensa, levando a alterações farmacocinéticas importantes, que ocorrem basicamente em duas fases. A fase de choque se instala dentro das primeiras 48 horas devido à perda de fluido intravascular pelo tecido queimado e ao edema nos tecidos não-queimados, além do aumento da resistência vascular sistêmica decorrente da hemoconcentração e liberação de catecolaminas, podendo evoluir para a hipoperfusão sistêmica e choque. O extravasamento de fluido para o terceiro espaço pode levar à hipoalbuminemia, alterando a distribuição de fármacos com alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas. E a hipoperfusão leva à redução da taxa de filtração glomerular renal, reduzindo a eliminação renal de fármacos e metabólitos (BITTNER et al., 2015; BLANCHET et al., 2008).

Já a fase hipermetabólica ocorre entre 48 e 72 horas da queimadura e é caracterizada principalmente pelo aumento do consumo de oxigênio e catabolismo proteico. Além disso, há alteração na produção de proteínas pelo fígado, aumentando a produção de proteínas de fase aguda, como a α_1 -glicoproteína ácida (ligante de fármacos de natureza básica) e reduzindo a produção de proteínas constitutivas, como a albumina (ligante de fármacos de natureza ácida). Dessa forma, podendo alterar a fração livre dos fármacos circulantes (BITTNER et al., 2015; BLANCHET et al., 2008).

1.2. INFECÇÃO FÚNGICA INVASIVA

Os pacientes grandes queimados apresentam risco aumentado de desenvolverem infecções fúngicas invasivas devido à quebra da integridade da pele e à imunossupressão induzida pelo processo inflamatório ativado pela queimadura (BHARWANA et al., 2016; NORBURY et al., 2016; WALRAVEN et al., 2011).

As infecções fúngicas invasivas geralmente são de difícil diagnóstico e estão relacionadas a uma alta mortalidade, podendo chegar a índices superiores a 50%. Dentre elas, a infecção pelo gênero *Candida spp.* é a principal causa de morbimortalidade em humanos, sendo a candidemia uma das quatro infecções de corrente sanguínea mais comuns no ambiente de terapia intensiva (COLOMBO et al., 2006; COLOMBO et al., 2013; PAPPAS et al., 2016).

No Brasil a espécie mais comum é a *Candida albicans*, seguido pelas espécies não-albicans como *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, que normalmente apresentam baixa taxa de resistência aos antifúngicos triazólicos. Já as espécies de sensibilidade dose-dependente como a *C. glabrata* ou resistente como a *C. krusei* aparecem em menor frequência, em torno de 5% e 1%, respectivamente (COLOMBO et al., 2006; COLOMBO et al., 2013).

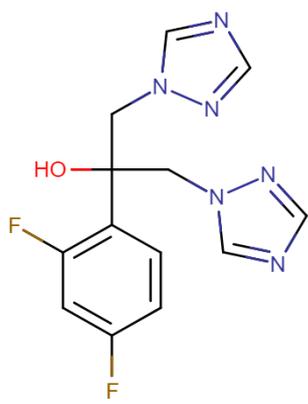
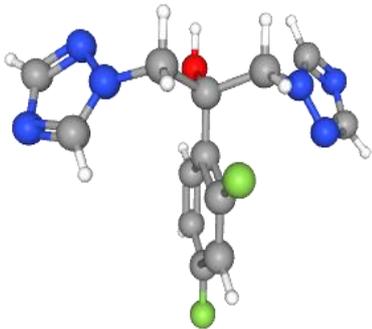
Um dos representantes da classe dos antifúngicos triazólicos é o fluconazol, que, apesar da recomendação de se iniciar a terapia antifúngica empírica com uma equinocandina para pacientes críticos, com base na epidemiologia e na taxa de resistência local, ainda pode ser utilizado no tratamento sistêmico como primeira

escolha, principalmente nos pacientes estáveis e com microorganismos com sensibilidade a fluconazol (COLOMBO et al., 2013; PAPPAS et al., 2016).

1.3. FLUCONAZOL

O fluconazol, ou 2-(2,4-difluorofenil)-1,3-bis(1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol, foi o primeiro fármaco antifúngico triazólico sintético, desenvolvido através do planejamento de fármacos a partir da estrutura dos derivados imidazólicos e utilizando modelos animais de infecção. Seu planejamento se iniciou em 1978 e teve como objetivo garantir maior estabilidade metabólica e maior hidrossolubilidade à molécula. Suas características físico-químicas (dispostas no quadro 1) possibilitaram o desenvolvimento de formulações orais e intravenosas, revolucionando o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas (RICHARDSON et al., 1990).

Quadro 1 – Características físico-químicas do fluconazol

Nome IUPAC: 2-(2,4-difluorofenil)-1,3-bis(1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol	
Fórmula molecular: C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	
Peso molecular: 306,27g/mol	
Coeficiente de ionização (pKa): 1,76	
Coeficiente de partição octanol/água (logP): 0,4-0,5	
Estrutura química bidimensional	Estrutura química tridimensional
	

Fonte: PubChem-NCBI-NIH (USA). Acessado em 21/05/2021. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3365#section=Drug-Indication>

Foi aprovado pela primeira vez nos EUA em 1990 com o nome comercial de DIFLUCAN® (Pfizer). No Brasil, o medicamento de referência é comercializado pela Wyeth sob o nome comercial de ZOLTEC® e licenciado para o tratamento de criptococose e candidíase e para a prevenção de infecções fúngicas em pacientes com doenças oncológicas (RICHARDSON et al., 1990; ZOLTEC, 2019).

Sua ação antifúngica se dá pela inibição seletiva da enzima do citocromo P450, lanosterol 14-alfa-desmetilase, interferindo na biossíntese do ergosterol, componente essencial da parede celular fúngica. Apresenta primariamente ação fungistática, mas possui ação fungicida dose-dependente, com um efeito pós-antifúngico prolongado (ANDES et al., 1999; LOUIE et al., 1998; ZOLTEC, 2019).

Possui espectro apenas para fungos leveduriformes, como *Candida spp* susceptível (CIM 0,25-2 mg/L), *Candida spp.* dose-dependente (CIM 8-32 mg/L) e *Cryptococcus neoformans* (CIM 4-8 mg/L) (EUCAST, 2020; PFALLER et al., 2006; ZOLTEC, 2019).

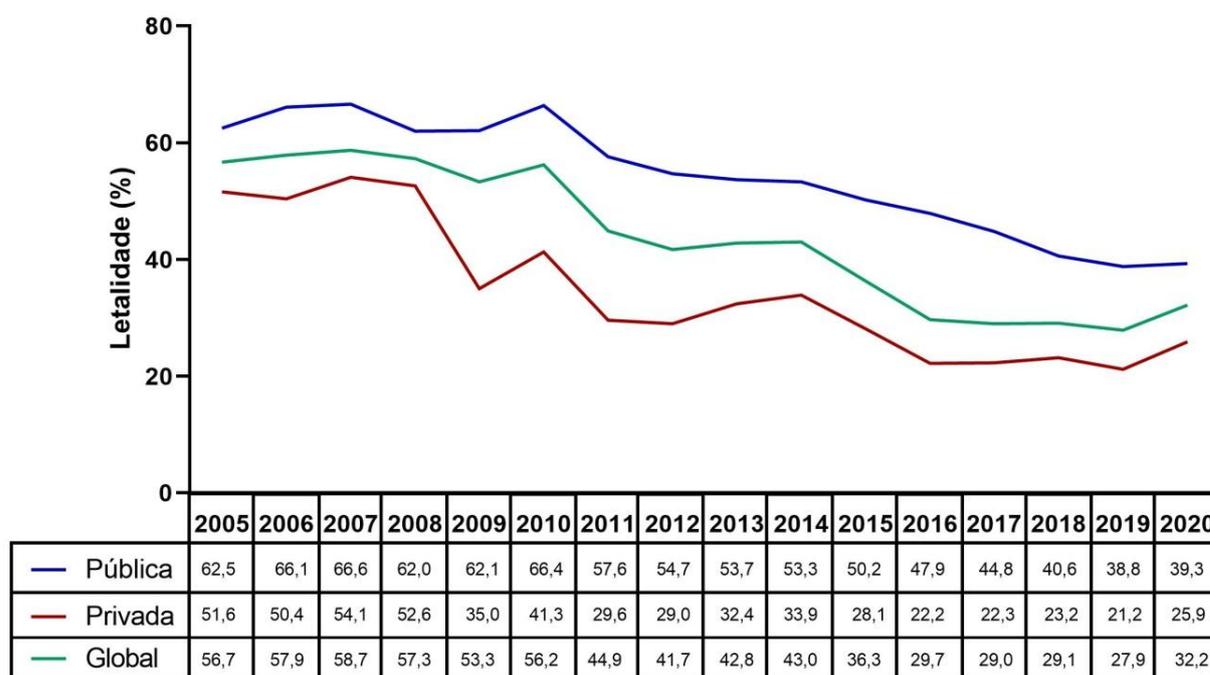
Apresenta biodisponibilidade oral acima de 90% e ampla distribuição sistêmica, se concentrando principalmente na pele e na urina, mas também com boa penetração no líquido cefalorraquidiano. O volume aparente de distribuição (Vd) se aproxima do volume total de água corpórea ($0,70 \pm 0,06$ L/kg). Possui baixa ligação a proteínas plasmáticas (11-12%) e parece não sofrer metabolismo significativo, uma vez que não são descritos metabólitos circulantes. Sua eliminação é principalmente renal, pela qual cerca de 80% é excretado na forma inalterada. E apresenta meia-vida biológica de aproximadamente 30 horas após a administração via oral e um *clearance* corporal total (CL_T) de $0,4 \pm 0,04$ ml/min/kg (DEBRUILLE et al., 1993; HUMPREY et al., 1985, ZOLTEC, 2019).

1.4. ABORDAGEM FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÂMICA

As definições de sepse e choque séptico foram recentemente rediscutidas e atualizadas pelo terceiro consenso internacional “Sepsis-3” (SEYMOUR et al., 2016; SHANKAR-HARI et al., 2016; SINGER et al., 2016) e o seu manejo vem sendo cada vez mais estudado, de forma a melhorar o diagnóstico, otimizar a terapia anti-

infecciosa e combater a resistência aos antimicrobianos (KAUKONEN et al., 2014; RHODES et al., 2017). No entanto, mesmo com a queda da mortalidade nos últimos anos, o quadro séptico ainda está relacionado com uma alta taxa de mortalidade, principalmente nos hospitais públicos, como descrito na figura 1. (ILAS, 2020)

Figura 1 - Letalidade dos pacientes em sepse e choque séptico (ILAS, 2020)

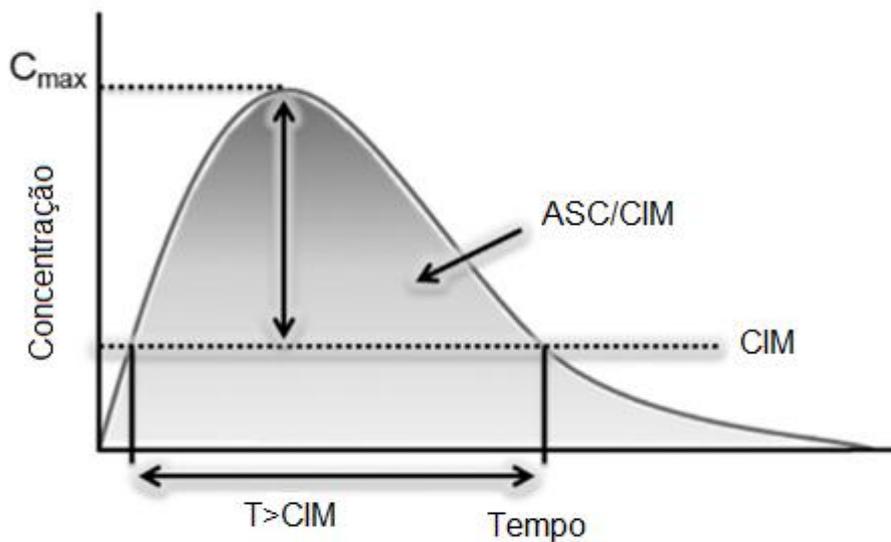


Fonte: Adaptado do Relatório Nacional de 2020 do Instituto Latino Americano de Sepse, acessível em <http://www.ilas.org.br/assets/arquivos/relatorio-nacional/relatorio-nacional-2020.pdf>, acessado em 21/05/2021.

A mortalidade está principalmente relacionada ao início tardio do diagnóstico e do tratamento, assim como à efetividade parcial ou ineficácia da terapia anti-infecciosa. Esta depende fundamentalmente da interação entre hospedeiro, agente anti-infeccioso e patógeno, portanto, sofrendo influência direta da função imunológica do hospedeiro e das características farmacocinéticas (PK) e farmacodinâmicas (PD) da terapia anti-infecciosa (ASIN-PRIETO et al., 2015; WHO, 2017).

Dessa tríade, a relação PK/PD pode ser estabelecida a partir de dosagens do nível sérico do antimicrobiano e da concentração inibitória mínima (CIM) do patógeno, podendo ser correlacionada ao desfecho clínico e ao surgimento de resistência de forma preditiva, que é representado pelo índice de predição de efetividade, descritos na figura 2.

Figura 2 - Índice PK/PD para predição de efetividade de agentes anti-infecciosos



Abreviaturas: ASC – área sob a curva; CIM – concentração inibitória mínima; $T > CIM$ – tempo com a concentração sérica acima da concentração inibitória mínima.

Fonte: ASIN-PRIETO et al., 2015 (adaptado).

Agentes antimicrobianos que apresentam maior atividade quanto maior o tempo em que a concentração se manter acima da CIM do patógeno, como os beta-lactâmicos, são chamados de tempo-dependentes e apresentam como melhor índice de predição de efetividade a função do tempo acima da CIM ($f\Delta T > CIM$) (ASIN-PRIETO et al., 2015; DRUSANO, 2004; LEPAK et al., 2015).

Enquanto que os agentes concentração-dependentes apresentam maior atividade quanto maiores as concentrações séricas em relação à CIM. Nesse caso, existem dois índices: a área sob a curva acima da CIM (ASC/CIM), como no caso dos glicopeptídeos e antifúngicos triazólicos, e a concentração máxima acima da

CIM (C_{max}/CIM), para aminoglicosídeos e das quinolonas, os quais se diferenciam essencialmente pela capacidade de sustentar a inibição do crescimento do patógeno quando a concentração cai abaixo da CIM (ASIN-PRIETO et al., 2015; DRUSANO, 2004; LEPAK et al., 2015).

O monitoramento sérico e a abordagem PK/PD vêm sendo cada vez mais estudados e aplicados como ferramenta para otimizar a terapia anti-infecciosa e combater o surgimento de resistência aos antimicrobianos. Principalmente frente às alterações farmacocinéticas decorrentes do quadro séptico e em populações específicas, como pacientes críticos, pediátricos e grandes queimados, nos quais a terapia empírica nas doses usuais frequentemente não garante cobertura adequada (CAIN et al., 2014; CARLIER et al., 2015; GOMEZ et al., 2013; GOMEZ et al., 2015; GONÇALVES-PEREIRA et al., 2011; GONÇALVES-PEREIRA et al., 2014; RIZK et al., 2017; ROBERTS et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SILVA JR et al., 2017a; SILVA JR et al., 2017b).

Portanto, considerando as mudanças patofisiológicas que ocorrem em pacientes sépticos e em grandes queimados, é de se esperar alterações farmacocinéticas significativas que podem impactar na efetividade do tratamento antifúngico com o fluconazol. Assim, a investigação da farmacocinética nos pacientes queimados e a abordagem PK/PD podem auxiliar no manejo de infecções fúngicas invasivas.

2. OBJETIVOS

Realizar o monitoramento sérico do fluconazol, investigar as possíveis alterações na farmacocinética e avaliar a cobertura da terapia antifúngica através da abordagem PK/PD nos pacientes críticos grandes queimados, visando à individualização e otimização do tratamento e o combate à resistência, de forma a alcançar a cura clínica e microbiológica.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. ETAPA CLÍNICA

3.1.1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo clínico aberto de braço único prospectivo na Unidade de Terapia Intensiva de Queimados do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (UTIQ-ICHC-FMUSP).

3.1.2. Critérios de inclusão

- Pacientes críticos queimados adultos internados na UTIQ-ICHC-FMUSP;
- Terapia antifúngica com fluconazol por mais de 72h;
- Sepses ou choque séptico por *Candida glabrata*, confirmados com isolamento em cultura.

3.1.3. Critérios de exclusão

- Neutropenia grave (contagem absoluta de neutrófilos inferior a 500 cel/mm³) devido à quimioterapia ou imunodeficiência primária;
- Mulheres grávidas ou lactantes;
- Hipersensibilidade ao fluconazol ou excipientes da formulação;
- Disfunção renal (*clearance* de creatinina inferior a 50 ml/min, calculados pela fórmula de Cockcroft-Gault) ou em terapia de substituição renal.

3.1.4. Coleta de dados demográficos, clínicos e laboratoriais

Foram coletados os seguintes dados demográficos e clínicos dos pacientes a partir dos prontuários e sistema eletrônico de exames laboratoriais:

- Dados antropométricos: gênero, idade, peso real e peso ideal, altura, superfície corpórea e índice massa corpórea;
- Exame físico da admissão, evolução clínica e avaliação do desfecho (cura microbiológica, cura clínica/alta);
- Porcentagem de superfície corpórea total queimada e presença de lesão inalatória;
- Exames laboratoriais de rotina realizados na Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HC-FMUSP): culturas, hemograma, plaquetas, proteína C reativa, contagem de leucócitos/neutrófilos, creatinina sérica, uréia, gasometria e lactato;
- Escore de gravidade de admissão de paciente investigado na América Latina “*Simplified Acute Physiology Score*” (SAPS-3*).

Todos os dados foram coletados na UTIQ-ICHC-FMUSP, de forma a manter a confidencialidade das informações dos pacientes.

3.1.5. Administração e posologia da terapia antifúngica

O diagnóstico, a rotina de coleta de exames laboratoriais e a prescrição do fluconazol foram realizados pela equipe médica, seguindo as recomendações institucionais do Grupo de Controle de Infecção Hospitalar (GCIH) do ICHC-FMUSP e “Guia de Utilização de antimicrobianos e Recomendações para a Prevenção de Infecções Hospitalares do HC-FMUSP” versão, 2018-2020.

Os pacientes receberam inicialmente doses de 200mg EV a cada 12h, com ajuste das doses conforme a abordagem PK/PD nos três seguimentos realizados.

A medicação foi realizada pela Equipe de Enfermagem em infusões de uma hora através de bomba de infusão como parte do cuidado habitual da UTIQ-ICHC-FMUSP.

3.1.6. Coleta seriada das amostras de sangue

Após pelo menos 72 horas de tratamento com fluconazol, a coleta seriada das amostras de sangue (2ml/coleta em tubo gel) foi realizada pela Equipe de Enfermagem ou Equipe Médica, devidamente treinados, do cateter venoso central, na primeira hora (ao término da infusão de 1 hora), na terceira hora (duas horas após o final da infusão) e na décima-segunda hora (antes da próxima dose). Os horários de administração do fluconazol constaram na prescrição informatizada e foram confirmadas pelo profissional de Enfermagem, bem como os horários das coletas de sangue.

As amostras foram identificadas, mantidas em geladeira (5-8°C) e, após a última coleta, a bandeja de tubos foi transportada em caixa térmica, juntamente com cópia da documentação do paciente para o Laboratório de Farmacocinética Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (LFC-FCF USP).

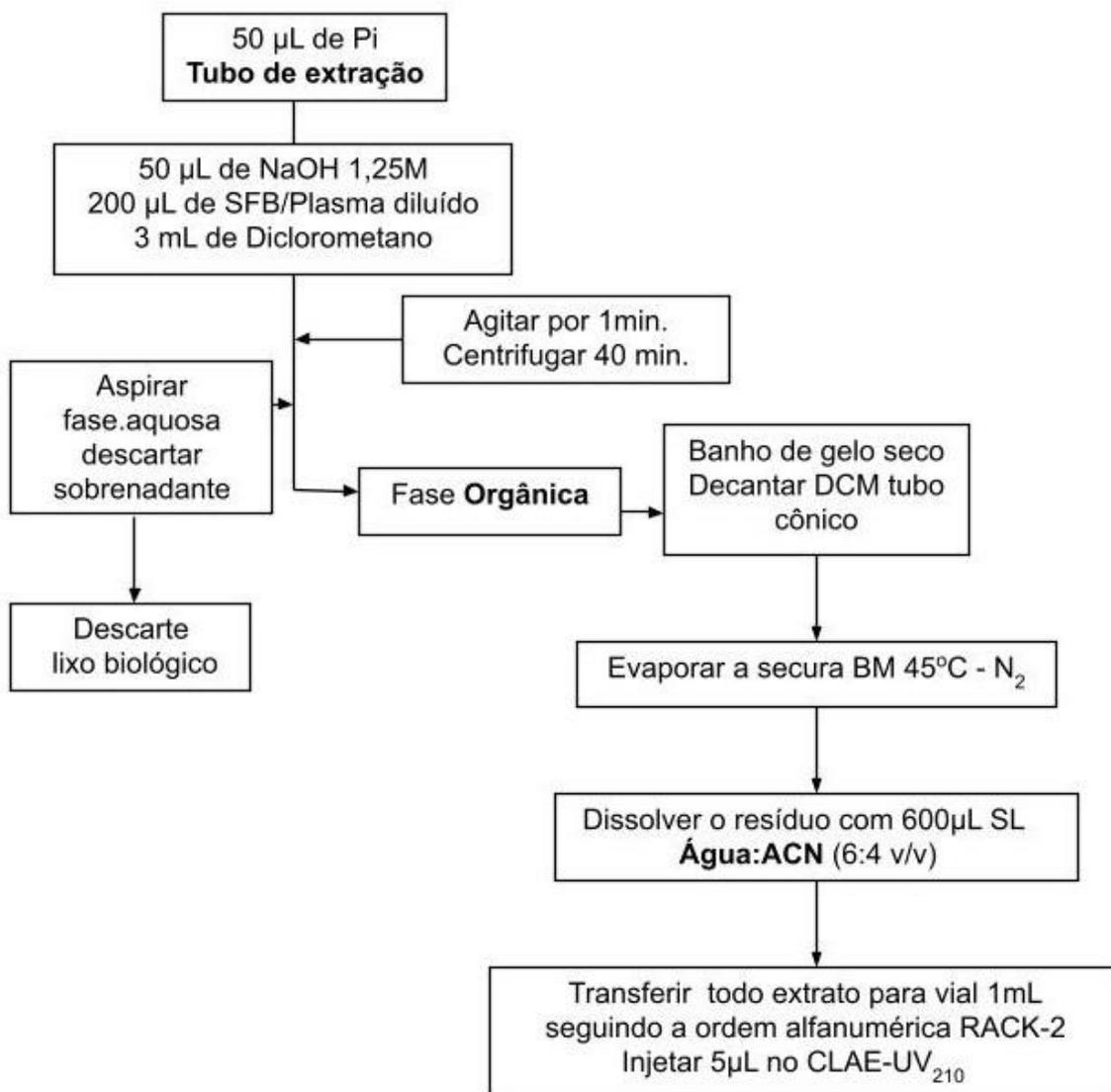
3.2. ETAPA ANALÍTICA

As amostras de sangue foram recebidas no LFC-FCFUSP e a elas atribuídas um número de alocação no estudo, em ordem sequencial de entrada, desvinculando-as da identificação hospitalar do paciente.

O processamento e a análise das amostras foram realizados no LFC-FCFUSP, como rotina habitual do laboratório, seguindo metodologia bioanalítica desenvolvida e validada em estudo prévio (SANTOS et al., 2010).

O fluconazol foi extraído das amostras clínicas através da cromatografia líquido-líquido com diclorometano, em meio alcalino. A fase aquosa foi separada e descartada, e a fase orgânica submetida ao resfriamento para decantamento. Após a evaporação do diclorometano, a amostra é redissolvida, transferida para o *vial* de análise e inserida no cromatógrafo, como esquematizado na figura 3.

Figura 3 – Extração de fluconazol da matriz biológica



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Abreviaturas: ACN: acetonitrila; BM: banho-maria; CLAE-UV: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta; DMC: diclorometano; M: molar; N₂: nitrogênio gasoso; NaOH: hidróxido de sódio; Pi: padrão interno; SFB: soro fetal bovino; SL: solução de lavagem.

A quantificação do fluconazol foi realizada através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detectores de ultravioleta (UV), utilizando-se métodos previamente desenvolvidos e validados no cromatógrafo 10 ADvp SHIMADZU (Kyoto, Japão). Foi utilizada a coluna Shimpack CN (150 x 6.0 mm, 5 µm, Shimadzu, Kyoto, Japan), com uma fase móvel de Água:Acetonitrila na proporção isocrática 6:4 v/v, e realizada a corrida em 15 minutos.

Antes de cada análise foi realizada revalidação no método, de acordo com a legislação nacional para métodos bioanalíticos (RE 899/2003 e RDC 27/2012, ANVISA).

3.3. ETAPA ESTATÍSTICA

3.3.1. Modelagem farmacocinética e abordagem PK/PD

Após a quantificação do fluconazol na matriz biológica foi realizada a modelagem farmacocinética a partir dos pares de dados obtidos de concentração *versus* tempo, utilizando programa simplificado e validado para três coletas de amostras sanguíneas, a partir do programa *NONCOMPARTMENTAL DATA ANALYSIS PK SOLUTIONS 2.0* (Summit, USA). A partir dos valores obtidos de pico e vale, foram estimados através das fórmulas constantes no quadro 2, os parâmetros farmacocinéticos de eliminação como a taxa de eliminação (k_{el}), a meia-vida biológica e o CL_T , e o V_d , que avalia a extensão da distribuição.

Por fim, a biodisponibilidade do fluconazol foi estimada a partir da área sob a curva (calculada através do método dos trapezoides) e correlacionada às CIM teóricas (1-32 mg/L), obtendo então os índices de predição de efetividade para cada paciente, que foram comparados com o alvo recomendado $ASC_{0-24h}^{SS}/CIM > 25$ (ANDES et al., 1999; DIPIRO et al., 2010).

Quadro 2 – Parâmetros farmacocinéticos para regime de doses múltiplas em infusão intermitente

Descrição do parâmetro	Símbolo (unidade)	Equação
Constante de infusão	K_0 (mg/h)	Dose/ T_i
Pico	C_{max}^{ss} (mg/L)	Dado obtido
Vale	C_{min}^{ss} (mg/L)	Dado obtido
Taxa de eliminação	kel (h ⁻¹)	$(\ln C_1 - \ln C_2)/(T_2 - T_1)$
Meia-vida biológica	$t_{(1/2)\beta}$ (h)	0,693/ kel
Área sob a curva entre 2 doses	$ASC_{0-\tau}^{ss}$ (mg*h/L)	Área integrada dos trapezóides
Clearance total corporal	CL_T (L/h)	Dose/ $ASC_{0-\tau}^{ss}$
Volume de distribuição	Vd^{ss} (L)	Dose _{τ} /(kel * $ASC_{0-\tau}^{ss}$)

Abreviaturas: k_0 – constante de infusão; T_i – tempo de infusão; C_{max}^{ss} – concentração máxima no estado de equilíbrio; C_{min}^{ss} – concentração mínima no estado de equilíbrio; T – tempo; τ - intervalo entre as doses; kel – constante de eliminação; C_n – concentração no tempo n ; $t_{(1/2)\beta}$ – meia-vida biológica; β – fase de eliminação; $ASC_{0-\tau}^{ss}$ - área sob a curva no estado de equilíbrio no intervalo entre infusões consecutivas; CL_T – clearance total corporal; Vd^{ss} – volume de distribuição.
Fonte: DIPIRO et al., 2010; *NonCompartmental Data Analysis: PK Solutions v.2.0*, software.

3.3.2. Estudo populacional e análise estatística

O tratamento estatístico dos dados, assim como as apresentações de tabelas e gráficos, foram realizados através dos programas Microsoft Office Excel 365, Microsoft Corporation (USA) e GraphPad Prism for Windows v9.1.1, GraphPad Software Inc. (San Diego, California, USA).

Os dados descritivos foram expressos através da mediana (intervalo interquartil 25-75%). E utilizada estatística não-paramétrica para a comparação entre os grupos (teste de Wilcoxon, para dados pareados). Foram explicitados nos gráficos apenas os valores com significância estatística, considerando um $p < 0,05$.

Nos testes de correlação linear os resultados foram expressos através do coeficiente de correlação de Pearson, com significância estatística de $p < 0,05$ e intervalo de confiança 95%.

3.4. QUESTÕES ÉTICAS

O presente protocolo de estudo está cadastrado na Plataforma Brasil, e foi aprovado pelo Comitê de Ética do hospital (registro CAEE 07525118.3.0000.0068 Hospital das Clínicas HCFMUSP), disposto no Anexo A.

Foi obtido do representante legal de cada paciente incluído no estudo o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE), apresentado no Anexo B. O representante legal foi informado e orientado em detalhes pelo coordenador médico do projeto quanto aos objetivos e os procedimentos necessários para a realização do estudo. Ao final foi coletada assinatura do TCLE e entregue uma cópia ao responsável do paciente.

3.5. GERENCIAMENTO DE DADOS E CONFIDENCIALIDADE

Através da assinatura do TCLE, o responsável legal atesta que tem ciência de que os dados coletados a partir de sua participação poderão ser tornados públicos. Porém, conforme a legislação de pesquisa clínica no país (Resolução CNS 196/96) alinhada à última harmonização ICH E7- *Good Clinical Practice Integrated Addendum to ICH E6 (R1)* n.1, de março 2018, os pacientes envolvidos no protocolo de estudo, foram identificados apenas através de suas iniciais e por seu código numérico de alocação no estudo. Em caso de publicação, a identidade de todo e qualquer paciente envolvido no estudo será mantida em sigilo.

4. RESULTADOS

Foram incluídos neste estudo oito pacientes queimados de ambos os gêneros (4F/4M) e em tratamento de infecção confirmada por *Candida glabrata* devido ao seu padrão de sensibilidade dose-dependente. As características demográficas individuais dos pacientes e seus dados clínico-laboratoriais estão dispostos nas tabelas 1 a 4. Todos os pacientes tinham idade inferior a 50 anos (mediana de 35,5 anos), dos quais apenas um apresentava obesidade, considerando um IMC >30 kg/m².

Tabela 1 – Características demográficas dos pacientes queimados

Paciente	Gênero (M/F)	Idade (anos)	Peso real (kg)	Peso ideal (kg)	SC ^a (m ²)	IMC ^a (kg/m ²)
#1	M	43	102	70	2,20	35,3
#2	M	33	70	70	1,82	24,2
#3	F	32	60	51	1,64	23,4
#4	M	42	70	70	1,82	24,2
#5	F	29	65	55	1,73	23,9
#6	F	36	70	55	1,80	25,7
#7	M	48	75	70	1,89	26,0
#8	F	31	60	51	1,64	23,4
Mediana (IQ)	4F/4M	35,5 (31,2-42,8)	70,0 (61,2-73,8)	62,5 (52,0-70,0)	1,81 (1,66-1,87)	24,2 (23,5-25,9)

Abreviaturas: M – masculino; F – feminino; SC – superfície corpórea; IMC – índice de massa corpórea; IQ – intervalo interquartil.

Nota: ^aSuperfície corpórea e índice de massa corpórea calculados com base no peso real.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Três pacientes apresentaram trauma elétrico e cinco, queimadura térmica, com uma mediana de 46% de superfície corpórea total queimada (SCTQ). A maioria dos pacientes (7/8) apresentou lesão inalatória, por aspiração de fumaça/fogo ou *flash burn*/trauma elétrico, sendo então submetidos à intubação na admissão para proteção de vias aéreas. Os pacientes apresentaram gravidade elevada na admissão, todos com SAPS-3* acima de 50, com uma mediana da população de 61, como descrito na tabela 2.

Tabela 2 – Características clínicas dos pacientes queimados na admissão em UTI

Paciente	SCTQ (%)	Tipo	LI/VM	SAPS-3*
#1	18	E	N	55
#2	75	T	S	61
#3	55	T	S	55
#4	34	E	S	53
#5	45	T	S	64
#6	47	T	S	61
#7	50	E	S	69
#8	42	T	S	70
Mediana (IQ)	46,0 (36,0-53,8)	5T/3E	7/8	61,0 (55,0-67,8)

Abreviaturas: SCTQ – superfície corpórea total queimada; LI – lesão inalatória; VM – ventilação mecânica; SAPS-3* – *Simplified Acute Physiology Score 3*; E – trauma elétrico; T – queimadura térmica; N – não; S – sim; IQ – intervalo interquartil

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Os exames de admissão dos pacientes queimados encontram-se na tabela 3. Observa-se que, na admissão nenhum paciente apresentava insuficiência renal, com um *clearance* de creatinina (ClCr) mediano de 106,7 ml/min, calculado pela fórmula de Cockcroft-Gault, mesmo quando utilizado o peso ideal para o cálculo (no caso do paciente #1, que apresentava obesidade).

No geral, os pacientes foram admitidos na UTIQ-ICHC-FMUSP no período precoce pós-queimadura, apresentando um perfil inflamatório ainda baixo, com uma proteína C reativa (PCR) mediana de 3,4 mg/L e contagens de leucócitos e neutrófilos com medianas de 13,02 e 9,84 mil células/mm³, respectivamente. No entanto, alguns pacientes foram transferidos de outras unidades ou só conseguiram coletar exames após algumas horas da admissão, o que pode ser observado na tabela 3, por um PCR inicial mais alto.

Também é de se destacar que a maioria dos pacientes apresentaram sinais de hipoperfusão ou choque na admissão, como é sinalizado pelo lactato elevado e o fato de todos terem evoluído com necessidade de droga vasoativa (DVA), mantendo o uso nos três seguimentos em que foram realizadas as dosagens séricas de fluconazol.

Tabela 3 – Perfil laboratorial dos pacientes queimados na admissão em UTI

Paciente	Uréia (mg/dL)	Cr (mg/dL)	CICr ^a (ml/min)	PCR (mg/L)	Lactato (mg/dL)	Leucócitos (mil/mm ³)	Neutrófilos (mil/mm ³)	Plaquetas (mil/mm ³)
#1	28	1,28	107,4	2,59	49	12,11	6,7	252
#2	32	0,74	140,6	178	36	11,33	8,7	322
#3	28	0,7	109,3	140	17	19,4	16,1	203
#4	29	1	105,0	0,4	25	10,6	6	276
#5	29	0,45	189,3	2,9	8	18,73	17,2	219
#6	27	0,81	106,1	2,4	38	9,5	5,2	375
#7	36	1,05	91,3	4	28	17,51	14,9	380
#8	31	0,85	90,8	31,3	25	13,93	10,97	272
Mediana	29,0	0,83	106,7	3,4	26,5	13,02	9,84	274,0
(IQ)	(28,0-31,8)	(0,71-1,04)	(94,7-132,8)	(2,4-112,8)	(19,0-37,5)	(10,78-18,43)	(6,18-15,80)	(227,3-361,8)

Abreviaturas: Cr - creatinina sérica; CICr - *clearance* de creatinina; PCR - proteína C reativa; IQ – intervalo interquartil.

Nota: ^a*Clearance* de creatinina calculado a partir da fórmula de Cockcroft-Gault com base no peso real

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Durante a internação todos os pacientes foram submetidos a algum procedimento cirúrgico, como desbridamento, escarotomia, enxertia, amputação de membros ou revisão de nível de amputação. Observa-se um número grande de procedimentos cirúrgicos, principalmente naqueles pacientes que sofreram trauma elétrico. Os pacientes ficaram internados por uma mediana de 49 dias em UTI e um tempo total de internação hospitalar mediano de 57 dias. Todos os pacientes apresentaram cura microbiológica para a terapia antifúngica, porém metade evoluiu a óbito. Vide tabela 4.

O perfil laboratorial dos pacientes queimados foi acompanhado com o intuito de monitorizar as alterações do estado clínico e avaliar seus possíveis impactos na farmacocinética do fluconazol. Foram utilizados como marcadores de função renal, a uréia e a creatinina, sendo a última utilizada para o cálculo do CICr. O PCR, leucócitos e neutrófilos como marcadores inflamatórios e as plaquetas para acompanhamento prognóstico, todos associados à síndrome da resposta

inflamatória sistêmica (SRIS) e à sepse. E o lactato foi monitorizado como marcador de perfusão tecidual e estado hemodinâmico.

Tabela 4 – Dados clínicos de internação dos pacientes queimados

Paciente	Procedimentos cirúrgicos			Tempo de internação (dias)		Desfecho	
	Escarotomia/ Desbridamento/ Enxertia	Amputação/ Revisão de nível de amputação	Total	UTI	Hospitalar	Cura microbio- lógica	Cura clínica/ Alta
#1	6	6	12	50	90	S	S
#2	12	3	15	54	54	S	N
#3	5	0	5	41	41	S	N
#4	8	7	15	160	174	S	S
#5	8	0	8	48	60	S	S
#6	3	0	3	30	30	S	N
#7	4	6	10	106	195	S	S
#8	4	0	4	36	36	S	N
Mediana (IQ)	5,5 (4,0-8,0)	1,5 (0,0-6,0)	9 (4,2-14,2)	49,0 (37,2-93,0)	57,0 (37,2-153)	8/8	4/8

Abreviaturas: IQ – intervalo interquartil; UTI – unidade de terapia intensiva; S – sim; N – não.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

A tabela 5 contém os dados individuais de cada exame nos três seguimentos. Enquanto a figura 4, os dados populacionais, com a comparação entre a admissão e os três seguimentos. Observa-se nos pacientes queimados uma piora moderada da função renal no seguimento 2, principalmente marcada pela elevação significativa da uréia, porém não do CÍCr. O PCR apresentou aumento importante em relação à admissão e manteve-se alto durante os três seguimentos, sinalizando a presença constante de resposta inflamatória, decorrente da queimadura, processos cirúrgicos ou infecciosos. Também houve aumento significativo do lactato no seguimento 2, que, apesar de ser marcante quando comparado com o seguimento 1, no acompanhamento longitudinal se manteve acima do valor de referência nos três seguimentos.

Tabela 5 – Exames laboratoriais dos pacientes queimados nos seguimentos 1, 2 e 3

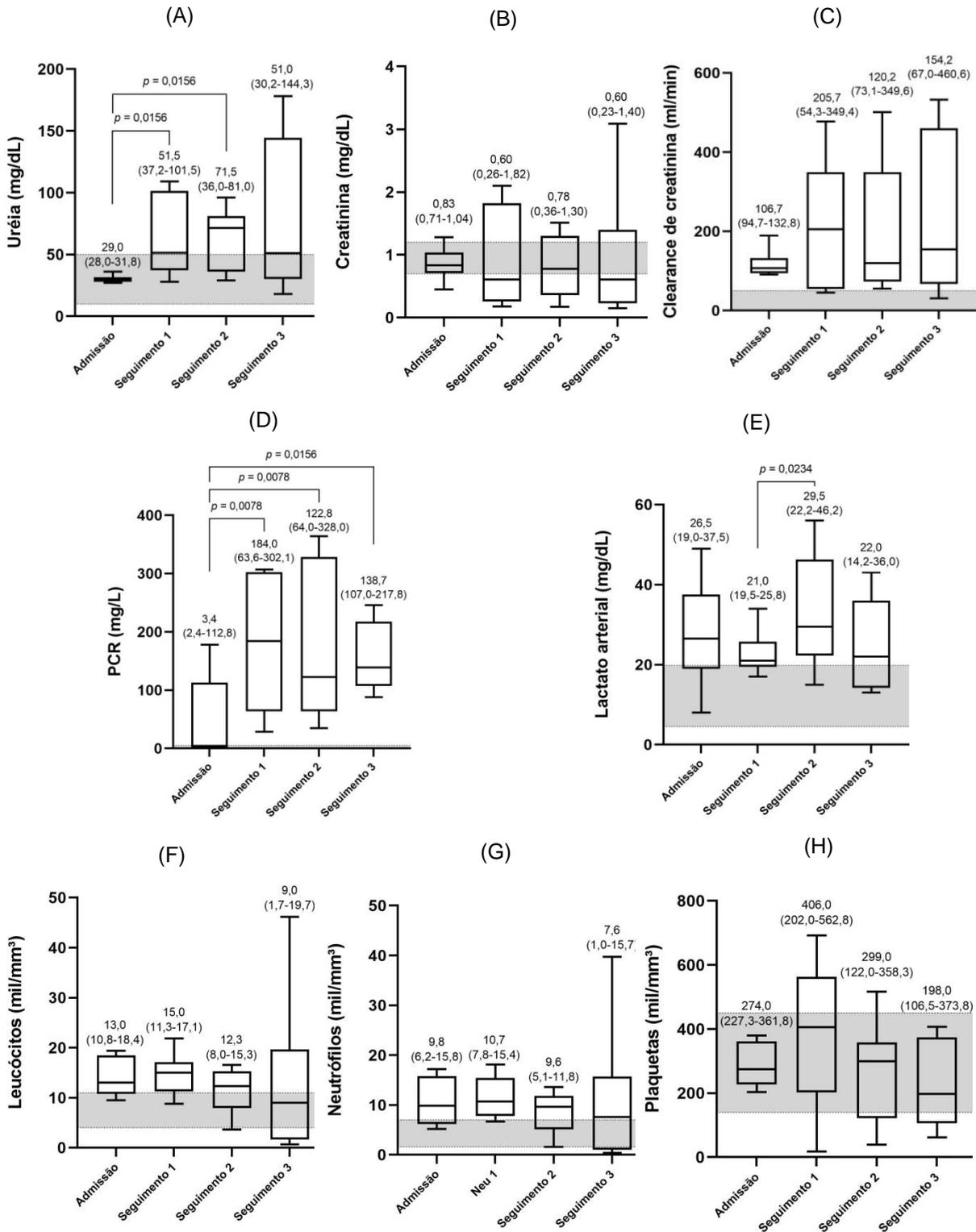
	Uréia (mg/dL)	Cr (mg/dL)	CICr ^a (ml/min)	PCR (mg/L)	Lactato (mg/dL)	Leucócitos (mil/mm ³)	Neutrófilos (mil/mm ³)	Plaquetas (mil/mm ³)
Seguimento 1								
Paciente								
#1	35	0,39	352,4	45,5	22	14,23	10,6	402
#2	109	2,02	51,5	307	34	8,82	6,7	196
#3	44	0,27	283,3	210	27	16,81	15,7	421
#4	48	0,82	128,0	118	19	15,38	10,8	410
#5	28	0,25	340,7	158	21	17,24	14,5	692
#6	55	0,18	477,5	303,3	21	10,28	8,8	220
#7	105	2,1	45,6	298,4	17	21,88	18,1	18
#8	91	1,23	62,8	28,3	21	14,61	7,45	610
Mediana (IQ)	51,5 (37,2-101,5)	0,60 (0,26-1,82)	205,7 (54,3-349,4)	184,0 (63,6-302,1)	21,0 (19,5-25,8)	15,00 (11,27-17,13)	10,70 (7,79-15,40)	406,0 (202,0-562,8)
Seguimento 2								
Paciente								
#1	29	0,35	392,6	73,5	28	12,6	8,8	373
#2	57	0,98	106,2	281	44	3,66	1,6	314
#3	71	0,57	134,2	364	47	9,14	7,1	517
#4	81	1,03	101,9	172	23	16,57	12,1	311
#5	29	0,17	501,0	62,9	31	12,25	10,5	287
#6	81	0,39	220,4	343,7	56	12,43	10,9	224
#7	72	1,51	63,5	67,4	15	16,19	13,6	39
#8	96	1,39	55,5	34,8	22	7,58	4,46	88
Mediana (IQ)	71,5 (36,0-81,0)	0,78 (0,36-1,30)	120,2 (73,1-349,6)	122,8 (64,0-328,0)	29,5 (22,2-46,2)	12,34 (7,97-15,29)	9,65 (5,12-11,80)	299,0 (122,0-358,3)
Seguimento 3								
Paciente								
#1	18	0,44	312,3	101	18	16,21	11,4	404
#2	55	0,76	136,9	196	19	1,05	0,6	103
#3	49	0,15	510,0	150	43	9	8,2	117
#4	53	1,42	73,9	125	27	20,84	17,1	407
#5	34	0,16	532,4	88,2	13	3,54	2,4	222
#6	178	1,33	64,6	246	39	46,17	39,7	174
#7	174	3,09	31,0	127,3	13	9,01	7	283
#8	29	0,45	171,6	225,1	25	0,68	0,38	62
Mediana (IQ)	51,0 (30,2-144,3)	0,60 (0,23-1,40)	154,2 (67,0-460,6)	138,7 (107,0-217,8)	22,0 (14,2-36,0)	9,00 (1,67-19,68)	7,60 (1,05-15,68)	198,0 (106,5-373,8)

Abreviaturas: Cr - creatinina sérica; CICr - *clearance* de creatinina; PCR - proteína C reativa; IQ – intervalo interquartil.

Nota: ^a*Clearance* de creatinina calculado a partir da fórmula de Cockcroft-Gault com base no peso real

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

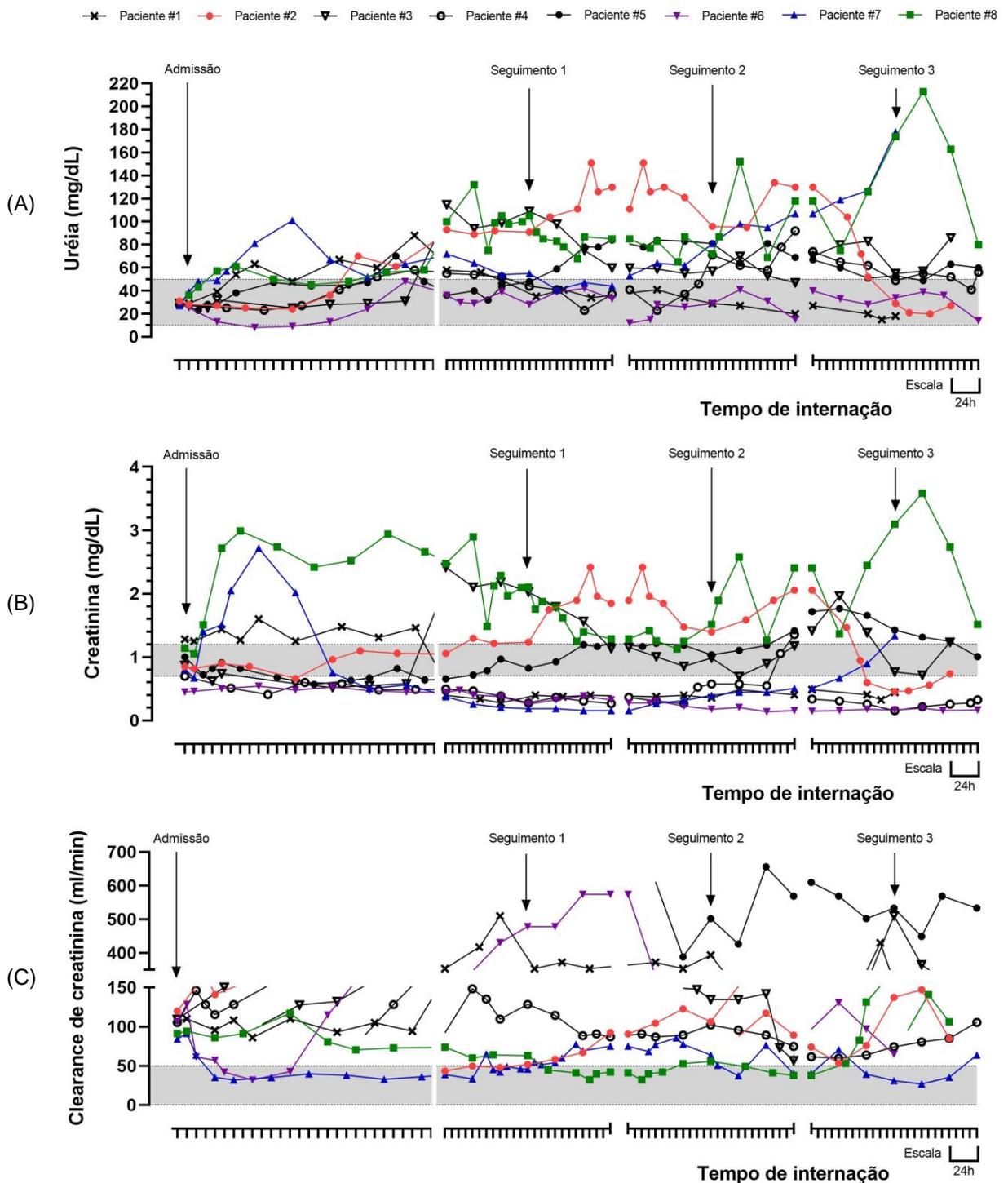
Figura 4 – Dados laboratoriais dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3



Abreviaturas: PCR - proteína C reativa.

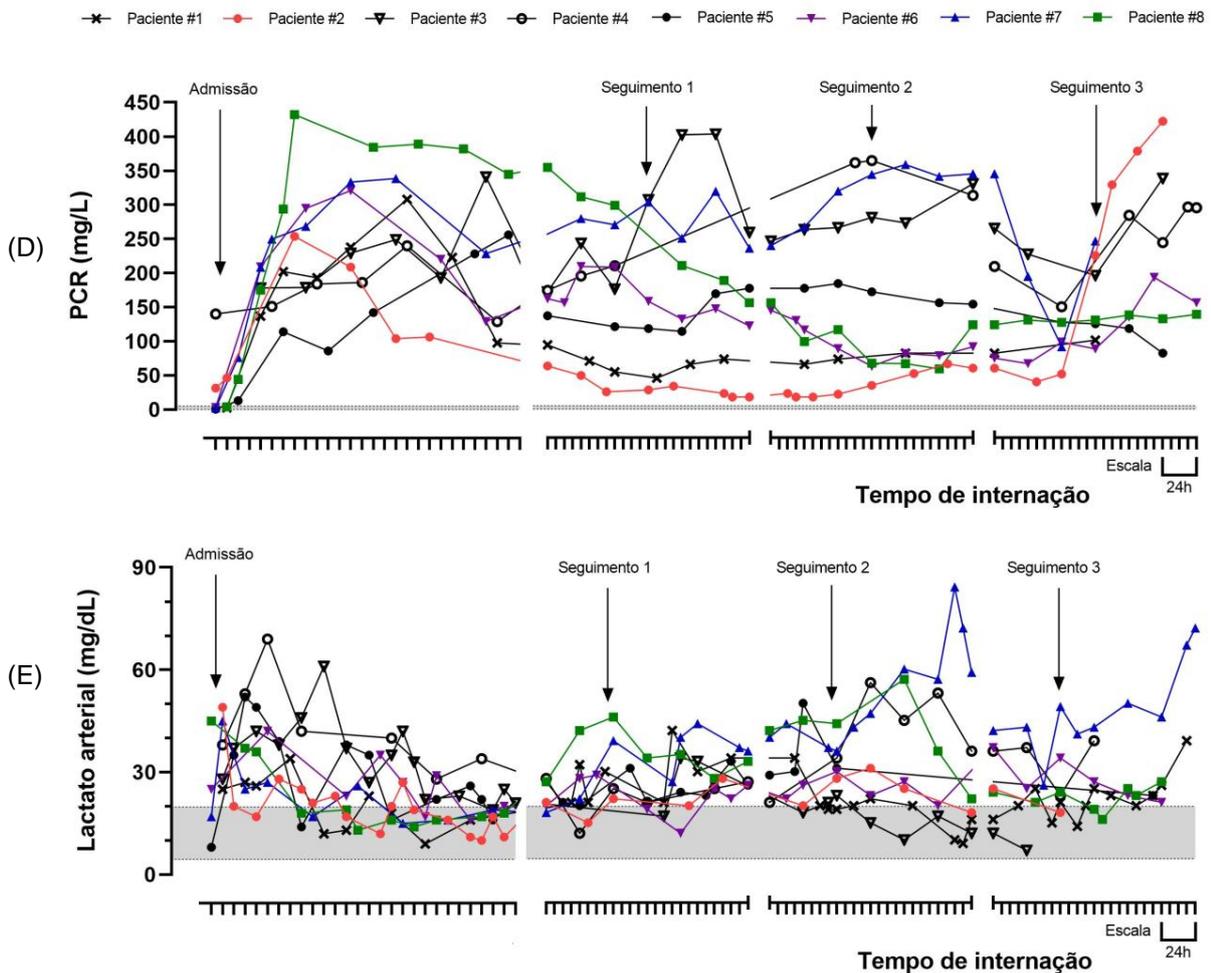
Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%); teste de Wilcoxon para dados pareados, nível de significância $p < 0,05$.

Figura 5A – Evolução do perfil laboratorial dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3
 (A) Uréia (B) Creatinina (C) *Clearance* de creatinina



Nota: A linha do tempo não é contínua e está dividida em quatro segmentos.
 Período 1: admissão até 7 dias de internação.
 Período 2: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 1.
 Período 3: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 2.
 Período 4: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 3.

Figura 5B – Evolução do perfil laboratorial dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3
(D) PCR (E) Lactato arterial



Abreviaturas: PCR - proteína C reativa

Nota: A linha do tempo não é contínua e está dividida em quatro segmentos.

Período 1: admissão até 7 dias de internação.

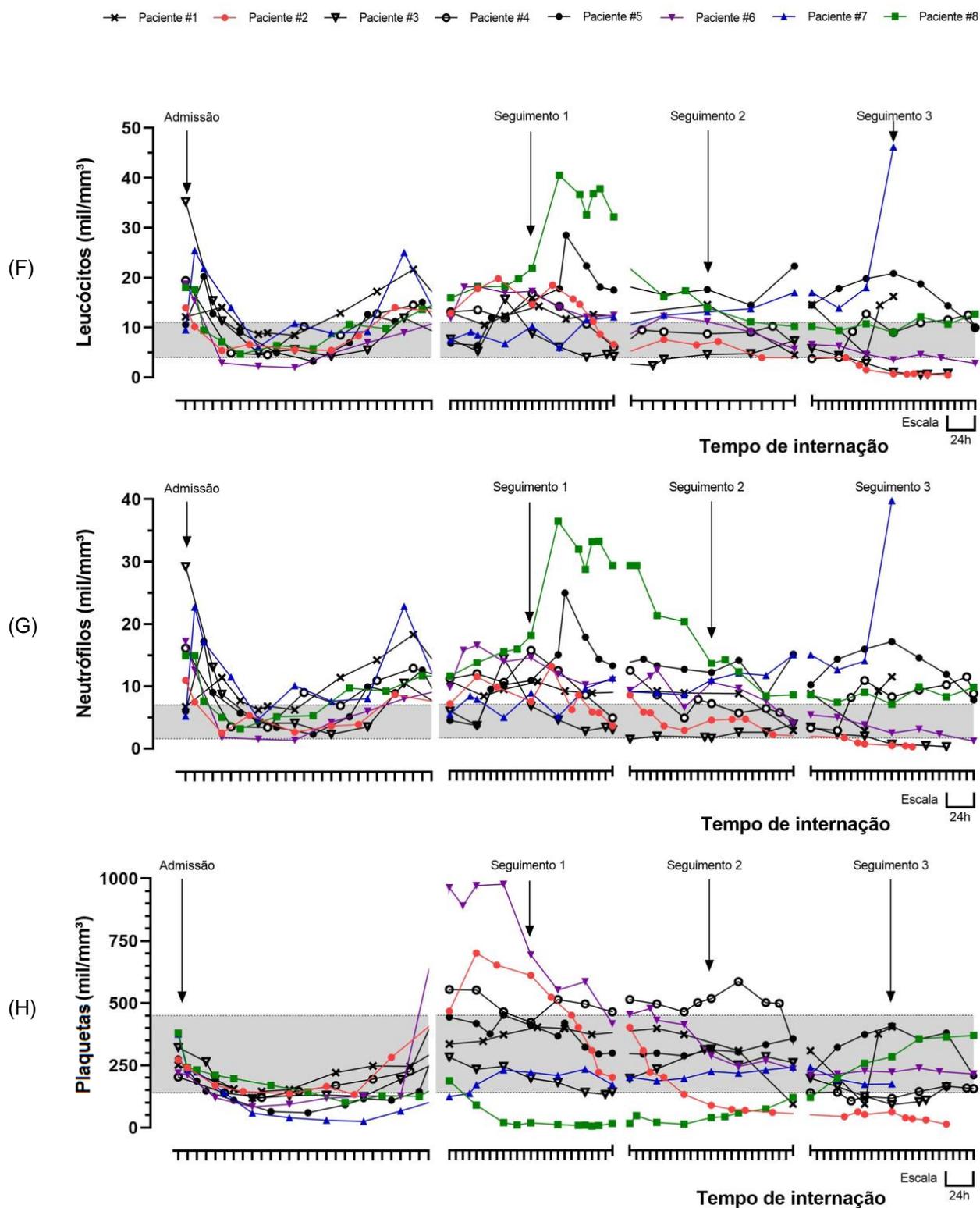
Período 2: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 1.

Período 3: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 2.

Período 4: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 3.

Para melhor avaliação longitudinal do perfil laboratorial individual dos pacientes, estão dispostos nas figuras 5A, 5B e 5C as curvas de cada exame. Nota-se que a escala de tempo não é contínua e está dividida em quatro segmentos. O primeiro período é referente à admissão até 7 dias de internação. O segundo, terceiro e quarto período correspondendo a 72h antes até 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol nos seguimentos 1, 2 e 3 (sinalizados pelas setas nos gráficos), respectivamente.

Figura 5C – Evolução do perfil laboratorial dos pacientes queimados na admissão em UTI e nos seguimentos 1, 2 e 3
(F) Leucócitos (G) Neutrófilos (H) Plaquetas



Nota: A linha do tempo não é contínua e está dividida em quatro segmentos.
 Período 1: admissão até 7 dias de internação.
 Período 2: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 1.
 Período 3: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 2.
 Período 4: 72h antes a 72h após a coleta dos níveis séricos de fluconazol no seguimento 3.

Quando avaliados individualmente, observa-se que, apesar de não haver diferença estatística no ClCr para o grupo, os pacientes #2, #7 e #8 apresentaram oscilação da função renal, com períodos com ClCr <50ml/min nos dias anteriores ou posteriores à coleta dos níveis séricos de fluconazol nos três seguimentos. Chama a atenção o fato de dois dos quatro pacientes que evoluíram a óbitos terem desenvolvido leucopenia, neutropenia e plaquetopenia importante, com aumento rápido do PCR, no seguimento 3. Ademais, de modo geral, não houve outras grandes associações entre os exames laboratoriais.

Todos os pacientes receberam as mesmas doses de fluconazol, iniciando na posologia de 200mg EV a cada 12h (seguimento 1), seguindo o protocolo de prescrição e recomendações institucionais. Após o primeiro seguimento, as doses foram ajustadas para 400mg EV a cada 24h (seguimento 2), mantendo a dose total diária. E aumentadas para 400mg EV a cada 12h no seguimento 3. As doses normalizadas pelo peso ideal do paciente aumentaram de uma mediana de 2,86 mg/kg/dose para 5,71 mg/kg/dose, e de 5,71 mg/kg/dia para 11,43 mg/kg/dia, levando a um aumento das concentrações séricas e, conseqüentemente, da área sob a curva (ASC) do fluconazol, como é possível observar na tabela 6 e figura 6. A correlação entre ASC e dose normalizada, tanto para a ASC de uma dose quanto para a ASC de 24h, apresentou linearidade significativa conforme o aumento da dose, representados na figura 6.

Tabela 6 – Dose e biodisponibilidade do fluconazol nos pacientes queimados

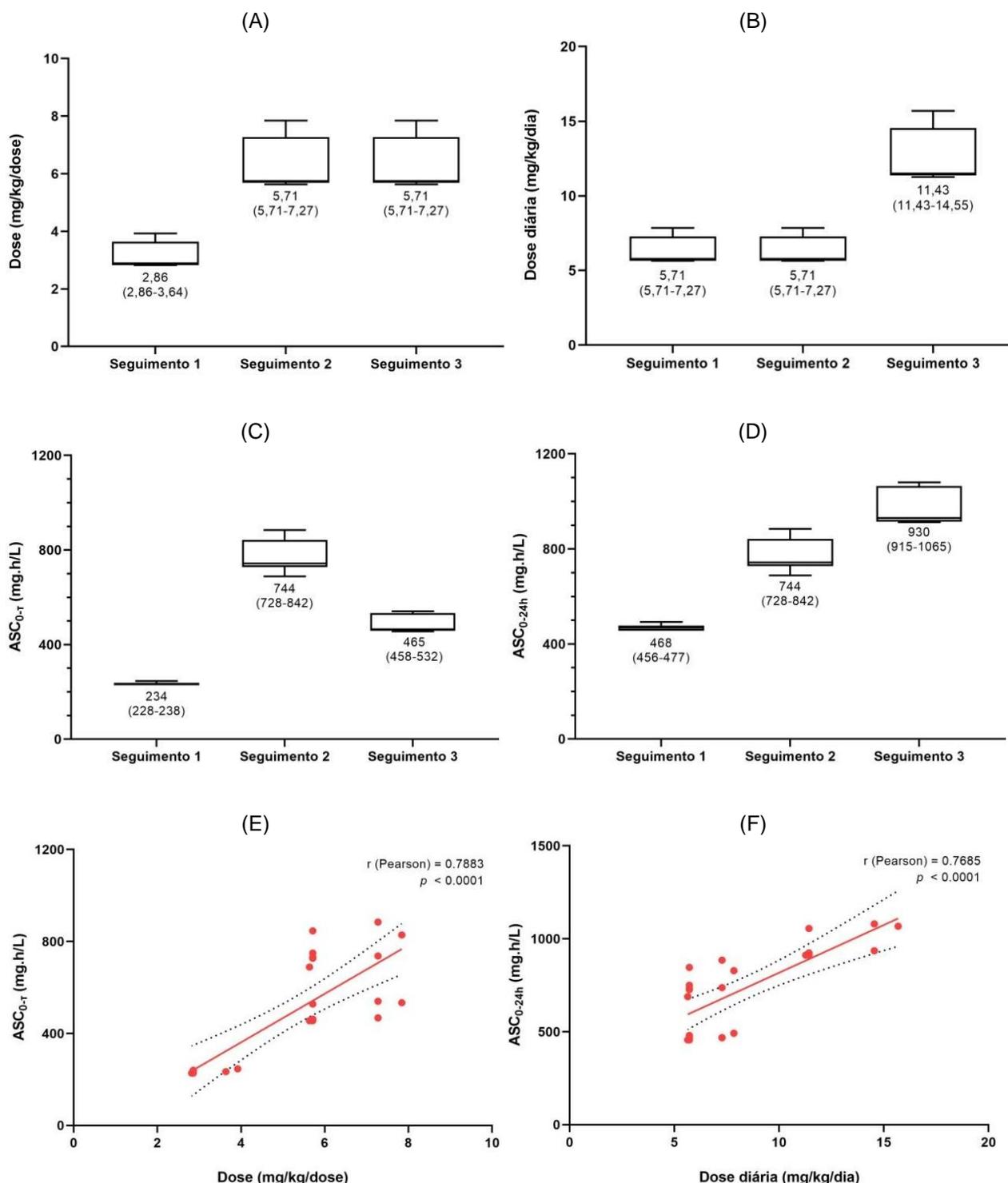
		Seguimento 1 (200mg q12h)	Seguimento 2 (400mg q24h)	Seguimento 3 (400mg q12h)
^a Dose τ	(mg/kg/dose)	2,86 (2,86-3,64)	5,71 (5,71-7,27)	5,71 (5,71-7,27)
^a Dose diária	(mg/kg/dia)	5,71 (5,71-7,27)	5,71 (5,71-7,27)	11,43 (11,43-14,55)
Pico	(mg/L)	24,5 (24,0-26,5)	53,5 (51,2-63,5)	53,5 (51,3-63,5)
Vale	(mg/L)	14,0 (13,0-15,0)	22,5 (19,8-24,8)	25,5 (25,0-26,0)
ASC ^{SS} _{0-τ}	(mg*h/L)	234 (228-238)	744 (728-842)	465 (458-532)
ASC ^{SS} _{0-24h}	(mg*h/L)	468 (456-477)	744 (728-842)	930 (915-1065)

Abreviaturas: τ ("tau") – intervalo entre doses; ASC^{SS}_{0- τ} – área sob a curva de 0- τ ; ASC^{SS}_{0-24h} – área sob a curva de 0-24h.

Nota: ^aDose normalizada com base no peso ideal do paciente.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Figura 6 – Doses e biodisponibilidade do fluconazol nos pacientes queimados. (A) Dose τ (“tau”) – intervalo entre doses (B) Dose diária (C) $ASC_{0-\tau}^{SS}$ (D) ASC_{0-24h}^{SS} (E) Correlação linear entre $ASC_{0-\tau}^{SS}$ e dose τ (F) Correlação linear entre ASC_{0-24h}^{SS} e dose diária



Abreviaturas: τ (“tau”) – intervalo entre doses; $ASC_{0-\tau}^{SS}$: área sob a curva de 0- τ ; ASC_{0-24h}^{SS} : área sob a curva de 0-24h.

Nota: ^aDose normalizada com base no peso ideal do paciente.

Estatística: GraphPad Prism 9; medianas (intervalo interquartil 25-75%); Teste de correlação linear de Pearson, r – coeficiente de correlação de Pearson, intervalo de confiança 95% (IC95) – linha tracejada, nível de significância $p < 0,05$.

A partir da ASC integrada de 24h, foi então calculada a razão ASC^{SS}_{0-24h}/CIM , e comparado com o índice de predição de efetividade recomendado para o fluconazol de $ASC^{SS}_{0-24h}/CIM > 25-50$. Observa-se que todos os pacientes estavam cobertos para *Candida spp.* com CIM até 16 mg/L nos três seguimentos. Porém, quando considerado uma CIM de 32 mg/L, apenas três pacientes (37,5%) do seguimento 2 e os pacientes do seguimento 3 atingiram o índice, como mostra a figura 7 e tabela 7.

Tabela 7 – Índice de predição de efetividade (ASC^{SS}_{0-24h}/CIM) do Fluconazol contra *Candida glabrata* (CIM até 32 mg/L) dos pacientes queimados

CIM (mg/L)	ASC^{SS}_{0-24h}/CIM		
	Seguimento 1 (200mg q12h)	Seguimento 2 (400mg q24h)	Seguimento 3 (400mg q12h)
1	468,0 (456,0- 477,0)	743,6 (728,3-841,9)	930,0 (915,0-1065,0)
2	234,0 (228,0-238,5)	371,8 (364,2-420,9)	465,0 (457,5-532,5)
4	117,0 (114,0-119,3)	185,9 (182,1-210,5)	232,5 (228,8-266,3)
8	58,5 (57,0-59,6)	93,0 (91,0-105,2)	116,3 (114,4-133,1)
16	29,2 (28,5-29,8)	46,5 (45,5-52,6)	58,1 (57,2-66,6)
32	14,6 (14,2-14,9)	23,2 (22,8-26,3)	29,1 (28,6-33,3)

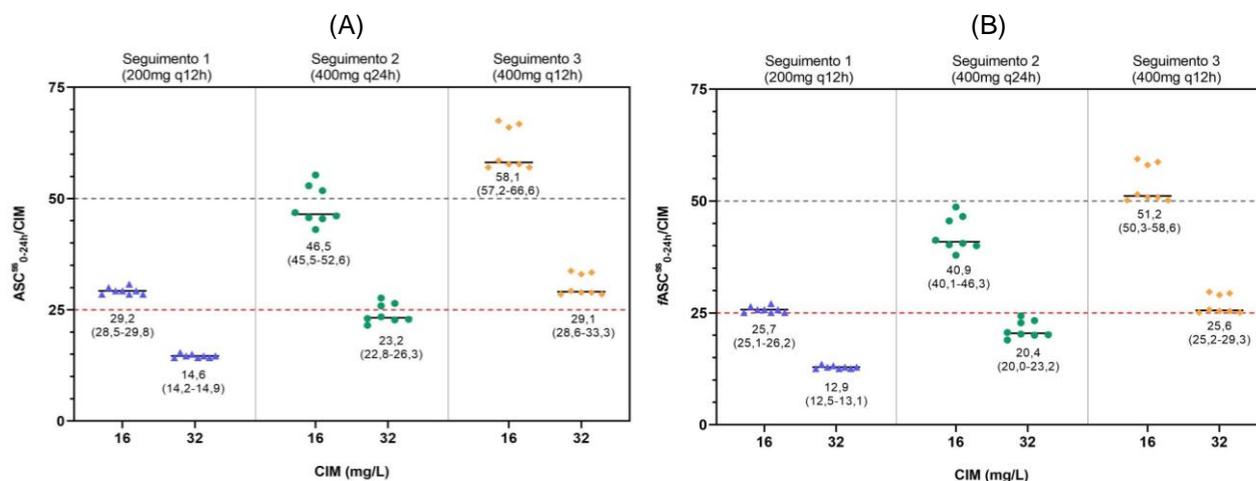
Abreviaturas: ASC^{SS}_{0-24h} : área sob a curva de 0-24h; CIM – concentração inibitória mínima.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Também foi analisada a razão $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM$, considerando a fração livre de fluconazol na corrente sanguínea, calculada a partir de uma ligação plasmática média de 12%. A cobertura para *Candida spp.* com CIM até 16 mg/L foi basicamente mantida, mas reduzida para CIM até 32 mg/L, sendo observado níveis terapêuticos adequados apenas no seguimento 3, como mostra a figura 6 e tabela 8.

Avaliando a farmacocinética do fluconazol nos pacientes queimados, observa-se que o volume de distribuição, a meia-vida e o *clearance* corporal total estão reduzidos em relação ao valor de referência, como mostra a figura 8. Os valores dos parâmetros farmacocinéticos em cada seguimento estão dispostos na tabela 9.

Figura 7 – Índice de predição de efetividade e cobertura empírica do fluconazol contra *Candida glabrata* (CIM até 32 mg/L) nos pacientes queimados. (A) ASC^{SS}_{0-24h}/CIM e (B) $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM$



Abreviaturas: ASC^{SS}_{0-24h} : área sob a curva de 0-24h; $fASC^{SS}_{0-24h}$: área sob a curva de 0-24h (fração livre); CIM – concentração inibitória mínima.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Tabela 8 – Índice de predição de efetividade ($fASC^{SS}_{0-24h}/CIM$) do Fluconazol contra *Candida glabrata* (CIM até 32 mg/L) dos pacientes queimados

CIM (mg/L)	$fASC^{SS}_{0-24h}/CIM$		
	Seguimento 1 (200mg q12h)	Seguimento 2 (400mg q24h)	Seguimento 3 (400mg q12h)
1	411,8 (401,3-4198)	654,4 (640,9-740,8)	818,4 (805,2-937,2)
2	205,9 (200,6-209,9)	327,2 (320,5-370,4)	409,2 (402,6-468,6)
4	103,0 (100,3-104,9)	163,6 (160,2-185,2)	204,6 (201,3-234,3)
8	51,5 (50,2-52,5)	81,8 (80,1-92,6)	102,3 (100,7-117,2)
16	25,7 (25,1-26,2)	40,9 (40,1-46,3)	51,2 (50,3-58,6)
32	12,9 (12,5-13,1)	20,4 (20,0-23,2)	25,6 (25,2-29,3)

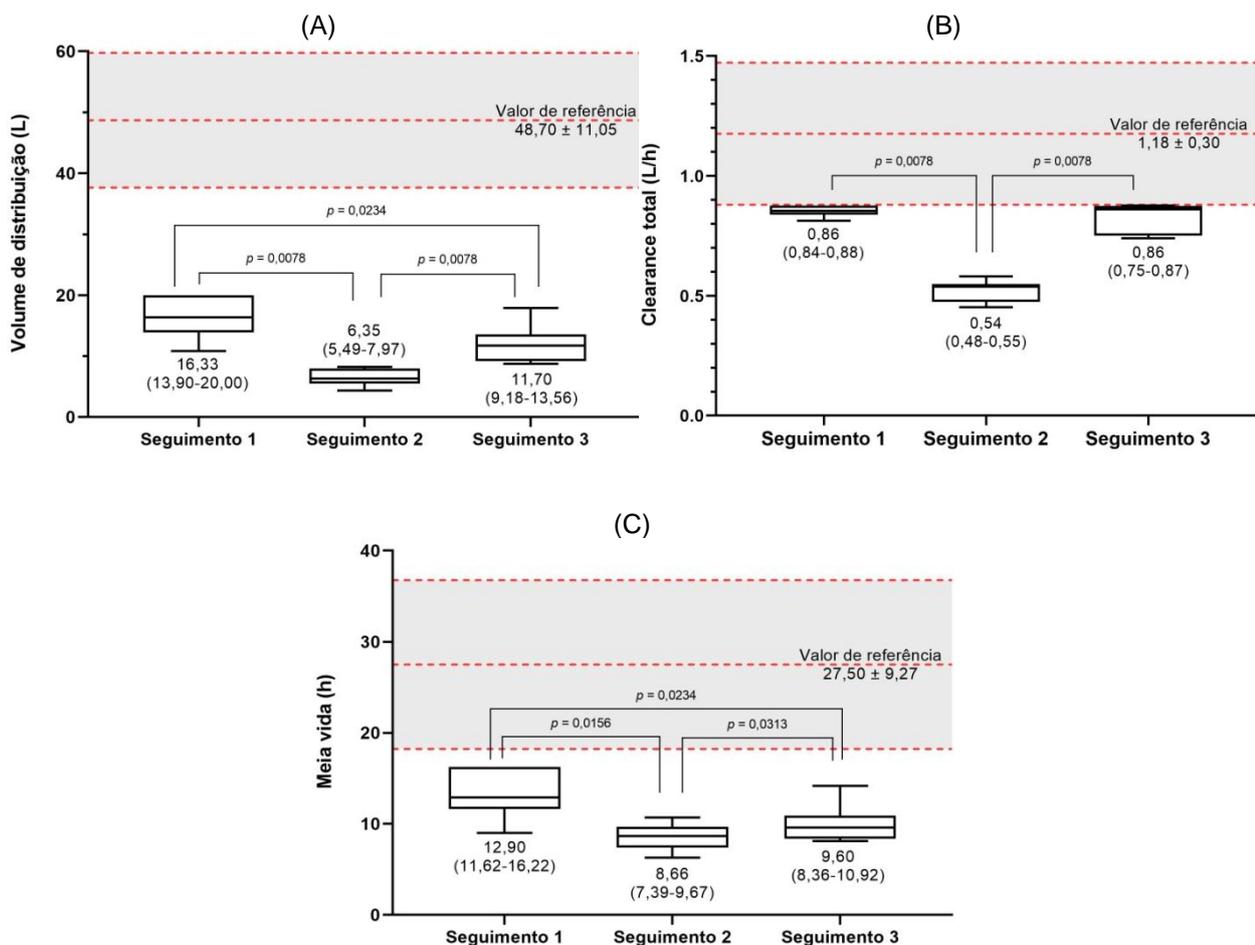
Abreviaturas: $fASC^{SS}_{0-24h}$ - área sob a curva de 0-24h (fração livre); CIM - concentração inibitória mínima.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

O volume de distribuição foi o parâmetro com maior alteração e a meia-vida parece acompanhar a redução de forma proporcional nos três seguimentos. Essa relação proporcional foi confirmada pelo teste de correlação linear, que apresentou significância estatística (r Pearson 0,9434, $p < 0,001$), descrita na figura 9. Enquanto o

clearance corporal total teve uma leve redução, mas estatisticamente significativa, mantendo-se muito próximo do valor de referência nos seguimentos 1 e 3, e seguindo os demais parâmetros com queda mais acentuada no seguimento 2. O volume de distribuição também se correlaciona de forma proporcional com o CL_T como já seria esperado (r Pearson 0,8364, $p < 0,001$), porém em menor magnitude do que a correlação com a meia-vida, como é possível observar pelos coeficientes de correlação de Peason, na figura 9. Ainda foi avaliada a correlação do CL_T com o $CICr$, porém não foi observada correlação linear.

Figura 8 – Parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos paciente queimados (A) Volume de distribuição (B) *Clearance* total (C) Meia-vida.



Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%); teste de Wilcoxon para dados pareados, nível de significância $p < 0,05$.

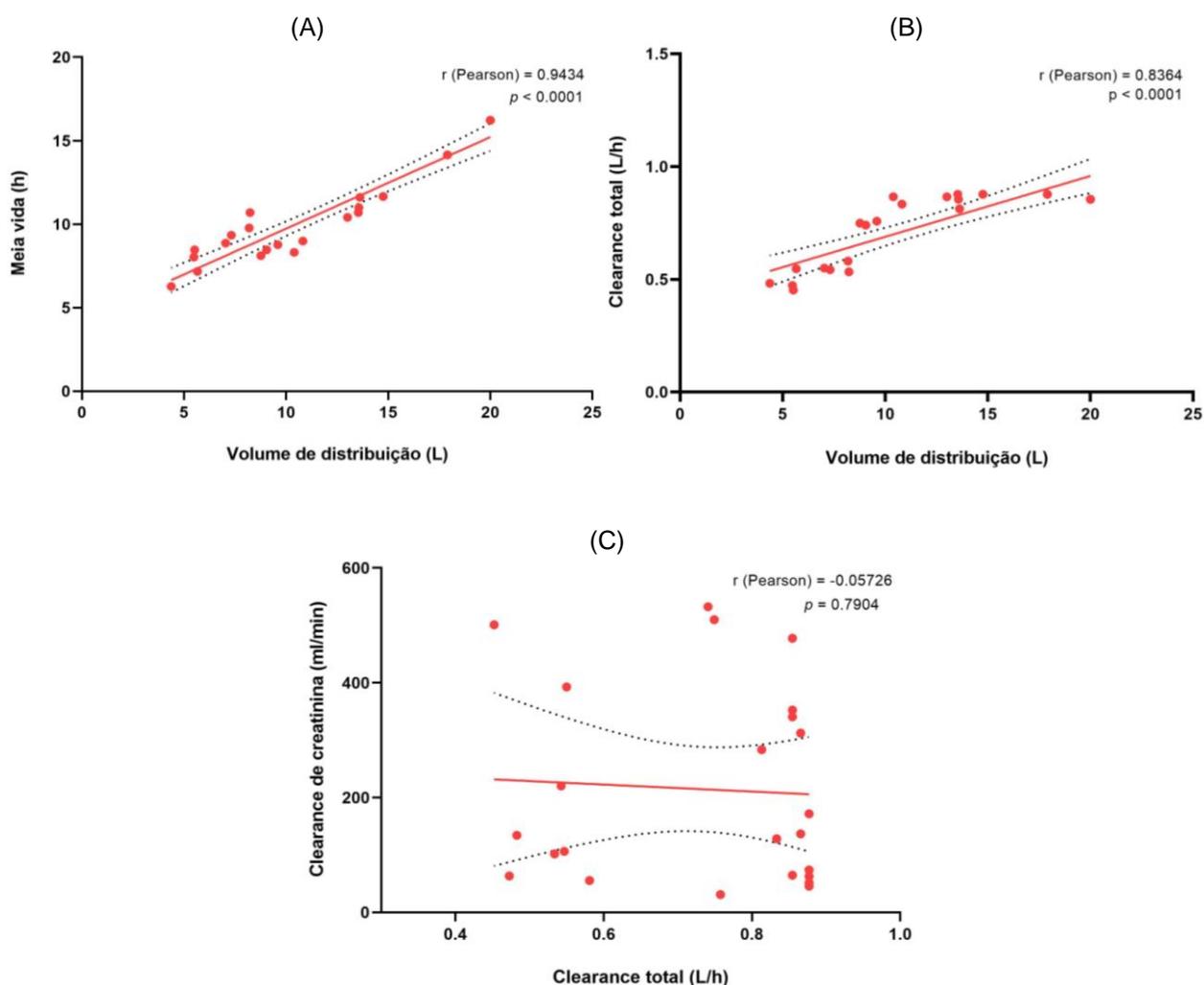
Tabela 9 – Parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos pacientes queimados

	Valor de referência	Seguimento 1	Seguimento 2	Seguimento 3
$t_{(1/2)\beta}$ (h)	27,50 ± 9,27	12,90 (11,62-16,22)	8,66 (7,39-9,67)	9,60 (8,36-10,92)
CL_T (L/h)	1,18 ± 0,30	0,86 (0,84-0,88)	0,54 (0,48-0,55)	0,86 (0,75-0,87)
Vd^{SS} (L)	48,70 ± 11,05	16,33 (13,90-20,00)	6,35 (5,49-7,97)	11,70 (9,18-13,56)

Abreviaturas: $t_{(1/2)\beta}$ - meia vida biológica; CL_T : depuração total corporal; Vd^{SS} : volume de distribuição.

Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%).

Figura 9 – Correlação linear dos parâmetros farmacocinéticos do fluconazol nos pacientes queimados (A) Volume de distribuição e Meia-vida, (B) Volume de distribuição e *Clearance* total e (C) *Clearance* total e *Clearance* de creatinina



Estatística: GraphPad Prism 9.1.1; medianas (intervalo interquartil 25-75%); teste de correlação linear de Pearson, r – coeficiente de correlação de Pearson, intervalo de confiança 95% (IC95) – linha tracejada, nível de significância $p < 0,05$.

5. DISCUSSÃO

Os pacientes críticos grandes queimados apresentam um risco aumentado de desenvolverem infecções fúngicas invasivas e podem apresentar alterações farmacocinéticas importantes, tanto pelo processo inflamatório associado à queimadura quanto pelo quadro séptico, o que pode impactar de forma significativa na cobertura antifúngica e nos desfechos clínico-microbiológicos. (NORBURY et al., 2016; WALRAVEN et al., 2011)

A farmacocinética do fluconazol foi avaliada em diversos estudos publicados desde o seu lançamento, porém há escassez de dados sobre pacientes queimados.

Com base nos estudos com indivíduos saudáveis é possível estabelecer um valor de referência para os parâmetros farmacocinéticos e assim avaliar as alterações em diferentes situações. Ao contrário das revisões, que muitas vezes trazem valores médios simples, foi utilizado aqui um valor de referência calculado com base nos dados individuais disponíveis em literatura, considerando inclusive suas variâncias e número amostral, semelhante ao cálculo realizado em meta-análises. Dessa forma obteve-se uma meia-vida de $27,5 \pm 9,3$ h, um volume aparente de distribuição (V_d) de $48,70 \pm 11,05$ L e um *clearance* corporal total (CLT) de $1,18 \pm 0,30$ L/h, conforme quadro 3.

Após busca de literatura, foram localizados apenas dois estudos sobre a utilização do fluconazol voltados para a população de grandes queimados (BOUCHER et al., 1998; HAN et al., 2013).

No primeiro, Boucher e colegas (1998), estudaram dez pacientes (7M/3F) com queimadura de 2º e 3º grau com uma SCTQ média de $50 \pm 24\%$ e que receberam fluconazol em até dois dias de internação hospitalar, ou seja, incluíram apenas pacientes principalmente na fase precoce da queimadura. Além disso, não foram incluídos dados de pacientes com instabilidade hemodinâmica ou em uso de drogas vasoativas, sendo um paciente excluído logo no início do estudo e outro omitido na análise dos dados na fase tardia do tratamento. O fluconazol foi prescrito na dose de 400mg EV uma vez ao dia (equivalentes a uma média de dose

normalizada pelo peso real de 5,4 mg/kg), em uma infusão de duas horas, resultando em uma meia-vida biológica média de $25,8 \pm 6,1$ h, um Vd médio de 56 ± 11 L e, um CL_T médio de $1,65 \pm 0,40$ L/h. De uma forma geral observou-se um CL_T e Vd levemente aumentados, com uma meia-vida levemente reduzida, se equiparando aos valores descritos em voluntários sadios.

Quadro 3 – Farmacocinética do fluconazol em indivíduos saudáveis

Referência	População	Posologia	$t_{1/2}$ (h)	CL_T (L/h)	Vd (L)
HUMPHREY et al. (1985)	Homens sadios n=4	Dose única 1mg/kg (63-70mg) VO	$22 \pm 3,5$	$1,68 \pm 0,17^a$	$49,0 \pm 4,2^a$
FOULDS et al. (1988)	Homens sadios n=10	50-100mg IV Tinf 30min	$29,63 \pm 2,18$	$1,34 \pm 0,052$	$47,3 \pm 6,6$
SHIBA et al. (1990)	Voluntários sadios n=8	25-50mg IV Tinf ND	$33,3 \pm 2,7^b$	ND	$51,68 \pm 7,73^b$
TOON et al. (1990)	Voluntários sadios n=5	Dose única 50mg VO	$31,2 \pm 4,59$	$1,43 \pm 0,46$	$63,7 \pm 16,1^c$
RIPA et al. (1993)	Voluntários sadios n=6	Dose única 100mg IV Tinf. 30min	$29,73 \pm 8,05$	$1,26 \pm 0,30$	$52,16 \pm 9,83$
YEATS et al. (1994)	Voluntários sadios (n=10)	Dose única 100mg dose Tinf 20min	35 ± 3	$1,38 \pm 0,24$	$64,86 \pm 3,45^d$
GUO et al, (2010)	Voluntários sadios (n=60)	Dose única 200mg VO	$31,10 \pm 5,26^e$	$1,06 \pm 0,26^e$	$47,16 \pm 11,77^e$
Dados combinados	(n=103)	-	$27,50 \pm 9,27$	$1,18 \pm 0,30$	$48,70 \pm 11,05$

Abreviaturas: $t_{1/2}$ – meia-vida; CL_T - clearance corporal total; Vd – volume aparente de distribuição; VO – via oral; IV – intravenoso; Tinf – tempo de infusão ND – não descrito.

Notas:

^aEstimado com base em um paciente de 70kg (descrito variação do peso dos paciente de 63-70kg)

^bEstimado com base em dados parciais obtidos em literatura

^cEstimado com base em um paciente de 70kg

^dEstimado com base no peso médio de 69kg, descrito pelo autor

^eEstimado a partir das 5 subpopulações do estudo.

Estatística: RevMan calculator (Cochrane Training).

E Han e colegas (2013) realizaram uma análise de farmacocinética em 60 pacientes, que receberam doses de 100-400mg/dia em infusões de 10-40 minutos, para desenvolver um modelo matemático para prever a dose de fluconazol necessária para o sucesso terapêutico. No entanto, não descrevem todos os parâmetros farmacocinéticos. Pelos dados apresentados é possível concluir que, assim como no trabalho de Boucher e colegas (1998), os parâmetros farmacocinéticos estão muito próximos do valor de referência em indivíduos saudáveis. Porém há de se destacar que a amostra apresentou um APACHE II médio de 7,6, que, apesar de não poder ser diretamente comparado com o SAPS 3, está associado com uma baixa gravidade e baixo risco de mortalidade. Além disso, foram incluídos muito mais homens do que mulheres (50M/10F), o que pode impactar no perfil farmacocinético populacional, uma vez que mulheres apresentam Vd e meia-vida menores quando comparado com os homens, como descrito por Carrasco-Portugal e colegas (2007).

Esses resultados diferem grandemente dos dados obtidos no presente estudo e causa certa estranheza frente ao estado dinâmico, complexo e grave associado à queimaduras de grande extensão. Tais discrepâncias podem ser explicadas por diversos fatores, como a fase da queimadura, a gravidade, procedimentos cirúrgicos ou o uso de soroterapia e DVA, que ficam evidentes neste estudo. Também é de se destacar a diferença no tempo de infusão, uma vez que o tempo de meia-vida pode ser prolongado por uma infusão mais prolongada.

Independentemente do motivo das alterações farmacocinéticas, é indiscutível que os pacientes críticos grandes queimados apresentam características únicas e que se beneficiam da abordagem PK/PD individualizada, como foi realizada neste presente estudo.

O protocolo de estudo permitiu ainda uma análise longitudinal, desde a admissão, com três seguimentos de coleta de níveis séricos e abordagem PK/PD, até a alta ou óbito do paciente. Apesar de não se observar correlação significativa entre os desfechos clínico-microbiológicos e os parâmetros PK/PD avaliados, foi possível identificar alterações profundas na farmacocinética do fluconazol. O principal parâmetro que chama a atenção é o Vd, que se apresenta extremamente reduzido (aproximadamente 3-7 vezes) durante o curso clínico da terapia antifúngica.

A meia-vida também apresenta redução importante (cerca de 2-3 vezes), e apresenta correlação linear significativa com o Vd. Enquanto o CL_T , apesar de reduzido, ficou muito próximo do limite inferior do valor de referência em voluntários saudáveis, apresentando redução importante apenas no seguimento 2, mas seguindo o comportamento dos demais parâmetros farmacocinéticos. Assim como a meia-vida, o CL_T também apresentou correlação linear significativa, mas em menor grau, o que sugere mais de uma alteração farmacocinética ocorrendo ao mesmo tempo.

O Vd reduzido pode ser explicado pela própria lesão do tecido epitelial decorrente da queimadura, uma vez que o Vd elevado e a meia-vida longa nos indivíduos saudáveis é atribuída ao acúmulo no tecido epitelial (DEBRUILLE et al., 1997).

Estudos que avaliaram as concentrações em diversos tecidos evidenciam um fator de acúmulo em fluido de bolhas, raspado de pele, glândula sudorípara écrina e amostras teciduais de derme, epiderme e estrato córneo, e que aumentam conforme o tempo de tratamento. No início do tratamento atingem concentrações duas vezes acima da concentração sérica, podendo chegar a mais de 90 vezes maior em tratamentos prolongados. Inclusive em tratamentos com doses semanais são observadas concentrações elevadas no estrato córneo (BRAMMER et al., 1990; FAERGEMANN et al., 1993; FAERGEMANN et al., 1995).

A concentração no estrato córneo começa a cair com a descontinuação do fluconazol, porém as concentrações na derme/epiderme se mantém estáveis por 4-5 dias após o término do tratamento e ainda é possível detectar níveis consideráveis após 10 dias do término do tratamento. Estima-se que a eliminação do fluconazol do estrato córneo se dá em uma velocidade 2 a 3 vezes mais lenta que a eliminação plasmática (DEBRUILLE et al., 1997; FAERGEMANN et al., 1999; HANEKE, 1990).

Tal comportamento explica a correlação entre o Vd e a meia-vida, porém não justifica o efeito do Vd sobre o CL_T . Considerando o fator de acúmulo do fluconazol, seria esperado que com a redução do acúmulo e, conseqüentemente do Vd, o CL_T estivesse normal ou aumentado, uma vez que o fluconazol poderia se concentrar mais na corrente sanguínea, podendo ser eliminado do organismo de forma mais eficiente devido à eliminação por via predominantemente renal. Além de não haver queda proporcional de Vd e CL_T .

Outro fator a ser considerado é a ligação a proteínas plasmáticas, que influencia diretamente ambos os parâmetros. Em voluntários sadios é observada uma taxa de ligação do fluconazol a proteínas plasmáticas em torno de 11-12%. No entanto, em diversas situações clínicas, como sepse, câncer, doença renal crônica e processos inflamatórios e de lesão tecidual, a produção das proteínas plasmáticas é alterada de forma a reduzir a expressão de proteínas constitutivas e aumentar a produção de proteínas de fase aguda, como a α_1 -glicoproteína ácida (ARREDONDO et al., 1994; ARREDONDO et al., 1995; DE PAEPE et al., 2002; MOODY et al., 1985; XIAO et al., 2015; ZOKUFA et al., 1989).

A α_1 -glicoproteína ácida apresenta ação imunomoduladora e transporta diversas substâncias durante o processo inflamatório, como citocinas e esteroides, além de carrear substâncias endógenas, metabólitos e fármacos. Seus ligantes são principalmente substâncias de caráter básico, mas também podem se ligar a substâncias neutras e de caráter ácido (CECILIANI et al, 2019; FOURNIER et al, 2000; SMITH et al., 2019; SVENSSON et al., 1986).

No contexto das queimaduras e lesões de pele associadas, a α_1 -glicoproteína ácida parece estar relacionada ainda à citoproteção de fibroblastos, podendo apresentar correlação com a extensão da queimadura e ao tempo de recuperação tecidual (XIA et al., 1992; XIA et al., 2001).

A produção de α_1 -glicoproteína ácida ocorre de forma rápida e acentuada nas primeiras 12-24h após a queimadura, se mantendo até quatro vezes elevada durante as duas primeiras semanas e podendo se manter por cerca de 20 dias a seis semanas, e com redução gradual após recuperação tecidual devido sua meia-vida de cerca de 2-5 dias (BONATE, 1990; SVENSSON et al., 1986; SMITH et al., 2019; XIA et al., 1992; ZEINEH et al., 1970).

Portanto, a mudança no padrão de expressão de proteínas plasmáticas pode influenciar na fração livre de fluconazol circulante e, conseqüentemente, na capacidade de eliminação do organismo, expressa pelo CL_T .

Dois estudos avaliaram a relação entre a concentração sérica de α_1 -glicoproteína ácida e a taxa de ligação do fluconazol a proteínas plasmáticas em pacientes com doença renal crônica e câncer, demonstrando um aumento

significativo em quase duas vezes na taxa de ligação a proteínas plasmáticas ($22,91 \pm 6,15\%$ e $22,96 \pm 3,6\%$, respectivamente) (ARREDONDO et al., 1994; ARREDONDO et al., 1995).

Essas condições clínicas estão principalmente associadas à inflamação crônica. Dessa forma, apesar de não haver estudos em pacientes queimados nem estudos que correlacionam diretamente a taxa de ligação a proteínas plasmáticas aos parâmetros PK/PD do fluconazol em pacientes queimados, pode se esperar um aumento ainda maior, uma vez que já é descrito em literatura científica aumentos de 2-6 vezes nos níveis de α_1 -glicoproteína ácida em outros processos inflamatórios agudos (SMITH et al., 2019).

Diante desses achados, para testar a hipótese do impacto da alteração do perfil de ligação do fluconazol a proteínas plasmáticas e devido à não realização de coleta rotineira da α_1 -glicoproteína ácida, foram realizadas algumas análises exploratórias. Foi testada a correlação linear entre os parâmetros farmacocinéticos e a SCTQ e aos níveis de PCR, frente à hipótese de maior produção de α_1 -glicoproteína ácida quanto maior a área queimada ou inflamação. A correlação entre os parâmetros farmacocinéticos e os níveis de lactato e o pH arterial, frente à hipótese da alteração do grau de ionização prejudicar ou favorecer a ligação à α_1 -glicoproteína ácida. E a correlação entre os parâmetros farmacocinéticos e o nível sérico de albumina, para testar a hipótese de aumento de produção de α_1 -glicoproteína ácida proporcional à queda de albumina. No entanto, em nenhuma das análises foi observada correlação significativa.

Porém, observa-se como dado exploratório que todos os pacientes apresentaram hipoalbuminemia considerável durante os três seguimentos, com uma albumina sérica mensurada em 114 oportunidades, com uma média de $1,7 \pm 0,6$. E, inclusive, com uma redução significativa em relação à admissão/alta ($2,8 \pm 0,5$ vs. $1,5 \pm 0,4$, $p < 0,0001$), o que se mostra compatível com o perfil esperado de alteração de produção de proteínas.

Além disso, o CL_T pode estar reduzido devido à redução da função renal associada à instabilidade hemodinâmica ou lesão renal propriamente dita, que foi observada em algum grau em metade dos pacientes.

Quando considerada a cobertura empírica para as espécies de *Candida spp.* dose-dependente com CIM 32 mg/L, os resultados obtidos demonstram que a cobertura não é atingida com as doses habituais. E aplicando essa alteração na taxa de ligação a proteínas plasmáticas, obteríamos uma redução da fração livre de fluconazol potencialmente considerável. Ajustando os resultados para uma taxa de ligação a proteínas plasmáticas de 22%, o índice $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM > 25$ não seria atingido em nenhum paciente durante os seguimentos 1 e 2, e em apenas três pacientes do seguimento 3, quando considerado um CIM de 32mg/L.

Em relação ao PK/PD de antimicrobianos, muitos estudos foram realizados e demonstram a importância da otimização da terapia no contexto das alterações farmacocinéticas (CAIN et al., 2014; GOMEZ et al., 2013; GOMEZ et al., 2015; GONÇALVES-PEREIRA et al., 2011; GONÇALVES-PEREIRA et al., 2014; RIZK et al., 2017; ROBERTS et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SILVA JR et al., 2017a; SILVA JR et al., 2017b). Comparativamente, há poucos estudos publicados e disponíveis sobre a relação PK/PD de antifúngicos, e ainda menos envolvendo a população de grandes queimados.

Os primeiros estudos que definiram a relação PK/PD do fluconazol foram realizados em modelos animais e concluíram que sua ação é fungicida dose-dependente, com a relação ASC/CIM como melhor índice de predição de efetividade. Os resultados demonstraram que 50% do efeito máximo é atingido quando a razão ASC/CIM está entre 12 e 24 mg*h/L. E que extrapolando o resultado para humanos, uma dose diária de 200mg atingiria cobertura para *Candida spp.* com CIM até 8mg/L, necessitando de dose de 400 a 800mg/dia para a cobertura de agente com CIM de 16 a 32 mg/L (ANDES et al., 1999; LOUIE et al., 1998). Os resultados deste trabalho foram, então, concordantes com os estudos preliminares.

No entanto, o *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) sinaliza para as diferentes respostas em modelos *in vitro* e *in vivo*, recomendando um índice de $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM > 100$, que é muito maior do que o inicialmente proposto. Neste contexto, também há de se ressaltar que a recomendação do EUCAST se baseia em parte em estudos farmacocinéticos populacionais com simulação de Monte Carlo, que dependem de uma metodologia bastante robusta e uma amostra representativa da população para uma conclusão

bem fundamentada. Portanto, considerando a alta variabilidade inter e intraindividual dos pacientes e suas condições clínicas associadas, é possível que haja vieses de seleção importantes. (EUCAST, 2020; RODRÍGUEZ-TUDELA et al., 2007)

De fato, nos estudos encontrados que avaliam desfechos, houve grande variabilidade populacional e não há padronização nos protocolos de estudos referentes às doses utilizadas, tempo de infusão e metodologia de avaliação da farmacocinética do fluconazol (BADDLEY et al., 2008; CLANCY et al., 2005; GHANEM-ZOUBI et al., 2019; PAI et. al, 2007; RODRÍGUES-TUDELA et al., 2007).

No principal estudo citado pelo EUCAST, incluiu-se apenas pacientes imunodeprimidos com câncer, HIV e transplantados. Neste estudo não é citada a criticidade dos pacientes e não são incluídos pacientes cirúrgicos, o que impossibilita uma comparação direta com a população de grandes queimados. Também é importante levar em conta que a seleção de pacientes com sistema imune prejudicado pode ter influenciado diretamente no resultado do estudo. Além disso, a $fASC^{SS}_{0-24h}$ é calculada com base em dados obtidos de outros estudos e é simplificada para o índice dose/CIM assumindo uma correlação de mais de 99% entre a dose diária e a $fASC^{SS}_{0-24h}$. A sobrevida dos pacientes que atingiram uma dose/CIM \geq 100 foi de 93,9% comparados a 13,3% quando menor que 100. Apesar dessa diferença marcante, a amostra consiste em sua maioria de pacientes com candidíase orofaríngea. Quando consideradas apenas as candidemias, a taxa de sobrevida no grupo com dose/CIM $<$ 100 aumenta para 50%, mas não é demonstrado teste estatístico. O estudo ainda faz uma análise de CART (*Classification and Regression Tree*) que sugere um índice de predição de efetividade de dose/CIM=35,5 e realiza a simulação de Monte Carlo que traz um resultado no mínimo curioso, no qual para garantir a cobertura para uma CIM de 2mg/L é necessário uma dose/CIM=100 (equivalente a uma $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM=79$), enquanto que para uma CIM de 4mg/L, uma dose/CIM=50 (equivalentes a uma $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM=40$), isto é, seria necessário uma dose menor para a cobertura de um fungo mais resistente (RODRÍGUEZ-TUDELA et al., 2007).

Outros estudos também utilizaram o índice simplificado de dose/CIM para avaliar a efetividade do tratamento com fluconazol (BADDLEY et al., 2008; CLANCY et al., 2005; PAI et. al, 2007).

Clancy e colegas (2005) avaliaram 32 pacientes imunossuprimidos (câncer e transplante), porém desta vez incluindo paciente críticos, e observaram menor falha terapêutica nos pacientes que atingiram uma dose/CIM>50 (67% vs. 9%, $p=0,003$). Entretanto, houve uma associação significativa da falha terapêutica com a presença de neutropenia moderada/grave e transplantes.

Baddley e colegas (2008) reportaram em uma coorte prospectiva conduzida em 96 pacientes críticos e não-crítico uma menor mortalidade quando $fASC^{SS}_{0-24h}/CIM \geq 11,5$, equivalentes a uma dose/CIM $\geq 12,5$ (42,9% vs. 74%, análise de CART). Apesar de incluir os dados microbiológicos completos de quase todos os pacientes, a $fASC^{SS}_{0-24h}$ foi estimada a partir da dose recebida e dados farmacocinéticos populacionais fixos.

Já no estudo retrospectivo observacional realizado por Pai e colegas (2007), observou-se uma ASC^{SS}_{0-24h}/CIM maior nos pacientes que sobreviveram, porém sem significância estatística (775 ± 739 vs. 589 ± 715), e na análise de CART foi estabelecido o valor de corte de $ASC^{SS}_{0-24h}/CIM=55,2$. Em contrapartida, houve diferença estatisticamente significativa quando considerado o índice dose/kg/dia/CIM ($13,3 \pm 10,5$ vs. $7,0 \pm 8,0$, $p=0,0345$), sendo descrita uma queda importante na mortalidade quanto maior o valor, chegando a cerca de 5% quando dose/kg/dia/CIM > 20 ($p=0,0272$). Com a análise CART foi estabelecido então o ponto de corte de dose/kg/dia/CIM de 12. No entanto, a ASC foi estimada com base em dados populacionais individualizados com base em uma equação de CL_T estimado.

Apesar da praticidade da razão dose/CIM, que não necessita de monitoramento sérico do fluconazol, possibilitando uma abordagem PK/PD mais rápida e aplicável em qualquer cenário clínico, é importante destacar que tal simplificação, assim como as metodologias bayesianas e de simulação de Monte Carlo, se ampara em dados populacionais e pode ignorar alterações farmacocinéticas individuais importantes, como observado na população de grandes queimados aqui apresentada. Embora Pai e colegas (2007) tenham utilizado uma metodologia mais robusta, considerando um paciente adulto de 70kg, seria necessária uma dose de fluconazol de mais de 1600mg/dia para atingir cobertura para uma *Candida spp.* com CIM de 2mg/L, e considerando a faixa de CIM de 8 a

32 mg/L, seriam necessárias doses excepcionalmente altas, o que acarreta em risco aumentado de toxicidade.

O único estudo mais recente, realizado por Ghanem-Zoubi e colegas (2019), descreve uma coorte retrospectiva grande que incluiu 153 pacientes críticos e não-críticos com candidemia. Nesse estudo foi utilizada metodologia semelhante à de Pai e colegas (2007), mas avaliaram diversos índices na tentativa de identificar uma relação com a mortalidade por todas as causas em até 30 dias e a falha terapêutica em 14 dias. Apesar de uma ASC^{SS}_{0-24h}/CIM menor nos pacientes que evoluíram a óbito, não houve significância estatística (1764 [238-6714] vs. 2279 [398-5989], $p=0,75$). Também não foi identificada diferença quando avaliado os índices dose/CIM e $ASC^{SS}_{0-24h}/CIM \geq 400$. No entanto, este estudo traz uma estratificação de 32 pacientes com candidemia por *Candida glabrata*, em que foi detectada diferença significativa na ASC^{SS}_{0-24h}/CIM entre os sobreviventes e não-sobreviventes (230 [77-539] vs. 96 [75-164], $p=0,008$) e uma tendência a uma CIM menor (7 [7-14] vs. 16 [8-24], $p=0,06$) (GHANEM-ZOUBI et al., 2019).

Frente à literatura encontrada é difícil estabelecer o índice de predição de efetividade ideal, mas o índice inicial de $ASC^{SS}_{0-24h}/CIM > 25$, mesmo com as limitações de um modelo animal, ainda se mostra robusto. No entanto, os trabalhos realizados com métodos estatísticos populacionais não podem ser desprezados, pois trazem informações importantes, principalmente para pacientes imunossuprimidos, que podem necessitar de doses maiores. Nesse sentido, o EUCAST sugere um índice de predição de efetividade maior como uma ASC^{SS}_{0-24h}/CIM entre 50 e 100 (EUCST, 2020).

Também fica claro que existe uma relação dose-dependente na efetividade do tratamento antifúngico com fluconazol, como é demonstrado para *Candida spp.* com CIM acima de 8mg/L, que em geral está associada com menores taxas de cura clínico-microbiológica e maior mortalidade (GHANEM-ZOUBI et al., 2019; PAI et al., 2007; RODRÍGUEZ-TUDELA et al., 2007).

No entanto, não foi possível estabelecer nenhuma correlação com os desfechos aqui analisados, uma vez que todos os pacientes apresentaram cura microbiológica e, portanto, não é possível atribuir diretamente a mortalidade à infecção fúngica.

É relevante acrescentar ainda que os demais índices de predição de efetividade sugeridos em literatura também foram testados, mas sem sucesso. E que dentre eles o índice dose/kg/dia/CIM foi o que menos se apresentou aplicável, pois seriam necessárias doses 30 a 60 vezes maiores, ou o equivalente a 24.000mg/dia para a cobertura para um CIM de 32 mg/L para os pacientes incluídos no presente estudo.

A principal limitação deste estudo é o tamanho da amostra, que impossibilita análises mais robustas que poderiam avaliar o impacto da cobertura do fluconazol sobre os desfechos clínico-microbiológicos. Também é importante destacar que os pacientes apresentavam gravidade expressiva, como observado pela necessidade de DVA durante os três seguimentos e diversos procedimentos cirúrgicos realizados. Além disso, apresentavam concomitantemente infecções bacterianas relevantes, como infecções de cateter persistente ou por bactérias multirresistentes.

Mesmo assim, a gravidade e complexidade dos pacientes incluídos retratam justamente os diversos pacientes em que são esperadas profundas alterações farmacocinéticas, mas que são mais dificilmente incluídos em estudos clínicos ou que não são considerados quando utilizadas abordagens PK/PD que consideram apenas dados populacionais restritos ou de voluntários saudáveis.

Portanto, o monitoramento sérico individualizado, embora pouco frequente devido à falta de kit comercial para quantificação rotineira nos laboratórios de análises clínicas hospitalares, é de extrema importância para estes pacientes. São necessários mais estudos na área para elucidar de forma definitiva as alterações farmacocinéticas aqui apresentadas, assim como para definir o índice de predição de efetividade alvo nos diversos contextos clínicos.

Vale destacar que como o fluconazol é um antifúngico fungicida dose-dependente e obedece uma cinética linear modelo-independente, foi aqui utilizado o modelo monocompartimental aberto através de uma metodologia simples e robusta, validada previamente, e que requer um número e volume reduzidos de coletas de amostras sanguíneas. Portanto, havendo os equipamentos mínimos para a análise, pode ser utilizado na prática clínica para otimização da terapia antifúngica, guiando a equipe médica em tempo real.

Além disso, as alterações da farmacocinética do fluconazol nos grandes queimados foram, pela primeira vez, obtidas e plenamente justificadas frente àquela reportada anteriormente para pacientes críticos não-queimados e para voluntários sadios.

6. CONCLUSÃO

A farmacocinética do fluconazol está profundamente alterada nos grandes queimados, especialmente em relação ao volume de distribuição. Doses maiores que as usuais são necessárias para garantir a cobertura antifúngica, principalmente para *Candida spp.* com sensibilidade dose-dependente (CIM até 32 mg/L). Portanto, através do monitoramento sérico do fluconazol individual e a abordagem PK/PD é possível realizar a otimização da terapia antifúngica em tempo real.

REFERÊNCIAS

- ANDES D., VAN OGTROP M. Characterization and Quantitation of the Pharmacodynamics of Fluconazole in a Neutropenic Murine Disseminated Candidiasis Infection Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 43(9): 2116–2120.
- ARREDONDO G., MARTINEZ-JORDA R., CALVO R., AGUIRRE C., SUAREZ E. Protein binding of itraconazole and fluconazole in patients with chronic renal failure. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1994;32(7):361-364.
- ARREDONDO G., CALVO R., MARCOS F., MARTÍNEZ-JORDÁ R., SUAREZ E. Protein binding of itraconazole and fluconazole in patients with cancer. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1995;33(8):449-452.
- ASIN-PRIETO E., RODRIGUEZ-GASCON A., ISLA A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *J Infect Chemother*. 2015;21(5):319-29.
- BADDLEY J.W., PATEL M., BHAVNANI S.M., MOSER S.A., ANDES D.R. Association of Fluconazole Pharmacodynamics with Mortality in Patients with Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2008;52(9):3022–3028.
- BHANSALI C.A., GANDHI G., SAHASTRABUDHE P., PANSE N. Epidemiological study of burn injuries and its mortality risk factors in a tertiary care hospital. *Indian Journal of Burns*. 2017;25(1),62-66.
- BHARWANA S.A., FARID M., ALI S., RIZWAN M., NADEEM M., HAIDER M. W., TAUQEER M., SALLAH-UD-DIN R., AHMAD R. Mortality rate associated with hospital acquired infections among burn patients. *Biomed. Res. Ther*. 2016; 3(9):790-9.
- BITTNER E.A., SHANK E., WOODSON L., MARTYN J.A.J. Acute and perioperative care of the burn-injured patient. *Anesthesiology*. 2015;122(2):448-64.
- BLANCHET B., JULLIEN V., VINSONNEAU C., TOD M. Influence of burns on pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs used in the care of burn patients. *Clinical Pharmacokinetics*. 2008;47(10):635-54.
- BONATE P.L. Pathophysiology and Pharmacokinetics Following Burn Injury. *Clin Pharmacokinet*. 1990;18(2):118-130.
- BOUCHER B.A, KING S. R., WANDSCHNEIDER H.L., HICKERSON W.L., HANES S.D., HERRING V.L.CANADA T.W., HESS M.M. Fluconazole Pharmacokinetics in Burn Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42(4):930-933.
- BRAMMER K.W., FARROW R., FAULKNER J.K. Pharmacokinetics and Tissue Penetration of Fluconazole in Humans. *Rev Infect Dis*. 1990;12(3):S318-326.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Queimados. 04/07/2017. Acessado em: 10/01/2020. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/component/content/article/842-queimados/40990->.
- CAIN S. E., KOHN J., BOOKSTAVER P. B., ALBRECHT H., AL-HASAN M. N. Stratification of the impact of inappropriate empirical antimicrobial therapy for Gram-negative bloodstream infections by predicted prognosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015;59(1):245-50.
- CARLIER M., ATOVE V., WALLIS S.C., DE WAELE J.J., VERSTRAETE A.G., LIPMAN J., ROBERTS J.A. Assays for therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics: A structured review. *Int. J. Antimicrob. Agent.* 2015;46, 367-375.
- CARRASCO-PORTUGAL M.C., FLORES-MURRIETA F.J. Gender differences in the oral pharmacokinetics of fluconazole. *Clin Drug Invest* 2007;27(12):851-855.
- CECILIANI F., LECCHI C. The Immune Functions of α 1 Acid Glycoprotein. *Curr Protein Pept Sci.* 2019;20(6):505-524.
- CLANCY C.J., YU V.L., MORRIS A.J., SNYDMAN D.R., NGUYEN M.H. Fluconazole MIC and the Fluconazole Dose/MIC Ratio Correlate with Therapeutic Response among Patients with Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2005;49(8):3171-3177.
- COLOMBO A.L., NUCCI M., PARK B.J., NOUER S.A., ARTHINGTON-SKAGGS B., DA MATTA D.A., WARNOCK D., MORGAN J. Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol.* 2006;44(8):2816–23.
- COLOMBO A.L., GUIMARAES T., CAMARGO L.F.A., RICHTMANN R., DE QUEIROZ-TELLE F., SALLES M.J.C., CUNHA C.A., YASUDA M.A.S., MORETTI M.L., NUCCI M. Brazilian guidelines for the management of candidiasis – a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. *Brazilian J Infect Dis.* 2013;17(3):283–312.
- DE PAEPE P., BELPAIRE F.M., BUYLAERT W.A. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations When Treating Patients with Sepsis and Septic Shock. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(14):1135-1151.
- DEBRUYNE D., RYCKELYNCK J.P. Clinical Pharmacokinetics of Fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.* 1993;24(1):10-27.
- DEBRUYNE D. Clinical Pharmacokinetics of Fluconazole in Superficial and Systemic Mycoses. *Clin. Pharmacokinet.* 1997;33(1):52-77.
- DIPIRO J.T., SPRUILI W.J., WADE W.E., BLOUIN R. A., PRUEMER J.M. Concepts in Clinical Pharmacokinetics. ASHP. Estados Unidos da América, 2010.
- DRUSANO G. L. Antimicrobial pharmacodynamics: Critical interactions of “bug and drug”. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(4):289-300.

- EUCAST. Rationale for EUCAST clinical breakpoints - Fluconazole 2020. Acessado em: 21/05/2021. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Fluconazole_RD_v3.0_final_18_02.pdf.
- FAERGEMANN J., LAUFEN H. Levels of fluconazole in serum, stratum corneum, epidermis-dermis (without stratum corneum) and eccrine sweat. *Clinical and Experimental Dermatology*. 1993;18:102-106.
- FAERGEMANN J. GODLESKI J., LAUFEN H., LISS R.H. Intracutaneous Transport of Orally Administered Fluconazole to the Stratum Corneum. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1995;75:361-363.
- FAERGEMANN J. Pharmacokinetics of fluconazole in skin and nails. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40:S14-20.
- FOULDS G., WAJSZCZUK C., WEIDLER D.J., GARG D.J., GIBSON P. Steady state parenteral kinetics of fluconazole in man. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;544:427-430.
- FOURNIER T., MEDJOUBI N., PORQUET D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1482(1-2):157-171.
- GHANEM-ZOUBI N., QASIM M., KHOURY J., ZORBAVEL D., ARNON M., GEFFEN Y., PAUL M. The association between fluconazole dose and MIC with mortality and persistence in candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(9):1773–1780.
- GOMEZ D.S., CAMPOS E.V., AZEVEDO R.P., SILVA JR J.M., FERREIRA M.C., SANCHES-GIRAUD C., SILVA JR C.V., SANTOS S.R. Individualised vancomycin doses for paediatric burn patients to achieve PK/PD targets. *Burns*. 2013;39(3):445-450.
- GOMEZ D.S., SILVA JR C.V., OLIVEIRA A.M., SILVA JR J.M., GEMPERLI R., SANTOS S. R. Imipenem in burn patients: Pharmacokinetic profile and PK/PD target attainment. *J Antibiot (Tokyo)*. 2015;68(3):143-147.
- GONÇALVES-PEREIRA J., POVOA P. Antibiotics in critically ill patients: Systematic review of pharmacokinetics of β -lactams. *Critical Care*. 2011;15(5):R206.
- GONÇALVES-PEREIRA J., SILVA N.E., MATEUS A., PINHO C., POVOA P. Assessments of pharmacokinetic changes of meropenem during therapy in septic critically ill patients. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014;15:21.
- GRUPO DE CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (GCIH-HC-FMUSP). Guia de utilização de anti-infecciosos e recomendações para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde. 7 ed. São Paulo, Hospital das Clínicas, 2018-2020.
- GUO T., SUN W.J., XIA D.Y., ZHAO L.S. The pharmacokinetics of fluconazole in healthy Chinese adult volunteers: influence of ethnicity and gender. *J Clin Pharm Ther*. 2010;35(2):231-237.

- HAN S., KIM J., YIM H., HUR J., SONG W., LEE J., JEON S., HONG T., WOO H., YIM D. Population Pharmacokinetic Analysis of Fluconazole To Predict Therapeutic Outcome in Burn Patients with Candida Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(2):1006–1011.
- HANEKE E. Fluconazole levels in human epidermis and blister fluid. *Br J Dermatol.* 1990;123(2):273-277.
- HUMPHREY M.J., JEVONS S., TARBIT M.H. Pharmacokinetic evaluation of UK-49,858, a metabolically stable triazole antifungal drug, in animals and humans. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28(5):648-653.
- INSTITUTO LATINO AMERICANO DA SEPSE (ILAS). Relatório nacional 2020. Acesso em 21/05/2021. Disponível em: <http://www.ilas.org.br/assets/arquivos/relatorio-nacional/relatorio-nacional-final-2020>.
- KAUKONEN K.M., BAILEY M., SUZUKI S., PILCHER D., BELLOMO R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zeland, 2000-2012. *JAMA.* 2014;311(13):1308-1316.
- LEPAK A.J., ANDES D.R. Antifungal Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(5):a019653.
- LOUIE A., DRUSANO G.L., BANERJEE P.M LIU Q.F., LIU W., KAW P. SHAYEGANI M., TABER H., MILLER M.H. Pharmacodynamics of Fluconazole in a Murine Model of Systemic Candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1998;42(5): 1105–1109.
- MOODY B.J., SHAKESPEARE P.G., BATSTONE G.F. The Effects of Septic Complications upon the Serum Protein Changes Associated with Thermal Injury. *Annals of Clinical Biochemistry.* 1985;22(4):391-396.
- NORBURY W., HERNDON D.N., TANKSLEY J., JESCHKE M.G., FINNERLY C.C. Infection in Burns. *Cir. Infect.* 2016;17(2):250-255.
- PAI M.P., TURPIN R.S., GAREY K.W. Association of Fluconazole Area under the Concentration-Time Curve/MIC and Dose/MIC Ratios with Mortality in Nonneutropenic Patients with Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2007;51(1):35-39.
- PAPPAS P.G., KAUFFMAN C.A., ANDES D.R., CLANCY C.J., MARR K.A., OSTROSKY-ZEICHNER L., REBOLI A.C., SCHUSTER M.G., VAZQUEZ J.A., WALSH T.J., ZAOUTIS T.E., SOBEL J.D. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *CID.* 2016;62(4):e1-50.
- PFALLER M.A., DIEKEMA D.J., SHEEHAN D.J. Interpretive Breakpoints for Fluconazole and Candida Revisited: a Blueprint for the Future of Antifungal Susceptibility Testing. *Clinical Microbiology Reviews.* 2006;19(2):435–447.
- RHODES A., EVANS L.E., ALHAZZANIM W., LEVY M. M., ANTONELLI M., FERRER R. et. al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 2017; 43(3):304–377.

- RICHARDSON K., COOPER K., MARRIOTT M.S., TARBIT M.H., TROKE P.F., WHITTLE P.J. Discovery of fluconazole, a novel antifungal agent. *Reviews of Infectious Diseases*. 1990;12(3):s267-271.
- RIPA S., FERRANTE L., PRENNA M. Pharmacokinetics of fluconazole in normal volunteers. *Chemotherapy*. 1993;39(1):6–12.
- RIZK N. A., KANAFANI Z. A., TABAJA H. Z., KANZ S. S. Extended infusion of beta-lactam antibiotics: optimizing therapy in critically-ill patients in the era of antimicrobial resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017;15(7):645-652.
- ROBERTS J. A., ABDUL-AZIZ M. H., LIPMAN J., MOUTON J. W., VINKS A. A., FELTON T. W., et al. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(6):498-509.
- RODRIGUEZ-TULEDA J.L., ALMIRANTE B., RODRIGUEZ-PARDO D., LAGUNA F., DONNELLY J.P., MOUTUN J.W., PAHISSA A., CUENCA-ESTRELLA M. Correlation of the MIC and Dose/MIC Ratio of Fluconazole to the Therapeutic Response of Patients with Mucosal Candidiasis and Candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;51(10):3599-3604.
- SANTOS S.R.C.J., CAMPOS E.V., SANCHES C., GOMEZ D.S., FERREIRA M.C. Fluconazole plasma concentration measurement by liquid chromatography for drug monitoring of burn patients. *Clinics*. 2010;65(2):237-243.
- SANTOS S. R. C. J., GUIMARAES W. V., GOMEZ D. S. The Battle Against Nosocomial Pathogens for Sepsis Control in Paediatric Burn Patients: Vancomycin and Carbapenems Serum Monitoring for Target Attainment by PK/PD Analysis. In: *The battle against microbial pathogens: Basic science, Technological Advances and Educational Programs*. 1 ed. Badajoz: Formatex Research Center, 2015;2:806-821.
- SEYMOUR C. W., LIU V. X., IWASHYNA T. J., BRUNKHORST F. M., REA T. D., SCHERAG A., et. al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):762-774.
- SHAKAR-HARI M., PHILLIPS G. S., LEVY M. L., SEYMOUR C. W., LIU V. X. DEUTSCHMAN C. S., et. al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):775–787.
- SHIBA K., SAITO A., MIYAHARA T. Safety and pharmacokinetics of single oral and intravenous doses of fluconazole in healthy subjects. *Clin Ther*. 1990;12(3):206-215.
- SILVA JR J. M., KUPA L. V. K., OLIVEIRA A. M. R. R., SILVA JR C. V., SANTOS S. R. C. J., GOMEZ D. S. Meropenem effectiveness in septic burn patients by comparison of extended infusion versus fast infusion against susceptible strains based on drug plasma measurements done in a real time. *Crit. Care*. 2017a;21(Suppl 2):32.

- SILVA JR J. M., KUPA L. V. K., OLIVEIRA A. M. R. R., SILVA JR C. V., SANTOS S. R. C. J., GOMEZ D. S. Piperacillin effectiveness in septic burn patients by comparison of two empirical daily dose regimen recommended 12 versus 16g against susceptible strains based on drug plasma measurements done in a real time. *Crit. Care.* 2017b;21(Suppl 2):31.
- SINGER M., DEUTSCHMAN C. S., SEYMOUR C. W., SHANKAR-HARI M., ANNANNE D., BAUER M., et. al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-810.
- SMITH S.A., WATERS N.J. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations for Drugs Binding to Alpha-1-Acid Glycoprotein. *Pharm Res.* 2019;36(2):30.
- SMOLLE C., CAMBIASO-DANIEL J., FORBES A.A., WURZER P., HUNDESHAGEN G., BRANSKI L.K., HUSS F., KAMOLZ L.P. Recent Trends in Burn Epidemiology Worldwide: A Systematic Review. *Burns.* 2017;43(2): 249–257.
- SVENSSON C.K., WOODRUFF M.N, BAXTER J.G., LALKA D. Free Drug Concentration Monitoring in Clinical Practice Rationale and Current Status. *Clin Pharmacokinet.* 1986;11(6):450-469.
- TOON S., ROSS C.E., GOKA R., ROWLAND M. An assessment of the effects of impaired renal function and haemodialysis on the pharmacokinetics of fluconazole. *Br J Clin Pharmac.* 1990;29:221-226.
- WALRAVEN C.J., MERCIER R. C., LEE S.A., Antifungal Pharmacokinetics and Dosing Considerations in Burn Patients. *Curr Fungal Infect Rep.* 2011;5:67–74.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Improving the prevention, diagnosis and clinical management of sepsis - Seventieth World Health Assembly. 2017. Acessado em 19/10/2018. Disponível em: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R7-en.pdf.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fact sheets – Burns. 2018. Acessado em: 15/12/2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>.
- XIA Z.F., COOLBAUGH M.I., HE F., HERNDON D.N., PAPACONSTANTINOU J. The effects of burn injury on the acute phase response. *J Trauma.* 1992;32(2):245-250.
- XIA Z., WANG G., GE S., TIAN J. Alpha 1-antitrypsin and alpha 1-acid glycoprotein reduce the sensitivity of human dermal fibroblast to endotoxin. *Chin J Traumatol.* 2001;4(4):199-203.
- XIAO K., SU L., YAN P., HAN B., LI J., WANG H., JIA Y., LI X., XIE L. α -1-Acid glycoprotein as a biomarker for the early diagnosis and monitoring the prognosis of sepsis. *Journal of Critical Care.* 2015;30(4):744-751.
- YEATS R.A., RUHNKE M., PFAFF G., HARTMANN A., TRAUTMANN M., SARNOW E. The pharmacokinetics of fluconazole after a single intravenous dose in AIDS patients. *Br J Clin Pharmac.* 1994;38:77-79.

- ZEINEH R.A., KUKRAL J.C. The turnover rate of orosomucoid in burned patients. *Trauma*. 1970;10(6):493-498.
- ZOKUFA H.Z., SOLEM L.D., RODVOLD K.A., CROSSLEY K.B., FISCHER J.H., ROTSCHAFER J.C. The influence of serum albumin and alpha 1-acid glycoprotein on vancomycin protein binding in patients with burn injuries. *J Burn Care Rehabil*. 1989;10(5):425-428.
- ZOLTEC. Fluconazol: solução para infusão. Responsável técnica Liliana R. S. Bersan. São Paulo - SP, Wyeth Indústria Farmacêutica Ltda., 2019. Bula de remédio.

ANEXOS

Anexo A – Aprovação pelo Comitê de Ética para a Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

SGP - Sistema Gestão de Pesquisa [HCFMUSP] [Início](#) [Sobre](#) [Contato](#) PESQUISADOR | david.gomez | Sair

Código: 5485
 Pesquisador Responsável: DAVID DE SOUZA GOMEZ
 Título do Projeto: Combate ao desenvolvimento de resistência dos patógenos hospitalares mediante dosagem de biomarcadores inflamatórios e abordagem farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) para antimicrobianos beta-lactâmicos de última geração (piperacilina-tazobactana e meropenem) no tratamento do choque séptico em pacientes críticos para fins de vigilância infecciosa efetiva na UTI
 Número de controle interno:
 Número de controle CAEE: 07525118.3.0000.0068
 Status: 6 - APROVADO - CAPPESQ
 CONEP: NÃO
 Centro Coordenador: NÃO

Histórico do Projeto

[✓ Voltar](#) [🖨 Imprimir](#)

Status	Data	Usuário
APROVADO - CAPPESQ	11/04/2019 07:52:42	SECRETARIA CAPPESQ
EM ANÁLISE RELATOR - CAPPESQ	27/03/2019 14:12:26	SECRETARIA CAPPESQ
CG - SUBMETIDO AO CAPPESQ	26/03/2019 15:18:31	SECRETARIA COMISSAO

Comissão... Título... Status...

[+ Incluir Projeto](#)

Nº	Atualização	Comissão	Título do Projeto	Status	Documento	Criação		Status do Cadastro
6610	21/03/2019 07:50:01	ICHC DEPTO DE CIRURGIA	UTILIZAÇÃO DE ENXERTO MICROFRAGMENTADO DE PELE NO TRATAMENTO DAS QUEIMADURAS DE TERCEIRO GRAU	APROVADO - CAPPESQ	Anexado	10/07/2018 16:19:29	<input type="button" value="Q"/>	<input type="button" value="///"/>
5485	11/04/2019 07:52:42	ICHC DEPTO DE CIRURGIA	Combate ao desenvolvimento de resistência dos patógenos hospitalares mediante dosagem de biomarcadores inflamatórios e abordagem farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) para antimicrobianos beta-lactâmicos de última geração (piperacilina-tazobactana e meropenem) no tratamento do choque séptico em pacientes críticos para fins de vigilância infecciosa efetiva na UTI	APROVADO - CAPPESQ	Anexado	05/03/2018 15:06:50	<input type="button" value="Q"/>	<input type="button" value="///"/>

Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DA PESQUISA**

Título da pesquisa: *Combate ao desenvolvimento da resistência de patógenos hospitalares mediante dosagem de biomarcadores inflamatórios e abordagem farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) para antimicrobianos beta-lactâmicos de última geração (piperacilina-tazobactana e meropenem) no tratamento do choque séptico em pacientes críticos para fins de vigilância infecciosa efetiva na UTI*

Pesquisador principal: PROF. DR DAVID SOUZA GOMEZ - Diretor Técnico de Serviço
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA: 35316

Departamento/Instituto: *Divisão de Cirurgia Plástica e Queimaduras – 8º. A. - ICHC*

1. **Convite à participação:** *Convidamos o(a) Sr(a), para participar desta pesquisa que busca melhorar o resultado da ação dos antibióticos usados nos pacientes portadores de queimaduras, como segue abaixo:*
2. **Justificativa e objetivos do estudo:** *Se o(a) senhor(a) por quem é responsável apresentar sinais de infecção será empregado antibiótico para o tratamento, isto é, medicação que visa tratar a infecção, conseqüente da lesão pela queimadura. As medicações atualmente utilizadas no controle das infecções são agentes anti-infecciosos (antibióticos) receitados para esta finalidade como o meropenem e a piperacilina-tazobactana. O objetivo do presente estudo é avaliar se um destes antibióticos, na dose e forma utilizadas, atinge valores satisfatórios no sangue durante o tratamento para obter melhor efeito.*
3. **Procedimentos que serão utilizados e métodos que serão empregados:** *O(a) senhor(a) por quem é responsável receberá o antibiótico nas doses e nos momentos normalmente utilizados nos pacientes com infecção devido a queimaduras. Serão coletadas duas amostras de sangue conforme segue: 1ª coleta na 3ª hora do início da infusão estendida e a 2ª coleta na 5ª hora do início da infusão. Será coletado através de cateter venoso (dispositivo que substitui a picada) e o volume total será de 3 mL de seu sangue (1,5 mL/ coleta) para a dosagem do medicamento. No sangue será dosada a concentração do antibiótico utilizando método laboratorial específico.*
4. **Explicitação de possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa:** *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.*
5. **Benefícios esperados para o participante:** *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 queimaduras, visando melhorar os resultados de seu tratamento. Este estudo deverá futuramente beneficiar também muitos outros pacientes.*
6. **Esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa:** *O senhor terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive esclarecer eventuais dúvidas, além de manter todos os seus direitos quanto à assistência após o término ou interrupção da pesquisa.*

7. **Garantias de plena liberdade ao participante de recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma, de sigilo e privacidade:** O Sr. terá total liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Terá ainda a confidencialidade, sigilo e privacidade garantidos.
8. **Garantia de que o participante receberá uma via do termo de consentimento:** O Sr. irá receber uma via deste Termo de Consentimento, devidamente rubricada pelos devidos integrantes.
9. **Explicitação das garantias de ressarcimento por despesas decorrentes da pesquisa e explicitação da garantia de indenização por eventuais danos decorrentes da pesquisa:** Não existirão despesas pessoais para o senhor (a) em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada a sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Se houver algum dano comprovada e diretamente resultante da pesquisa, o Sr. terá direito a ser indenizado, assim como ter as despesas decorrentes desse atendimento cobertas pela Instituição.
10. **O material biológico (amostras sanguíneas) obtido para esta pesquisa será armazenado de acordo com a resolução 441/2011**
11. **Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas.** O principal investigador é o Dr. David de Souza Gomez, que pode ser encontrado no endereço Av Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – 8ª. A., Sl 8128, Telefone(s) 2661-7568, e-mail david.gomez@hc.fm.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovidio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesa.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Combate ao desenvolvimento da resistência de patógenos hospitalares mediante dosagem de biomarcadores inflamatórios e abordagem farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) para antimicrobianos beta-lactâmicos de última geração (piperacilina-tazobactana e meropenem) no tratamento do choque séptico em pacientes críticos para fins de vigilância infecciosa efetiva na UTI". Eu discuti com o Dr David de Souza Gomez sobre a minha decisão em participar desse estudo e/ou em consentir que a pessoa sob a minha tutela participe do estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenha garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pelo pesquisador.

*Assinatura do paciente
Ou representante legal*

Data: ____/____/____

Assinatura do Responsável pelo estudo

Data: ____/____/____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:.....

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

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
(.....).....