

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

Uso da vancomicina nas infecções por *Staphylococcus aureus*  
e *epidermides* em pacientes queimados: monitoramento das  
concentrações plasmáticas após infusão intermitente

**Daniele Ferreira de Faria Bertoluci**

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:

Profa. Dra. Silvia Regina C. J. Santos

**São Paulo**  
**2007**

Daniele Ferreira de Faria Bertoluci

Uso da vancomicina nas infecções por *Staphylococcus aureus*  
e *epidermidis* em pacientes queimados: monitoramento das  
concentrações plasmáticas após infusão intermitente

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade  
de São Paulo para Obtenção do grau de  
MESTRE.

Programa de Pós-graduação: Fármacos e  
Medicamentos

Área de concentração: Produção e controle  
Farmacêuticos

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. SILVIA R. C. J.  
SANTOS.

Laboratório de Farmacologia Terapêutica –  
Unidade de Pesquisa Clínica FBF/FCFUSP

São Paulo  
2007

Daniele Ferreira de Faria Bertoluci

**Uso da vancomicina nas infecções de pacientes queimados por  
*Staphylococcus aureus* e *epidermides*: monitoramento das  
concentrações plasmáticas após infusão intermitente**

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Silvia Regina C. J. Santos  
Orientador/presidente

---

1º Examinador

---

2º Examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2007

*A Deus, que me faz sentir amparada e me carrega em seus braços me confortando sempre...*

*Ao meu marido Humberto, pelo companheirismo, carinho, apoio e paciência neste momento que ele sabe que foi muito importante para meu crescimento pessoal e profissional...*

*A minha filha Rafaela que me acompanhou bem de pertinho e ao nascer, cada sorriso seu, se tornou para mim sinônimo de força e coragem para continuar...*

*Aos meus pais Divino e Abilina, que sempre foram exemplo de coragem, de trabalho e amor, que não mediram esforços para que minha formação acadêmica se tornasse uma realidade e que agora, na finalização do mestrado me apoiaram, me auxiliando nos cuidados com minha filha, para que fosse possível a conclusão de mais esta etapa...*

*Aos meus irmãos Danielson e Diogo pela torcida e alegria...*

## AGRADECIMENTOS

A prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Silvia Regina Cavani Jorge Santos, minha orientadora, pelo respeito, carinho e compreensão frente às adversidades que foram surgindo. Pela orientação e por compartilhar conosco seus conhecimentos e experiência.

Aos pacientes que consentiram com a participação no estudo.

À Dra Adriana Macedo Dell'Aquila pela importante participação na etapa clínica.

Aos colegas da pós graduação por vivenciar as mesmas dificuldades, desafios e contentamentos que o processo exige.

À colega Karin que contribui de forma especial na etapa analítica.

Aos funcionários Adriana e Edgar pelo companheirismo e amizade.

Ao Hospital Geral "Dr. José Pangella" de Vila Penteado pela oportunidade.

A faculdade de Ciências Farmacêuticas pela infra-estrutura.

Aos Coordenadores do Curso de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de São Paulo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela concessão de bolsa de estudo

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo pelo auxílio financeiro.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

*Se eu fui capaz de ver mais longe,  
é porque estava de pé nos ombros de gigantes*

(Isaac Newton)

## RESUMO

O paciente grande queimado está entre os de maior risco de contrair infecção hospitalar, sendo que, aproximadamente 80% dos óbitos nestes pacientes são decorrentes de infecção. Devido à prevalência de *S. aureus* metilicina resistente (MRSA) nas unidades de queimados prescreve-se a vancomicina como fármaco de 1ª linha. Entretanto como a farmacocinética se encontra profundamente alterada geralmente ocorre a falência terapêutica e surgimento de resistência antimicrobiana. O objetivo do presente estudo foi monitorar as concentrações plasmáticas através da análise em CLAE-UV e realizar a modelagem farmacocinética da vancomicina, administrada nestes pacientes. Para tanto, validou-se método analítico que se mostrou linear, preciso, exato e suficientemente sensível para o monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina nos pacientes. Investigaram-se 9 pacientes adultos grandes queimados após cirurgia de debridamento; os pacientes foram informados em detalhes sobre o estudo e assinaram o TCLE, e incluídos no protocolo. Coletaram amostras sanguíneas seriadas para a farmacocinética (PK solutions 2.0). A estatística descritiva (Microsoft Excell, Office for Windows, versão 2000) forneceu os resultados expressos através da média +/- DP: 16 mg/L±11, para o pico (referência 20-40mg/L) e 2,6 mg/L±1,5 para o vale (referência,5-10mg/L), abaixo da CME nestes pacientes. Os parâmetros farmacocinéticos foram o volume aparente de distribuição que se mostrou aumentado em cerca de 3,5 vezes, (1,4 L/Kg ± 0,8 *versus* 0,33-0,45L/kg, referência, a depuração plasmática mostrou-se aumentada em cerca de 2,5 vezes (3,2±1,65 mL/min.kg *versus* 1,3 – 1,5mL/min.kg, referência, enquanto a constante de eliminação e a meia-vida biológica se mantiveram inalteradas. Este estudo indica que o regime posológico e tipo de infusão endovosa

devam ser revistos, utilizando a farmacocinética como ferramenta importante. Recomenda-se ainda que a terapia dose ajustada seja baseada no controle terapêutico destes pacientes em todas as fases da internação, principalmente após cada cirurgia de debridamento.

**Palavras Chave:** Vancomina, grandes queimados, monitoramento das concentrações plasmáticas, CLAE-UV, modelagem farmacocinética.



## ABSTRACT

Nosocomial infections shows high incidence in burn patient, and approximately 80% of mortality of them is due to severe infections and sepsis. High prevalence of methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) occurs in the intensive care units for burn patients and vancomycin is largely prescribed as first choice drug for severe infections and sepsis. In general occurs therapeutic fail, since the pharmacokinetics is altered in these patients and arise the antimicrobial resistance. The main of the present study was to perform therapeutic plasma vancomycin monitoring by HPLC-UV and also PK- modelling after 1g every 12 hours, 1 hour infusion. Bioanalytical method was validated showing good linearity, precision, accuracy, good stability and robustness. Additionally method required 200 $\mu$ L of plasma and showed sensitivity enough for vancomycin plasma monitoring. Nine large burn patients were included in the study after they signed the informed written consent term to participate of the protocol. The follow up was done after debridement surgery. Blood samples were collected from venous catheter at time dose interval to investigate the pharmacokinetics (PK solutions 2.0) and also to determine the peak and trough. Descriptive statistics was performed applying Microsoft Excell, Office for Windows, versão 2000. Data obtained were 16 mg/L $\pm$ 11 peak (reference 20-40mg/L) and 2.6 mg/L $\pm$ 1.5 trough that was lower than MEC since the reference ranges from 5 to 10mg/L). Pharmacokinetic parameters were volume apparent of distribution, that was increased by 3.5 times (1.4 L/Kg  $\pm$  0,8 against the reference values 0.33-0.45L/kg), plasma clearance was also increased by 2.5 times (3.2 $\pm$ 1.7mL/min.kg versus 1.3 – 1.5mL/min.kg, reference values), while elimination rate constant and biological half-life remained unchanged in those patients. Based on data obtained in the study,

author recommends a revision on dose schedule and also concerning intravenous drug infusion using the pharmacokinetics as a powerful tool and the therapeutic plasma vancomycin monitoring for dose adjustments in all phases of the follow up of burn patient, mainly after each surgery debridement.

**Key words:** Vancomycin, large burn patients, therapeutic drug monitoring, HPLC-UV, PK modelling.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Perfil cromatográfico (CLAE-UV) da vancomicina em plasma.

**Figura 2:** Curva de Linearidade da Vancomicina em plasma

**Figura 3:** Curvas de decaimento plasmático C (mg/L) vs T, após administração através de infusão de 1g de vancomicina (1 hora) a pacientes queimados.

**Figura 4:** Curvas de decaimento plasmático C (mg/L) vs T após administração de vancomicina (1g/ 1 hora) por infusão nos nove pacientes, comparados com a concentração mínima eficaz, CME (Concentração Mínima Eficaz = 5mg/L)

**Figura 5:** Valores estimados para área sob a curva do decaimento plasmático do fármaco em função do tempo (ASCT, C vs T) após administração de vancomicina (1g/ 1 hora) por infusão nos nove pacientes.

**Figura 6:** Valores estimados para a meia-vida e constante de eliminação dos nove pacientes.

**Figura 7:** Valores estimados para a Depuração plasmática e Volume de distribuição dos nove pacientes.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Estabilidade da vancomicina após 3 ciclos de congelamento.

**Tabela 2:** Estabilidade da vancomicina durante a corrida analítica.

**Tabela 3:** Precisão e Exatidão intradia e interdias da vancomicina.

**Tabela 4:** Parâmetros obtidos para validação de método bioanalítico da vancomicina.

**Tabela 5:** Concentração plasmática da vancomicina obtida após administração da medicação ao término da infusão de 1g durante 1 hora, em cada período de coleta.

**Tabela 6:** Disposição cinética da vancomicina nos pacientes queimados  
pacientes queimados

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AUC<sub>T</sub> - área sob a curva total

B.M. - Banho Maria

CBM - concentração bactericida mínima

C<sub>MAX</sub> - Concentração máxima

C<sub>MIN</sub> - Concentração mínima

CL<sub>T</sub> - depuração plasmática

CLAE – UV - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Ultra Violeta

CME – Concentração Mínima Eficaz

CV - Coeficiente de Variação

CMD - Concentração Média Determinada.

DP - Desvio Padrão

FCF – Faculdade de Ciências Farmacêuticas

FIA – Imunoensaio por Fluorescência

FPIA - Imunoensaio por Fluorescência Polarizada

IC95% - intervalo de confiança 95%

IMC – Índice de Massa Corpórea

Kel - Constante de Velocidade de Eliminação

MRSA - *Staphylococcus aureus* meticilina resistente

MIC - concentração inibitória mínima

MOPS - ácido 3 N-morfolinopropano sulfônico

pH - potencial hidrogeniônico

PI – Padrão Interno

RIA - Radioimunoensaio

*S. aureus* - *Staphylococcus aureus*

SCQT – Superfície Corpórea Queimada Total

TCLE - termo de consentimento de participação livre e esclarecido

$t_{(1/2) \beta}$  - Meia-vida de eliminação

Vd - Volume de distribuição

VRSA - *S. aureus* resistente a vancomicina

VISA - *S. aureus* com resistência intermediária a vancomicina

## SUMÁRIO

<b><u>1. INTRODUÇÃO</u></b> .....	<b>17</b>
<b><u>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u></b> .....	<b>21</b>
2.1 Queimadura .....	22
2.2 Infecção em pacientes queimados .....	23
2.3 Vancomicina .....	27
2.3.2 Mecanismo de ação .....	30
2.3.3 Resistência bacteriana .....	31
2.3.4 Usos terapêuticos .....	33
2.3.5 Reações adversas .....	34
2.3.6 Farmacocinética da vancomicina em queimados .....	35
2.3.7 Métodos bioanalíticos para determinação de vancomicina .....	37
<b><u>3.OBJETIVO</u></b> .....	<b>38</b>
<b><u>4.MATERIAIS E MÉTODOS</u></b> .....	<b>40</b>
4.1 Etapa Clínica.....	41
4.1.1 Local do Estudo .....	41
4.1.2 Critérios de Inclusão e Exclusão .....	41
4.1.3 Aspectos Éticos.....	43
4.2 Procedimento Clínico .....	44
4.2.1 Casuística.....	44
4.2.2. Medicação, regime de dose e protocolo de administração .....	47
4.2.3 Coleta de amostras sanguíneas.....	47
4.2.4 Monitoramento da vancomicina plasmática .....	48
4.3 Etapa Analítica .....	48
4.3.1 Reagentes, soluções tampão e padrões de referência .....	48
4.3.2 Procedimentos laboratoriais.....	49
4.3.3 Procedimento de purificação da vancomicina de plasma .....	50
4.4 Validação do Procedimento Analítico .....	53
4.4.1 Limite de Detecção e Quantificação.....	53
4.4.2 Linearidade .....	53
4.4.3 Curva de calibração .....	54
4.4.4 Controles internos de qualidade.....	54
4.4.5 Estabilidade.....	55
4.4.6 Robustez .....	56
4.4.7 Precisão.....	56
4.4.8 Exatidão.....	56
4.4.9 Recuperação absoluta e relativa.....	57

<b>4.5</b>	<b>Análise Farmacocinética .....</b>	<b>58</b>
<b>4.6</b>	<b>Análise Estatística.....</b>	<b>59</b>
<b>5</b>	<b><u>RESULTADOS</u>.....</b>	<b>60</b>
<b>5.1</b>	<b>Validação do método analítico.....</b>	<b>61</b>
5.1.2	Linearidade .....	62
5.1.3	Curva de calibração .....	63
5.1.4	Estabilidade.....	63
5.1.5	Robustez .....	65
5.1.6	Precisão e exatidão.....	66
5.1.7	Recuperação absoluta e relativa.....	66
<b>5.2</b>	<b>Monitoramento Terapêutico da vancomicina nos grandes queimados .....</b>	<b>68</b>
5.2.1	Curva de decaimento plasmático da vancomicina nos pacientes .....	68
5.2.2	Disposição cinética da vancomicina em pacientes queimados.....	72
<b>6</b>	<b><u>DISCUSSÃO</u> .....</b>	<b>75</b>
<b>6.1</b>	<b>Validação do método analítico.....</b>	<b>76</b>
<b>6.2</b>	<b>Monitoramento da vancomicina no grupo de pacientes queimados.....</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b><u>CONCLUSÃO</u> .....</b>	<b>85</b>
<b>8</b>	<b><u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>.....</b>	<b>87</b>
<b>9</b>	<b><u>APENDÍCE</u>.....</b>	<b>97</b>



## **1. INTRODUÇÃO**

Segundo a Sociedade Brasileira de Queimaduras, ocorre no país um milhão de casos de queimaduras a cada ano. Cerca de 200 mil são atendidos em serviços de emergência, e 40 mil demandam hospitalização. As queimaduras estão entre as principais causas externas de morte registradas no Brasil, perdendo apenas para outras causas violentas, que incluem acidentes de transporte e homicídios. Um estudo conduzido no Distrito Federal demonstrou taxa de mortalidade de 6,2% entre os queimados internados na emergência hospitalar (VALE, 2005).

Após os avanços no tratamento e no controle da reposição volêmica, a infecção emergiu como principal risco para o paciente queimado. Segundo dados de literatura, aproximadamente 80% dos óbitos em pacientes com queimaduras são decorrentes de infecção. (FERNANDES et al, 2000; RODRIGUES, 1992).

A queimadura causa a destruição da barreira epitelial, o que facilita a contaminação bacteriana. Os tecidos queimados, nas queimaduras de terceiro grau, constituem ótimo meio de cultura, devido a presença de proteínas degradadas e tecidos desvitalizados, proporcionando um excelente meio para o desenvolvimento e proliferação de microorganismos, os quais podem alcançar a circulação sangüínea, causando infecção sistêmica (MACEDO, 2005; BOLLERO et al, 2001).

Além da predisposição à infecção inerente a fisiopatologia do paciente queimado, os suportes de vida, geralmente utilizados nestes pacientes (tubo endotraqueal, suporte de ventilação, cateteres vascular e uretral, dreno cirúrgico) são porta de entrada para microorganismos, podendo ser colonizados

por germes hospitalares, o que aumenta a possibilidade de infecção (BOLLERO et al, 2001).

As infecções mais freqüentes são aquelas relacionadas à ferida, à septicemia, ao acesso vascular, à pneumonia - que pode dar-se por via hematogênica ou mais comumente por inalação de bactérias aerossolizadas durante a manipulação física do paciente e à infecção do trato urinário, que ocorre devido à freqüente cateterização prolongada destes pacientes, o que os torna mais susceptíveis a infecção urinária (FERNANDES et al, 2000; RODRIGUES, 1992).

Os principais agentes causadores de infecção nos queimados são as bactérias gram-positivas, enterobactérias, bactérias não fermentadoras, mas também fungos, anaeróbios e vírus, tendo recentemente aumentado o isolamento de genes multirresistentes, como enterococos, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (FERNANDES et al, 2000).

Devido a esta prevalência de *Staphylococcus aureus*, metilina resistente (MRSA) nas unidades de queimados, a freqüente prescrição de vancomicina torna-se uma realidade (DELL'ÁQUILLA et al, 2004)

Dentre as dificuldades encontradas no tratamento das infecções nestes pacientes esta as alterações que ocorrem na farmacocinética dos fármacos, como conseqüência do efeito da injúria termal, que é complexo e ainda não está completamente explicado para todos os fármacos (WEINBREN, 1999).

Além disso, a obstrução vascular por lesão térmica dos vasos dificulta a chegada de antibióticos e de componentes celulares do sistema imune na área queimada (MACEDO, 2005)

Após a injúria térmica, todos os órgãos e sistemas, entre eles, o sistema cardiovascular, os rins e o fígado, envolvidos na farmacocinética dos antibióticos administrados sistemicamente, se encontram sob mudanças fisiopatológicas dinâmicas (BOUCHER et al, 1992).

Os pacientes queimados constituem um grupo extremamente heterogêneo, com variação significativa intra e inter-pacientes, o que implica na necessidade de monitoramento e terapêutica individualizada (GARRELTS, PETERIE, 1988; WEINBREN, 1999), evitando assim que concentrações sub-terapêuticas do antimicrobiano possam levar à falência do tratamento e à emergência da resistência bacteriana (HIRAMATSU, 1998).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi realizar o monitoramento das concentrações plasmáticas de vancomicina em pacientes grandes queimados seguidas da modelagem farmacocinética da vancomicina administrada no tratamento destes pacientes, promovendo embasamento para o ajuste de dose através da farmacoterapia dose ajustada.

## **2. Revisão Bibliográfica**

## 2.1 Queimadura

Entende-se por queimadura o quadro resultante da ação direta ou indireta do calor sobre o organismo humano. Podendo a causa ser térmica, elétrica ou química. A causa de queimadura mais freqüente é a térmica, ou seja, devido a altas temperaturas (líquidos quentes 44.5%; fogo, 24.2%; luz solar, 11.7%). Seguida das queimaduras químicas, devido a ácidos cáusticos (ácido sulfúrico ou clorídrico) ou bases cáusticas (hidróxido de potássio ou hidróxido de sódio), com 6.2% e as queimaduras elétricas correspondem a 3.6% de casos, além de outras causas menos comuns, como a radioatividade (VALE, 2005; SIAMANGA, 2002)

A despeito de o prognóstico ter melhorado dramaticamente, em especial graças ao reconhecimento da importância do debridamento precoce e ao progresso no emprego de substitutos biológicos da pele, as queimaduras ainda configuram importante causa de mortalidade. Esta se deve principalmente à infecção que pode evoluir com septicemia, assim como à repercussão sistêmica, com possíveis complicações renais, adrenais, cardiovasculares, pulmonares, músculo esqueléticas, hematológicas e gastrointestinais (VALE, 2005).

Em relação aos outros tipos de traumas, a queimadura tem uma maior incidência de sepse. Os motivos da susceptibilidade às infecções nos queimados são (1) a perda da primeira linha de defesa contra a invasão microbiana, causada pelo rompimento da barreira da pele, (2) a presença de tecido desvitalizado (escara do queimado) que proporciona um ambiente favorável para o crescimento bacteriano, (3) as alterações nos componentes específicos e não específicos do sistema imune, seguido da injúria térmica, e (4)

as alterações na resposta imune celular e humoral (BOUCHER et al, 1992; BANG et al, 1998).

No paciente grande queimado, a fase aguda da injúria ocorre nas primeiras 48 horas, existindo perda de fluido pelo sistema vascular e perda proteica em consequência da alteração na permeabilidade capilar, além de redução do fluxo sanguíneo e queda na taxa de filtração glomerular. Numa fase subsequente, decorridas 48 horas, e considerando-se que houve uma reposição adequada de fluidos, o paciente entra em uma situação hipermetabólica (WEINBREN et al, 1999).

Esta fase dura vários dias, e a intensidade varia com o tempo de evolução das lesões. Neste período registram-se aumentos no débito cardíaco, com aumento do fluxo sanguíneo para rins e fígado. Há um aumento da filtração glomerular e como consequência, a depuração da creatinina pode retornar a níveis normais ou até estar elevada, quando comparada a indivíduos saudáveis (WEINBREN et al, 1999).

## **2.2 Infecção em pacientes queimados**

Os sinais clínicos de infecção em pacientes queimados podem ser subdivididos em sistêmicos e locais. Segundo Howard et al (1999), as manifestações de infecção sistêmica habituais são a mudança de temperatura, que pode ser tanto a hipertermia, que habitualmente aparece como um sinal precoce, quanto à hipotermia, que aparece como um sinal tardio da infecção grave, usualmente presente nas infecções por bacilos Gram negativos. Também podemos observar a presença de taquicardia, hiperventilação e dor, que deve

estar diminuídas pela alteração de sensibilidade que ocorre devido à queimadura, além de intolerância à glicose, desorientação e obnubilação. A presença de obstipação ou íleo adinâmico, com dor, cólica, vômitos, febre e desidratação também podem ser encontrados.

Greenfield, McManus (1997), acrescentam também a este quadro a presença de leucocitose ou leucopenia, trombocitopenia, necrose subcutânea de pequenos vasos e alterações hemodinâmicas como hipotensão e oligúria, sendo os distúrbios de comportamento classificados como alteração do sensorio, letargia, confusão mental, surto psicótico, delírios, alucinações ou depressão.

As infecções locais devem ser diagnosticadas pela inspeção diária das lesões. É importante o registro da área queimada, na admissão, para documentar o aparecimento de novas lesões. Estas por sua vez podem ser classificadas de acordo com Greenfield, McManus (1997), Pruitt et al (1998) e Howard et al (1999) como eritema localizado ou celulite peri-lesional com marginação da superfície da lesão com dor, edema e eritema, palidez cutânea e aprofundamento da lesão.

É possível que a conversão da queimadura com espessura parcial para necrose total, degeneração do tecido de granulação, formação de nova escara, queimadura com cicatrização parcial da sua espessura, entre elas a perda do enxerto, represente um processo infeccioso local. A suspeita de infecção também pode ocorrer pela presença de lesão nodular necrótica (ectima gangrenoso) em pele sã e separação rápida e não esperada da escara (GREENFIELD, MCMANUS 1997).



A mudança na coloração da ferida para vermelho escuro focal (violáceo), marrom ou descoloração preta da escara, drenagem purulenta ou com odor fétido, descoloração hemorrágica de tecido abaixo da escara, surgimento de pigmento verde, visível em gordura subcutânea, e lesões vesiculares na cicatriz com desepitelização de áreas previamente cicatrizadas também representam sinais de infecção local (GREENFIELD, MCMANUS, 1997, PRUITT et al, 1998; HOWARD et al, 1999).

Os principais agentes causadores de infecção nos queimados são as bactérias gram-positivas, enterobactérias, não fermentadores, mas também fungos, anaeróbios e vírus, tendo recentemente aumentado o isolamento de genes multirresistentes, como enterococos, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (FERNANDES et al, 2000).

O *S. aureus* é um importante agente causador de infecção nesses pacientes e tornam-se cada vez mais problemático os surtos associados a *S. aureus* metilina resistente (MRSA). Identificaram-se como principais fontes os funcionários portadores, o ambiente, as soluções de sulfadiazina de prata –bem como os tanques de hidroterapia. Os mais freqüentes veículos de contaminação são as mãos da equipe e fômites (substâncias inanimadas capazes de transmitir doenças contagiosas). Destacam-se como principais fatores predisponentes a hospitalização prolongada e o uso empírico de antibióticos sistêmicos (FERNANDES et al, 2000).

O MRSA é uma bactéria amplamente encontrada em feridas, podendo desenvolver infecção ou colonização, sendo que alguns pacientes podem se tornar cronicamente colonizados (BOYCE et al, 1983; MAYHALL, 1996). Nos

pacientes queimados, sua freqüência, é elevada, podendo ser um dos principais agentes diagnosticados, assim como a *Pseudomonas spp.* Santucci et al (2003) encontraram *Staphylococcus aureus* em 24,0% e *Pseudomonas aeruginosa* em 18%, em todas as infecções em uma unidade de queimados em um estudo de sete anos no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.

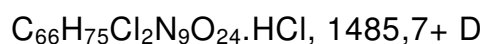
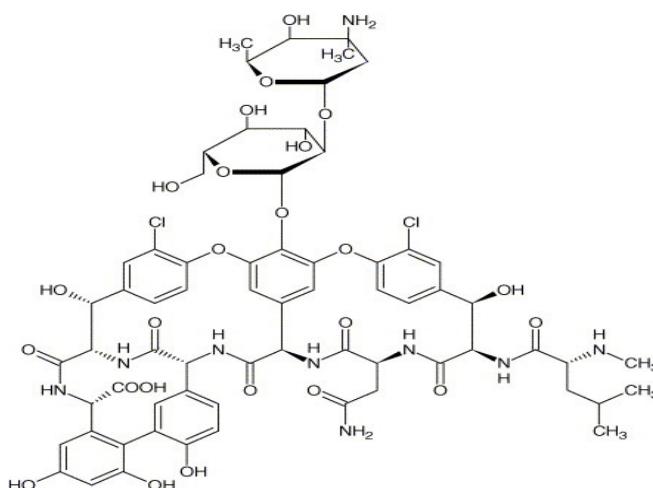
Em estudo realizado no Hospital Geral de Vila Penteado por Dell' Aquilla (2004), assim como no de Revathi et al (1998), o MRSA foi o segundo agente mais encontrado na infecção da corrente sanguínea com 18,0% de freqüência, junto com a *Candida spp.*, sendo superado apenas pela *Pseudomonas aeruginosa* em 27,0%.

A prevalência do MRSA nas unidades de queimados varia de acordo com o país e hospital. E geralmente, medidas básicas de procedimentos para o controle de infecção hospitalar como higienização das mãos, ventilação, ampla limpeza, e medidas de barreira na assistência, não são suficientes para impedir a transmissão de MRSA nestas unidades (COOK, 1998).

Devido a esta prevalência de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) nas unidades de queimado, o uso de vancomicina torna-se uma realidade, assim como a preocupação de que haja consumo exagerado e/ ou doses sub-terapêuticas que podem levar a falência do tratamento e surgimento de resistência a este fármaco.

## 2.3 Vancomicina

A vancomicina é um glicopeptídeo tricíclico, produzido pelo *Streptococcus orientalis*, um actineomiceto. Tem peso molecular de 1485,7 D, altamente solúvel em água, pouco solúvel em álcool e praticamente insolúvel em éter e clorofórmio. Em solução a 5% tem pH que varia entre 2,5 e 4,5. A estrutura química é ilustrada a seguir (MARTINDALE, 1999).



### Estrutura química da vancomicina

Atualmente a vancomicina é reservada para o tratamento de infecções estafilocócicas sistêmicas em pacientes alérgicos aos  $\beta$ -lactâmicos, infecções por estafilococos resistentes à oxacilina, enterococos e pneumococos resistentes à penicilina, além de representar uma alternativa para o tratamento da enterocolite por *Clostridium difficile* (TAVARES, 1996).

A vancomicina não é absorvida pelo trato digestivo e, portanto, na maioria das vezes é ministrada por via intravenosa, podendo também ser ministrada por via oral no tratamento das infecções intestinais por *Clostridium difficile*. (SHAFRAM, 2004)

Uma única dose intravenosa de 1g de vancomicina produz concentrações plasmáticas de 15 a 30mg/L, uma hora após infusão de 1 a 2 horas (MATZKE et al, 1986), e após atingir estado de equilíbrio, atinge concentração média de 15mg/L nos pacientes com função renal normal (MOELLERING et al, 1981). O regime de dose ideal para a vancomicina é aquele que resulta em uma concentração plasmática com pico entre 40 e 50mg/L e concentrações de vale entre 5 e 15mg/L, recomendando-se que seja mantida uma concentração acima de 5mg/L (vale), para assegurar a sua eficácia e o valor máximo deve permanecer abaixo de 50mg/L (pico), para evitar a ototoxicidade. (AMBROSE; WINTER, 2004).

Considerando que a vancomicina tem ação bactericida tempo dependente, é desejável que a concentração sérica esteja quatro vezes acima do CIM. Quando a concentração cai abaixo do valor ideal (4 vezes o MIC), a atividade bactericida é perdida. Portanto se o CIM de uma cepa sensível é 4mg/L, a concentração sérica mais adequada seria equivalente ou acima de 16mg/L (WEINBREN et al, 1999).

Na dose terapêutica usual para a vancomicina o paciente atinge níveis terapêuticos do antimicrobiano entre 4-8mg/L no líquido pericárdico, pleural, sinovial, ascítico, bem como no fígado, pulmão, coração, interior de abscessos, nos ossos. Nessas doses são atingidas ainda concentrações elevadas na urina (100 a 300mg/L), mas baixas na bile. No líquido sem

inflamação das meninges não são atingidas as concentrações adequadas, entretanto nas meningites registraram-se níveis entre 1 a 7 mg/L. Cerca de 20% da vancomicina circulante no sangue materno são transferidos para o feto e líquido amniótico (TAVARES,1996).

A taxa de ligação do fármaco à proteína, considerada baixa é de 30 a 50%. Por não ser metabolizada, cerca de 90% da dose administrada é eliminada, sob forma inalterada através dos rins, por filtração glomerular em 24 horas (MANDELL; PETRI, 1996; TAVARES, 1996).

O ajuste de dose faz-se necessário quando o paciente apresenta insuficiência renal aguda; reportou-se anteriormente que a hemodiálise não retira quantidade apreciável do fármaco enquanto que na diálise peritoneal a concentração sérica da vancomicina é reduzida de 30 a 40%. (MANDELL; PETRI, 1996).

Os pacientes com função renal normal e sem alteração de compartimentos fluidos apresentam meia-vida de eliminação de 6 horas, depuração plasmática de 1,7ml/min/kg e volume de distribuição de 0,4L/kg. Entretanto os parâmetros meia vida e depuração se encontram alterados na insuficiência renal aguda (MANDELL; PETRI,1996).

### **2.3.1 Espectro de ação**

Tem atividade fundamentalmente contra bactérias gram-positivas, sendo o fármaco de primeira escolha para o tratamento de infecções por *S. aureus* metilicina resistente (MRSA) (MANDELL; PETRI, 1996).

As cepas são consideradas sensíveis em CIMs  $\leq$  4mg/L. *S. aureus* e *S. epidermidis* ; incluindo as cepas resistentes à meticilina, em geral são inibidos por concentrações de 1,0 a 5,0mg/L. *S. Pyogenes*, *S. Pneumoniae* e estreptococos do grupo *viridans* são altamente sensíveis, assim como a maioria das cepas de *Enterococos spp* (MANDELL; PETRI,1996).

A vancomicina geralmente não é bactericida para *Enterococos spp.* e é necessária a adição de um aminoglicosídeo sinérgico para produzir um efeito bactericida. As espécies de *Corynebacterium* (difteróides) são inibidas por teores entre 0,04 e 3,1mg/L de vancomicina; a maioria das espécies de *Actinomyces* por 5 a 10mg/L; e *Clostridium spp.* por 0,39 a 6mg/L. Diversas cepas de *S. hemolyticus* e *Lactobacillus*, assim como de enterococos, que apresentam um alto grau de resistência à vancomicina foram isolados. Os determinantes da resistência à vancomicina para *Enterococos faecium* e *E. faecalis* estão localizados em um plasmídeo conjugado e por conseguinte podem ser transferidos para outro enterococos e para outros microorganismos gram-positivos em potencial. Essencialmente todas as espécies de bacilos gram-negativos e de micobactérias são resistentes a vancomicina. (MANDELL; PETRI,1996).

### **2.3.2 Mecanismo de ação**

A vancomicina inibe a síntese da parede celular pela ligação, com elevada afinidade, ao terminal D-alanil-D-alanina das unidades precursoras da parede celular, além de alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática, interferindo na síntese do RNA (PALMER-TOY, 1999)

O bloqueio da síntese do peptidoglicano também facilita a entrada do aminoglicosídeo, conferindo sinergismo entre vancomicina e gentamicina (PALMER-TOY, 1999).

### **2.3.3 Resistência bacteriana**

A resistência a glicopeptídeos em *S. aureus* pode se expressar através de dois fenótipos distintos, VISA (*S. aureus* com sensibilidade reduzida à vancomicina) e VRSA (*S. aureus* resistente à vancomicina). Os isolados VISA apresentam sensibilidade intermediária à vancomicina, com CIM variando de 8 a 16 µg/ml para este agente. Um estágio inicial de resistência denominado hetero-VISA, foi descrito para cepas de *S. aureus* sensíveis a vancomicina, mas que contêm subpopulações resistentes para este antimicrobiano. O significado clínico dos isolados hetero-VISA, no entanto, ainda não está bem estabelecido (WALSH; HOWE, 2002; COSGROVE et al., 2004). O segundo fenótipo de resistência, VRSA, foi descrito recentemente, e está relacionado a um alto grau de resistência à vancomicina, com CIM >32 µg/mL (TENOVER et al., 2004).

A sensibilidade reduzida à vancomicina parece resultar de mudanças na biossíntese dos peptidoglicanos. Esses isolados são notáveis pela quantidade adicional de peptidoglicano sintetizados, resultando em uma parede celular mais espessa (LOWY, 2003).

A vancomicina se liga a muitos terminais D-alanil-D-alanil dentro da cadeia de peptidoglicano adicional e não alcança seu alvo na superfície da membrana citoplasmática para exercer sua ação na inibição da síntese do peptidoglicano (CUI et al., 2003).

Outros mecanismos, entretanto, podem estar relacionados à diminuição da sensibilidade aos glicopeptídeos. Cui et al., em 2000, descreveram que a célula bacteriana passava a produzir monômeros de mureína estruturalmente modificados, em consequência da diminuição na quantidade intracelular de glutamato, necessário na síntese adequada de monômeros de mureína. Conseqüentemente, maior quantidade de terminais de D-alanil-D-alanil são expostos na parede celular, ficando livres para se ligarem aos glicopeptídeos e impedirem sua ação.

O fenótipo de resistência heterogênea à vancomicina (hetero-VISA) foi definido por cepas de *S. aureus* que apresentavam resistência intermediária a este fármaco. Especula-se que cepas hetero-VISA, poderiam ser consideradas precursoras das cepas VISA, uma vez que, após prolongada exposição ao antimicrobiano, poderá ocorrer seleção de população homogênea de células, expressando a característica VISA. (HIRAMATSU et al, 1997).

O segundo fenótipo de resistência à vancomicina, VRSA, apresentam resistência completa à vancomicina, decorrente da substituição do peptídeo final do terminal D-alanil-D-alanina, que passa a D-alanil-D-lactato (FONSECA, 2005; LOWY, 2003).

Este novo peptídeo tem reduzida afinidade pela vancomicina, sem prejuízo da síntese da parede bacteriana. O mecanismo aparente deste fenótipo de resistência está relacionado à conjugação, pelo *S. aureus*, de um plasmídeo carreador gene *vanA* proveniente do *Enterococcus faecalis* (FONSECA, 2005; LOWY., 2003).



### 2.3.4 Usos terapêuticos

A vancomicina deve ser prescrita apenas para o tratamento de infecções graves e é particularmente útil nas infecções causadas por estafilococos resistentes à meticilina, incluindo pneumonia, empiema, endocardite, osteomielite e abscessos nos tecidos moles. A substância também é bastante valiosa nas infecções estafilocócicas graves em pacientes que são alérgicos à penicilina e cefalosporinas. Entretanto, a vancomicina é um agente bactericida menos rápido que qualquer um dos antibióticos antiestafilocócicos  $\beta$ -lactâmicos (p.ex. nafcilina ou cefazolina) e por este motivo pode ser menos eficaz clinicamente. O tratamento com vancomicina é eficiente e conveniente quando há infecção estafilocócica disseminada ou infecção localizada de uma fistula em um paciente com doença renal irreversível que está sendo mantido por hemodiálise ou diálise peritoneal (MANDELL; PETRI, 1996).

A administração de vancomicina é uma alternativa eficiente para o tratamento de endocardite causada por estreptococos do grupo viridans nos pacientes que são alérgicos à penicilina. Associada a um aminoglicosídeo, ela pode ser usada para o tratamento de endocardites causadas por *Flavobacterium* e *Corynebacterium spp.* Como um agente oral, a vancomicina beneficia os pacientes com colite causada por bactérias produtoras de toxina como *Clostridium difficile*. Mais recentemente, a vancomicina tornou-se um importante antibiótico no tratamento de infecções suspeitas ou conhecidas por pneumococos resistentes à penicilina (MANDELL; PETRI, 1996).

### 2.3.5 Reações adversas

Entre as reações de hipersensibilidade induzidas pela vancomicina estão erupções cutâneas maculares e anafilaxia. Flebite e dor no local da infusão intravenosa são relativamente raras. Calafrios, erupções e febre podem ocorrer. A infusão intravenosa rápida pode causar uma variedade de sintomas, incluindo reações eritematosas ou tipo urticária, rubor, taquicardia e hipotensão. A ruborização externa pode ocorrer algumas vezes e é chamada “síndrome do pescoço vermelho” ou do “homem vermelho” (MANDELL; PETRI, 1996).

As manifestações colaterais mais significativas são a ototoxicidade e a nefrotoxicidade. Diminuição da acuidade auditiva, que em geral, embora nem sempre, é permanente, pode se seguir ao uso deste fármaco. A ototoxicidade está associada com concentrações extremamente elevadas da substância no plasma (60 a 100 mg/L). Outrora a nefrotoxicidade era bastante freqüente, contudo tornou-se um efeito colateral incomum quando doses apropriadas são utilizadas, condicionadas pela função renal e pela determinação dos níveis sanguíneos do antibiótico. Deve-se ter cuidado ao se administrar concomitantemente outras substâncias nefrotóxicas ou ototóxicas como os aminoglicosídeos ou a pacientes com diminuição da função renal (MANDELL; PETRI, 1996).

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

### **2.3.6 Farmacocinética da vancomicina em queimados**

A farmacocinética de muitos antibióticos está alterada no paciente queimado como resultado das alterações na função renal, débito cardíaco, ligação a proteínas séricas, volume plasmático e perda do fármaco através da queimadura. Os pacientes com queimaduras graves, geralmente necessitam de altas doses de antibióticos para manter as concentrações terapêuticas e é difícil prever a dose necessária, baseada na farmacocinética em outros pacientes (STEER, 1996).

Qualquer fator que influencie no clearance de creatinina, como doença cardiovascular, doença renal, diabetes mellitus, perfusão renal inadequada durante a ressuscitação, sepse e administração de agentes nefrotóxicos, irão alterar a farmacocinética de todos os fármacos administrados a estes pacientes, inclusive a vancomicina (WEINBREN et al, 1999).

Rybak et al (1990) avaliando 34 pacientes (10 queimados, 14 usuários de drogas injetáveis e 10 pacientes controles), demonstraram que o clearance da vancomicina, nos pacientes queimados era maior, em relação aos outros dois grupos de pacientes. Os autores recomendam que a dose diária da vancomicina deva ser reajustada em pacientes queimados, uma vez que a concentração sérica pode diminuir dramaticamente num curto período de tempo, após o final da infusão endovenosa.

Existem diversos mecanismos possíveis para o aumento da eliminação da vancomicina em pacientes queimados como aumento não renal da eliminação (particularmente através da superfície queimada), aumento da taxa de filtração glomerular, ou ainda alteração da ligação protéica (RYBAK, 1990).

Rice (1992), fazendo a correlação entre a nefrotoxicidade e a concentração de vale de vancomicina acima de 10mg/L recomenda manter a concentração sérica do fármaco em valor menor ou igual a 10 mg/L, excetuando-se os casos de infecção por bactéria tolerante, onde altas concentrações séricas são necessárias, o que pode predispor ao aparecimento de resistência ou falha no tratamento.

Estudos mostram que no paciente queimado a farmacocinética da vancomicina exhibe alterações como o aumento da depuração plasmática e diminuição de AUC; chegando a ser necessário um aumento de 78% na dose de vancomicina para atingir concentrações terapêuticas quando comparados ao não queimado (RYBACK et al, 1990).

Dell'Aquila et al (2004) relatou que após a administração de 500mg de vancomicina em paciente queimado, por infusão rápida, obteve alterações significativas na farmacocinética do antibiótico neste paciente: diminuição do tempo de meia vida do fármaco para 3,1 horas e aumento de quase seis vezes na depuração plasmática, o que resultou em uma concentração de 1,7mg/L na 6ª hora da administração do fármaco. Esta concentração está muito aquém da necessária para eliminar a bactéria, que é em torno de quatro vezes o CIM, o que contribuiu para falha terapêutica e para emergência de resistência bacteriana, frente a isso, considerou-se de suma necessidade do monitoramento de antibióticos neste grupo de pacientes.

Levando em consideração a complexidade da farmacocinética do paciente queimado e que a literatura é escassa relativamente a estudos farmacocinéticos comparativos neste grupo de pacientes é que propomos um

estudo de monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina, a fim de garantir uma terapêutica segura e eficaz.

### **2.3.7 Métodos bioanalíticos para determinação de vancomicina**

Dentre os métodos bioanalíticos disponíveis para a dosagem de antimicrobianos, temos o método microbiológico ou bioensaio; a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e métodos imunológicos como o radioensaio, (RIA), o imunoensaio de fluorescência (FIA) e a imunofluorescência polarizada (FPIA) (MATZKE, 1986).

Têm sido desenvolvidas várias técnicas de RIA, FPIA, FIA e CLAE. Em geral, estes métodos têm boa sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade em determinada faixa de concentração (0,6 a 128mg/L). Vários trabalhos têm sido feitos comparando estes métodos, mostrando que para laboratórios clínicos e pesquisa, os métodos FPIA e RIA tem a vantagem de serem mais rápidos e necessitarem de menor quantidade de amostra (MATZKE, 1986).

Já o CLAE, apesar de menos rápido que o método relatado acima, traz as vantagens de maior precisão e menor custo, uma vez que se tenha feito o investimento inicial do aparelho (TANAKA, 2002; FEBERBAUM, 2001; FURUTA, 2000; TRUJILLO,1999 e GREENE 1987). Além disso, o CLAE é considerado o método padrão ouro na determinação de concentrações séricas de vancomicina (TRUJILLO,1999).

### **3. Objetivo**

- Desenvolver e validar micrométodo bioanalítico para a determinação de vancomicina em plasma de pacientes queimados através de CLAE-UV.
- Efetuar o monitoramento das concentrações plasmáticas de vancomicina em pacientes grandes queimados através da análise em CLAE-UV.
- Realizar a modelagem farmacocinética da vancomicina administrada no tratamento de pacientes grandes queimados pela aplicação de softwares específicos promovendo embasamento para o ajuste de dose para farmacoterapia dose ajustada.

## **4.MATERIAIS E MÉTODOS**



## **4.1 Etapa Clínica**

### **4.1.1 Local do Estudo**

A etapa Clínica do estudo foi desenvolvida no Hospital Geral “Dr. José Pangella” de Vila Penteado, localizado na região noroeste da cidade de São Paulo, Brasil, referência para pacientes queimados pelo serviço público estadual, com capacidade operacional de 192 leitos, sendo 14 na Unidade de Queimados. A unidade tem área restrita e estruturada para assistência a pacientes queimados, contendo centro cirúrgico próprio, além de ambulatório e sala para atendimento de emergência aos pacientes que são encaminhados para o hospital. As etapas Analítica e Estatística foram desenvolvidas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Laboratório de Farmacologia Terapêutica – Unidade de Pesquisa Clínica do Departamento de Farmácia.

### **4.1.2 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Previamente à realização do estudo definiram-se os critérios de inclusão e exclusão, de acordo com protocolo de rotina do hospital, como segue:

#### **Critérios de Inclusão:**

- Pacientes do sexo masculino ou feminino com idade entre 16 a 65 anos.
- Apresentar pelo menos dois dos sinais e sintomas clínicos compatíveis com infecção em queimados, da lista abaixo, que tenham a necessidade de introdução de antimicrobiano sistêmico:
  - Febre (>38 °C) ou hipotermia (temperatura axilar /central <35 °C)

- Frequência cardíaca acima de 90bpm
- Frequência respiratória acima de 20 incursões respiratórias por minuto
- Condição mental alterada
- Íleo adinâmico ou com obstrução
- Intolerância à glicose
- Contagem de leucócitos periféricos totais elevada  $> 10.000$  células/mm<sup>3</sup>,  $> 15\%$  de neutrófilos imaturos (bastonetes) independente da contagem de leucócitos periféricos totais ou leucopenia com contagem de leucócitos totais  $< 4.500$  células/mm<sup>3</sup>
- Aumento parcial da espessura da lesão ou necrose total
- Mudança na coloração da lesão para o vermelho escuro, marrom ou violáceo
- Descoloração hemorrágica de tecido subescara
- Degeneração de tecido de granulação ou formação de nova escara
- Edema em pele não queimada, à margem da ferida
- Pigmento verde visível em gordura subcutânea
- Lesão nodular necrótica em pele não queimada
- Separação rápida, não esperada da escara
- Lesões vesiculares na cicatriz ou queimadura com cicatrização parcial da espessura
- Por critério de seu médico responsável, tenha suspeita de infecção.

- Fornecer consentimento livre e esclarecido, na impossibilidade de fornecer o termo, um representante legal pode fornecer o consentimento, de acordo com os requisitos da Instituição, determinada pelo Comitê de Ética em Pesquisa local.

### **Critérios de exclusão**

- Paciente gravemente neutropênico (contagem absoluta de neutrófilos  $< 500/\text{mm}^3$ ) ou com neutropenia grave durante o período de tratamento em estudo devido à quimioterapia prévia ou planejada ou paciente com HIV com contagem de CD4  $< 200$  nos últimos 6 meses
- Mulheres grávidas ou amamentando
- Admissão anterior em um estudo clínico
- Hipersensibilidade conhecida ou intolerância aos medicamentos em estudo ou aos excipientes de sua formulação.

### **4.1.3 Aspectos Éticos**

Este protocolo foi submetido à apreciação dos Comitês de Ética em Pesquisa da FCFUSP e Hospital Geral de Vila Penteado, sendo aprovada sua realização sem restrições. Os pacientes foram informados sobre todos os detalhes que cercam o estudo proposto e forneceram o termo de consentimento de participação livre e esclarecido (TCLE) por escrito previamente a realização do protocolo clínico (Apêndice).

## 4.2 Procedimento Clínico

### 4.2.1 Casuística

No período de agosto de 2006 a março de 2007, foram acompanhados 9 pacientes na unidade de queimados do Hospital Geral de Vila Penteado “Dr. José Pangella”. A idade média foi de 28 anos, sendo cinco pacientes (55,5%) do sexo feminino (Quadro 1).

A superfície corpórea queimada total, nestes pacientes, variou de 25 a 85,0%, com média de 46,2%, sendo o fogo o agente responsável pela queimadura, em 8 pacientes (Quadro 1).

**Quadro 1** – Características individuais dos pacientes investigados

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC* (kg/m <sup>2</sup> )	SCQT** (%)	Agente da queimadura
MPS	M	39	75	1,75	24,5	45	Fogo
FLP	M	47	56	1,68	19,8	40	Eletricidade
TJS	F	25	55	1,68	19,5	45	Fogo
CGS	F	17	70	1,65	25,7	85	Fogo
MALA	F	46	76	1,60	29,7	33	Fogo
DAMS	F	19	57	1,57	23,1	25	Fogo
EAS	F	21	58	1,60	22,7	47	Fogo
NNS	M	17	65	1,70	22,5	48	Fogo
WSC	M	21	78	1,80	24	48	Fogo
Média		28	65,5	1,67	23,5	46	
(IC95%)		(18-37)	(58-73)	(1,60-1,72)	(21-26)	(33-59)	

\* índice de massa corpórea

\*\*superfície corpórea queimada total

A vancomicina foi administrada a nove pacientes na dose de 2g diários através de infusão rápida de 1g durante 1 hora, obedecendo ao regime posológico de administração de 12/12 horas. Todos os pacientes utilizaram algum antimicrobiano associado à vancomicina; em 6/9 pacientes utilizou-se associação ao cefepime e em 3/9 utilizou-se o imipenem. Adicionalmente na consulta ao prontuário registrou-se que em três pacientes além do cefepime ou imipenem associou-se também a anfotericina B.

O monitoramento ocorreu após um período médio de 26 dias após o acidente com queimadura, 13 dias após introdução da vancomicina e após 8 dias do início da cirurgia. Quadro 2.

**Quadro 2 – Intervalo de tempo entre monitoramento e os seguintes eventos:  
acidente com queimadura; introdução da vancomicina e última cirurgia**

Paciente	acidente com queimadura (dias)	início da terapia (dias)	última cirurgia (dias)
MPS	35	21	19
FLP	60	40	25
TJS	10	3	0
CGS	10	3	(*)
MALA	20	4	4
DAMS	22	3	6
EAS	34	30	13
NN	22	12	6
WSC	18	4	0
	26	13	8
Média (IC95%)	(13-37)	(3-24)	(1-15)

(\*) sem cirurgia

#### 4.2.2. Medicação, regime de dose e protocolo de administração

Utilizou-se a vancomicina (ampola), VANCOCINA CP® ELI LILLY DO BRASIL LTDA. A disposição cinética da vancomicina pela administração de doses múltiplas através de infusão intermitente bem como o estudo de monitoramento das concentrações plasmáticas após infusão intermitente (infusão rápida de 1 hora), foi avaliada através de protocolo realizado em pacientes queimados, com indicação clínica para uso deste antimicrobiano, conforme protocolo de administração de antimicrobianos em queimados do Hospital Geral de Vila Penteado descrito no quadro abaixo.

**Quadro 3** - Administração de antimicrobianos ao paciente queimado

Antimicrobiano	Dose diária (g)	Regime posológico
Vancomicina	2	1g (2x ao dia), infusão de 1 hora
Cefepime	6	2g (3x ao dia), infusão de 10 minutos
Imipenen	2-4	0,5 g (4x ao dia), infusão de 15 minutos
		1g (3 x ao dia)
		1g (4x ao dia)

#### 4.2.3 Coleta de amostras sanguíneas

Coletaram-se sete amostras sanguíneas nos períodos 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas do início da dose da manhã de vancomicina, administração intermitente através de infusão rápida durante 1 hora. Cada amostra de sangue foi coletada de

cateter venoso, e transferida para tubos contendo EDTA sódico, seguido de mistura por inversão (3 vezes). O plasma foi obtido por centrifugação a 3000rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente e armazenada em congelador (20°C, negativos). O transporte das matrizes biológicas sob refrigeração foi realizado em veículo oficial do hospital e encaminhamento juntamente com a documentação e requisição de exame para cada paciente para a realização das Etapas Analítica e Estatística no Laboratório de Farmacologia Terapêutica, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

#### **4.2.4 Monitoramento da vancomicina plasmática**

O monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina foi realizado através da aplicação de método bioanalítico para determinação do fármaco no plasma dos pacientes queimados, detalhado na Etapa Analítica.

### **4.3 Etapa Analítica**

#### **4.3.1 Reagentes, soluções tampão e padrões de referência**

Foram utilizados os solventes, grau cromatográfico, nos procedimentos de precipitação das proteínas e análise quantitativa do fármaco. A água ultra pura obtida através dos sistemas MILLIPORE (São Paulo, Brasil), foi utilizada na preparação da solução tampão para a fase móvel de cromatografia, na limpeza da tubulação e coluna analítica bem como na regeneração do cromatográfico líquido. Toda a vidraria, e demais materiais utilizados na análise do antibiótico e na cromatografia foi lavada com ácido



clorídrico 50% seguindo o procedimento operacional padrão do Laboratório de Farmacologia Terapêutica/ FBF, FCF-USP. Foi efetuada a monitorização do pH da fase móvel através de medidor de pH com eletrodo específico.

Utilizou-se como padrão de referência a vancomicina (cloridrato), sal sódico, padrão primário AWS 72C (96,7%, m/m) fornecida pela ELI LILLY DO BRASIL LTDA

Como padrão interno, utilizou-se a cefuroxima, sal sódico, padrão primário AWS 72C (96,7%, m/m) fornecida pela GLAXOSMITHKLINE (GREENFORD, UK).

Os sais dos padrões de referência utilizados foram armazenados em recipiente com tampa, ao abrigo da luz e da umidade, mantidos a temperatura entre 22° e 24°C seguindo o procedimento operacional padrão do Laboratório de Farmacologia Terapêutica/ FBF, FCF-USP.

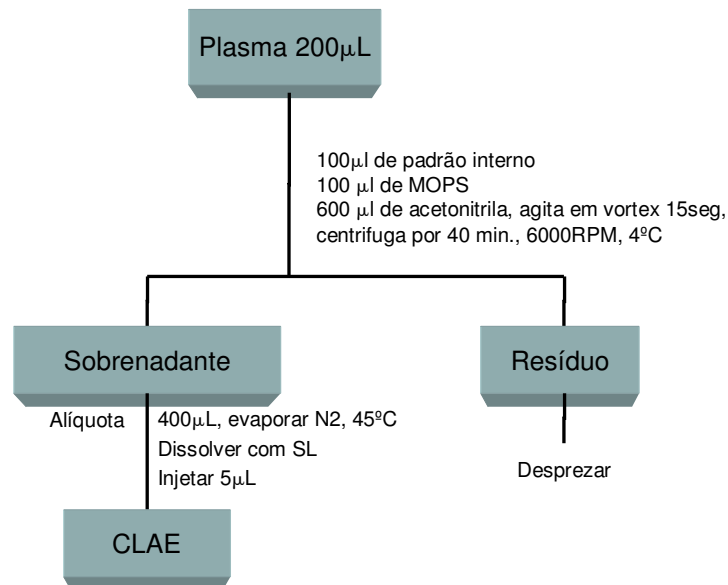
#### **4.3.2 Procedimentos laboratoriais**

As concentrações de vancomicina no plasma foram determinadas através do método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com o procedimento validado e otimizado no laboratório.

A partir de uma solução estoque de vancomicina na concentração de 1mg/mL, em água ultra pura, foram realizadas diluições em pool de plasma, reação sorológica negativa, procedente do banco de sangue HCFMUSP, fornecendo sete concentrações na faixa de 1,5 – 100mg/L.

### 4.3.3 Procedimento de purificação da vancomicina de plasma

Em tubos de eppendorf, foram adicionados 100 $\mu$ L de cefuroxima (padrão interno) na concentração de 100mg/L (preparado a partir da diluição de 1mg de cefuroxima em 10ml de água ultra pura), 200 $\mu$ L de plasma, 100 $\mu$ L de solução estabilizante de MOPS (ácido 3 N-morfolinopropano sulfônico) e 600 $\mu$ L de acetonitrila, seguido de homogeneização em agitador tipo vórtex, durante 15 segundos, para precipitação homogênea das proteínas do plasma. Após agitação, as amostras foram centrifugadas a 6000g por 40 minutos a 4<sup>o</sup> C. Volumes de 400 $\mu$ L do sobrenadante foram transferidos para tubos cônicos de 10ml para evaporação total do solvente, concentrando o extrato à secura, sob corrente de nitrogênio à 45<sup>o</sup>C. O resíduo foi reconstituído com 200 $\mu$ L de solução de lavagem (acetonitrila:água, 8:2, v/v) e volumes de 5  $\mu$ L foram injetados automaticamente no cromatógrafo.

**Fluxograma 1. Quantificação da Vancomicina plasmática. Análise por CLAE-UV****Condições Instrumentais**

- Coluna: Supelcosil, C18 (250 x 4,6mm, 5µm), Supelco (Bellefonte, PA, USA)
- Fase Móvel: Tampão acetato 0,075M, pH=5,0 : acetonitrila (92:8 v/v)
- Fluxo: 0,8mL/minuto
- $\lambda = 230\text{nm}$

#### 4.3.4 Análise Cromatográfica

Utilizou-se o cromatógrafo líquido SHIMADZU (Kyoto, Japão) constituído por bomba LC-10 AD VP, Autosampler SIL10A VP, detector UV SPD-10AVP, operando no UV em 230nm e registrador-integrador CR6A para o registro dos cromatogramas.

Realizou-se a análise quantitativa da vancomicina em sistema cromatográfico constituído por coluna Supelcosil® C18 (250x 4,6mm, 5 $\mu$ m) (SUPELCO, Bellefonte, PA, USA) e fase móvel binária (tampão acetato 0,075M, pH=5,0: acetonitrila 92:8, v/v) na vazão de 0,8ml/min.

As amostras de plasma dos pacientes foram analisadas paralelamente a padrões de referência e controles internos de qualidade para a quantificação do antimicrobiano: vancomicina no plasma com a finalidade de ajuste de dose e individualização da terapia antimicrobiana.

## **4.4 Validação do Procedimento Analítico**

Os parâmetro de validação, de acordo com a RE 899 de 2004 (BRASIL, 2004), para a análise quantitativa da vancomicina são: especificidade, limite de detecção e quantificação, linearidade, curva de calibração, recuperação absoluta, precisão intra e inter-dias e exatidão intra e inter-dias, estabilidade, bem como a robustez do método analítico. Os resultados obtidos de acordo com o método proposto (fluxograma 1), foram expressos através da média e desvio padrão para a padronização cromatográfica.

### **4.4.1 Limite de Detecção e Quantificação**

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, foi definido como 0,5 vezes o limite de quantificação. Por outro lado, limite quantificação representa a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis (<20%) sob as condições experimentais estabelecidas.

Os limites de detecção e quantificação foram determinados baseados na análise de 10 replicatas.

### **4.4.2 Linearidade**

Para verificar a faixa de linearidade do método foram adicionados ao pool de plasma, solução padrão de vancomicina (1g/L) e realizadas diluições sucessivas para se obter concentrações de 1,5 a 100,0 mg/L (n=2).

#### **4.4.3 Curva de calibração**

Adicionaram-se ao pool de plasma, soluções de padrão de vancomicina, para se obter as concentrações 1,5; 3,0; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0mg/L. As análises dos adicionados e do branco foram realizadas conforme os procedimentos descritos no Fluxograma referido anteriormente (Item 4.3.3), utilizando a equação da reta obtida através da regressão linear para cálculo das concentrações de vancomicina nas amostras. Uma curva de calibração diária foi preparada para análise de cada lote de amostras.

#### **4.4.4 Controles Internos de Qualidade**

Prepararam-se controles internos de plasma adicionadas de vancomicina nas concentrações de 4,5mg/L, 45,0mg/L e 90,0mg/L (baixo, médio e alto respectivamente). Para cada lote analisado de amostras de pacientes, tanto os padrões quanto os controles internos (alto médio e baixo) foram injetados no dia, intercalando-se os controles internos de qualidade com as amostras procedentes dos pacientes. Uma corrida foi aceita quando pelo menos seis dos nove controles mostraram um desvio comparado com o seu valor nominal menor que 15% (para os controles altos e médios) e menor que 20% (para o controle baixo). Uma vez aprovada, a curva de calibração foi utilizada para a quantificação de vancomicina nas amostras coletadas dos pacientes estudados neste protocolo clínico.

#### 4.4.5 Estabilidade (curta, média e longa duração)

Amostras do pool de plasma com concentrações 6,25; 25,0 e 100,0 mg/L de vancomicina foram preparadas e armazenadas em alíquotas (500 $\mu$ L) até serem analisadas, nas seguintes condições:

- Estabilidade do analito na matriz biológica após 3 ciclos de congelamento e descongelamento (n=12).

As amostras foram purificadas através da precipitação de proteínas, concentradas a secura em corrente de nitrogênio (B.M. 37°C) até resíduo, o extrato seco foi dissolvido com 200  $\mu$ L de solução de lavagem, transferido para microvials e injetado no cromatógrafo após serem congeladas e descongeladas três vezes, por períodos de duas horas de congelamento e duas horas de descongelamento.

- Estabilidade na bandeja (rack) do injetor automático durante corrida analítica do dia (n=2).

Durante a corrida analítica de um lote de amostras, foi acrescentado à bandeja de análise do injetor automático duas séries de amostras nas 6 concentrações referidas, no início e final da bandeja para análise das amostras.

Os resultados dos testes de estabilidade foram expressos na forma por variação percentual da concentração final determinada, em relação ao valor nominal.

#### 4.4.6 Robustez

A robustez do método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicando sua confiança durante o uso normal. Foi determinada baseada na utilização de duas colunas analíticas C18 da mesma marca e lotes diferentes e pequenas variações na proporção dos constituintes e no fluxo da fase móvel, após análise de 3 replicatas, os resultados foram expressos como uma função do coeficiente de variação. A influência da variação da temperatura ambiente foi excluída do estudo uma vez que a temperatura do laboratório é monitorada duas vezes ao dia e mantida a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ .

#### 4.4.7 Precisão

Amostras do pool de plasma com concentrações 6,25mg/L, 25,0 mg/L e 100,0 mg/L de vancomicina foram preparadas e em seguida analisadas em um mesmo dia para determinar a precisão intra-dia, e em três dias para determinar a precisão interdias (n=2). Os resultados foram avaliados em função do coeficiente de variação (CV%), não se admitindo valores superiores a 15%, calculado pela seguinte equação:  $CV = DP/CMD \times 100$ , onde: DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada.



#### 4.4.8 Exatidão

Amostras do pool de plasma com concentrações 6,25mg/L, 25,0mg/L e 100,0mg/L de vancomicina foram analisadas e a exatidão foi calculada pela tendenciosidade (bias) de acordo com a equação abaixo (n=2):

$$\text{Exatidão \%} = \frac{\text{Diferença entre os valores obtido e nominal}}{\text{valor nominal}} \times 100$$

#### 4.4.9 Recuperação absoluta e relativa

Avaliou-se a recuperação absoluta da vancomicina nas amostras de plasma pela comparação da concentração obtida pela análise amostras contendo padrão de vancomicina submetidas ao processo de extração, e comparadas aquelas submetidas a injeção direta de padrão.

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Área do padrão extraído}}{\text{Área do padrão não extraído}} \times 100$$

## 4.5 Análise Farmacocinética

A disposição cinética da vancomicina, administrada através da via intravascular, é avaliada aplicando-se modelo monocompartimental aberto com base no delineamento da coleta de amostras sanguíneas após cada administração do fármaco, utilizando os pares de dados C X T e o software PK Solutions 2.0 (Non Compartment Data Analysis software, Ashland, OH, USA).

Belli e col. (2000) e Dell'Áquila (2004) sugerem que o modelo monocompartimental seja adequado e aplicável a rotina de ajuste de dose tanto no paciente queimado como no paciente pós-cirúrgico com sepse.

A meia vida de eliminação ( $t_{1/2\beta}$ ) foi determinada na fase de decaimento ou reta terminal (log C versus T) pelo método gráfico, ou seja, através do cálculo do tempo para a redução da concentração em 50%. O cálculo da constante de velocidade de eliminação ( $K_{el}$ ) foi realizado dividindo-se 0.693 pela respectiva meia-vida. A área sob a curva ( $AUC_T$ ) foi estimada pelo método dos trapezóides no intervalo entre doses. As equações, bem como as unidades e descrição dos parâmetros, que foram referidos anteriormente, estão reunidos no quadro.

**Quadro 4** – Farmacocinética da vancomicina em grandes queimados

Parâmetro	Unidade	Definição	Equação
$C_{MAX}^{SS}$ (pico)	mg/L	Concentração máxima	dado obtido
$C_{MIN}^{SS}$ (vale)	mg/L	Concentração mínima	dado obtido
$t_{(1/2) \beta}$	h	Meia-vida de eliminação	$0,693/K_{el}$
$K_{el}$	$h^{-1}$	Constante de velocidade	$\ln C_1 - \ln C_2 / T_2 - T_1$
$AUC^{SS}_T$	mg/L.h	Área sob a curva ( $\square$ )	trapezóides
$CL_T$	mL/min.kg	depuração plasmática	$Dose/AUC^{SS}_T$
$Vd$	L/kg	volume de distribuição	$CL_T/K_{el}$

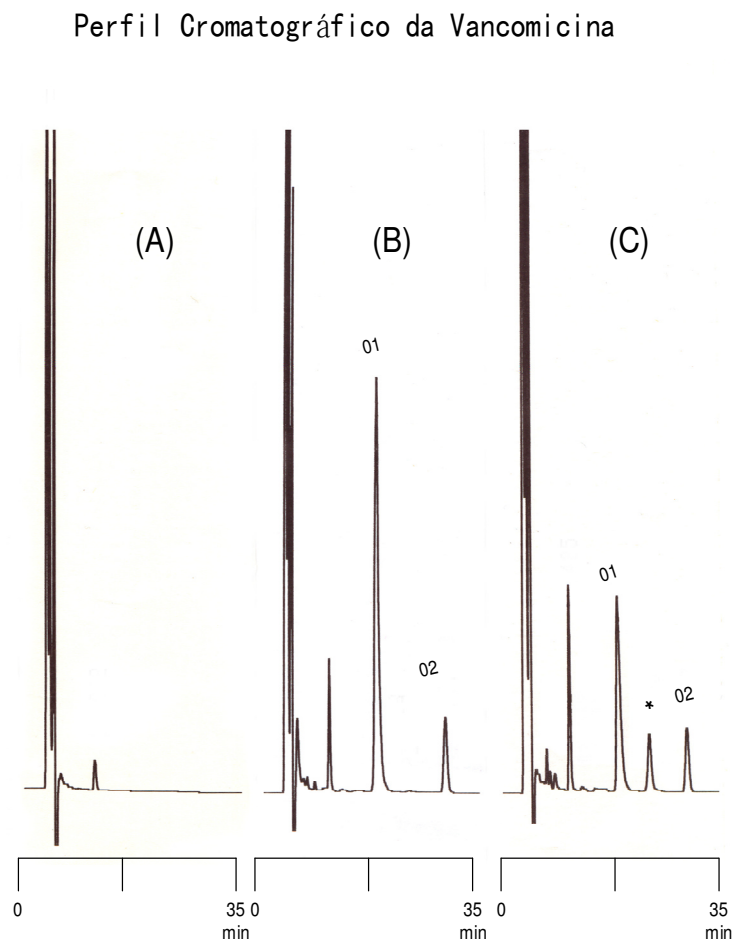
#### 4.6 Análise Estatística

A análise foi baseada no estudo de uma população de grandes queimados durante período para a alocação de pacientes, com sepse e indicação de vancomicina. Na estatística descritiva empregou-se o Microsoft Excell, Office for Windows, versão 2000, para análise dos resultados. Relativamente a população de pacientes grandes queimados, pela estatística descritiva determinaremos a média, mediana, desvio padrão da média, intervalo de confiança 95% (IC95%), valores máximo e mínimo para cada parâmetro obtido ou estimados.

## **5. Resultados**

## 5.1 Validação do método analítico

A validação da metodologia analítica foi realizada após otimização dos procedimentos e determinação dos tempos de retenção dos fármacos envolvidos vancomicina e cefuroxima. Após corrida analítica registramos boa sensibilidade e seletividade do método o que possibilita uma análise segura da concentração da vancomicina (Figura 1).



**Figura 1** - Perfil cromatográfico (CLAE-UV) da vancomicina em plasma. Cromatogramas: (A) branco (B) extrato plasma de padrão (10 mg/L) (C) extrato de plasma paciente. Picos e tempo de retenção (minutos) 1) Vancomicina: 18 min. 2) Cefuroxima (PI) 28 min. \* Cefepime (antimicrobiano utilizado associado a vancomicina)

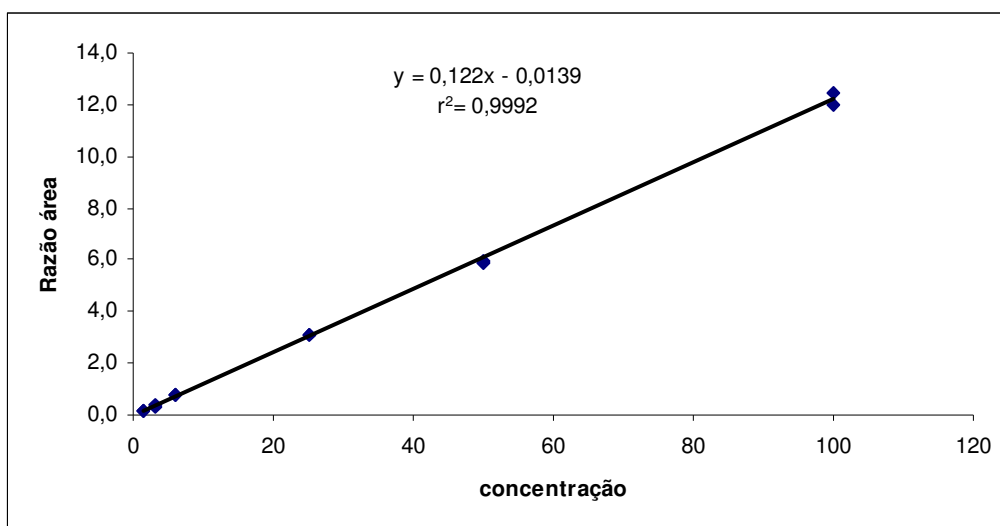
### 5.1.1 Limite de quantificação e limite de detecção

No método utilizado, após diluições sucessivas, foram obtidos um limite de quantificação de 1,5mg/L (CV=14,2%) e um limite de detecção de 0,75mg/L.

### 5.1.2 Linearidade

Obteve-se boa linearidade (1,5 a 100,0mg/L) conferindo ao método, segurança para a determinação da vancomicina, uma vez que as concentrações plasmáticas obtidas ao término da infusão, não ultrapassaram o limite superior da faixa investigada.

Vale ainda ressaltar, que o coeficiente de correlação obtido ( $r=0,9992$ ) confere ao método uma regressão linear adequada para os valores obtidos dentro da linearidade (Figura 2).



**Figura 2** – Curva de Linearidade da Vancomicina em plasma, duplicatas, (1,5 a 100,0mg/L)

### **5.1.3 Curva de calibração**

Diariamente, preparou-se uma curva de calibração (1,5-100,0 mg/L) e os controles internos (baixo:4,5 mg/L, médio 45,0 mg/L e alto 90,0 mg/L) para o lote de amostras de cada paciente. Os extratos procedentes da purificação dos padrões foram injetados previamente a cada lote de amostras de pacientes e controles internos de qualidade. Os controles internos analisados em triplicata para a concentração considerada (alta, média ou baixa) foram intercalados na bandeja entre as séries de amostras dos pacientes investigados.

A curva de calibração diária foi aceita a partir dos controles internos analisados em triplicata, com a rejeição de no máximo três dos nove controles preparados, nunca sendo dois controles da mesma concentração.

#### 5.1.4 Estabilidade

- Após 3 ciclos de congelamento

A estabilidade foi avaliada após três ciclos de congelamento/descongelamento utilizando matrizes biológicas (padrões) com concentrações 6,25; 25,0 e 100,0mg/L (valor nominal) de vancomicina fornecendo resultados expressos em função da média e desvio padrão da média, na tabela abaixo:

**Tabela 1:** Estabilidade da vancomicina após 3 ciclos de congelamento (n=2)

Valor Nominal	Obtido		Obtido		Obtido	
	1º Ciclo	* (%)	2º Ciclo	* (%)	3º Ciclo	* (%)
mg/L	mg/L	* (%)	mg/L	* (%)	mg/L	* (%)
6,25	6,7 (0,1)	6,96	6,6 (0,4)	5,69%	6,5 (0,2)	3,64
25,0	25,4 (0,2)	1,50	26,5 (2,3)	6,51%	25,5 (0,8)	2,20
100,0	101,9(2,5)	1,88	105,3 (0,4)	5,30	104,0(0,7)	4,03

\*Variação percentual do valor obtido relativamente ao valor nominal, média(DP)



- Estabilidade da vancomicina na bandeja do injetor automático

A estabilidade da vancomicina foi avaliada durante a corrida analítica do lote de amostras na bandeja (rack) do injetor automático. O fármaco apresentou-se estável durante o período de 24 horas e os resultados são referidos na Tabela 2.

**Tabela 2:** Estabilidade da vancomicina durante a corrida analítica (n=2)

<b>Valor Nominal</b>	<b>Valor Obtido (Média ± DP)</b>	<b>Variação* (%)</b>
6,25 mg/L	6,5 ± 0,1	3,28
25,0 mg/L	25,0 ± 0,3	0,82
100,0 mg/L	97,6 ± 12,2	8,62

\*Variação percentual do valor obtido relativamente ao valor nominal pela análise após cada ciclo de congelamento por 24 horas seguido de descongelamento

### 5.1.5 Robustez

A robustez do método foi avaliada através da utilização de diferentes colunas analíticas C18 e variações de composição nos constituintes da fase móvel, forneceu resultados que foram expressos em função de coeficiente de variação sendo equivalentes a 6,9% e 9,1%, respectivamente. A influência da variação de temperatura ambiente foi desconsiderada uma vez que a temperatura no Laboratório é monitorizada duas vezes ao dia, sendo mantida em 21+/-2°C.

### 5.1.6 Precisão e exatidão

A avaliação da precisão e exatidão intra-dia e inter-dias apresentou os resultados descritos na Tabela 3.

**Tabela 3:** Precisão e Exatidão intradia e interdias da vancomicina (n=2)

Valor nominal	Precisão	Exatidão
	intradia	intradia
mg/L	CV%	%
6,25	1,10	94,10
25,0	0,60	98,70
100,0	0,20	98,00
Média ± DP	0,63 ± 0,45	96,93 ± 2,48
	interdias	interdias
6,25	2,00	93,23
25,0	2,07	94,13
100,0	0,33	96,70
Média ± DP	1,47 ± 0,98	94,69 ± 1,80

CV%: coeficiente de variação, exatidão expressa através do erro sistemático

### 5.1.7 Recuperação absoluta e relativa

O método mostrou-se com boa recuperação relativa (102,6%), e absoluta 95,7% para o fármaco pela análise de três concentrações em replicatas. A tabela 4 reúne os parâmetros da validação do método bioanalítico para determinação de vancomicina em plasma e aplicação no monitoramento de pacientes grandes queimados.

**Tabela 4:** Parâmetros obtidos para validação de método bioanalítico da vancomicina.

<b>Parâmetros</b>	<b>Unidade</b>	<b>Vancomicina</b>
Linearidade	mg/L	1,5 – 100mg/L
Coeficiente de regressão linear		$r^2$ : 0,9988
Limite de detecção	mg /L	0,75
Limite de quantificação	mg /L	1,50
Recuperação		
Absoluta	(%)	95,7
Relativa	(%)	102,6
Precisão (média, DP)		
Inter dia	(%)	1,47±0,98
Intra dia	(%)	0,63± 0,45
Exatidão (média, DP)		
Inter dia	(%)	94,69 ±1,80
Intra dia	(%)	96,93±2,48
Robustez		Média
Diferentes colunas C18	(CV%)	6,9%
fase móvel (incremento 1% de acetonitrila na proporção)	(CV%)	9,1%

Abreviações - DP: desvio padrão da média; CV: coeficiente de variação

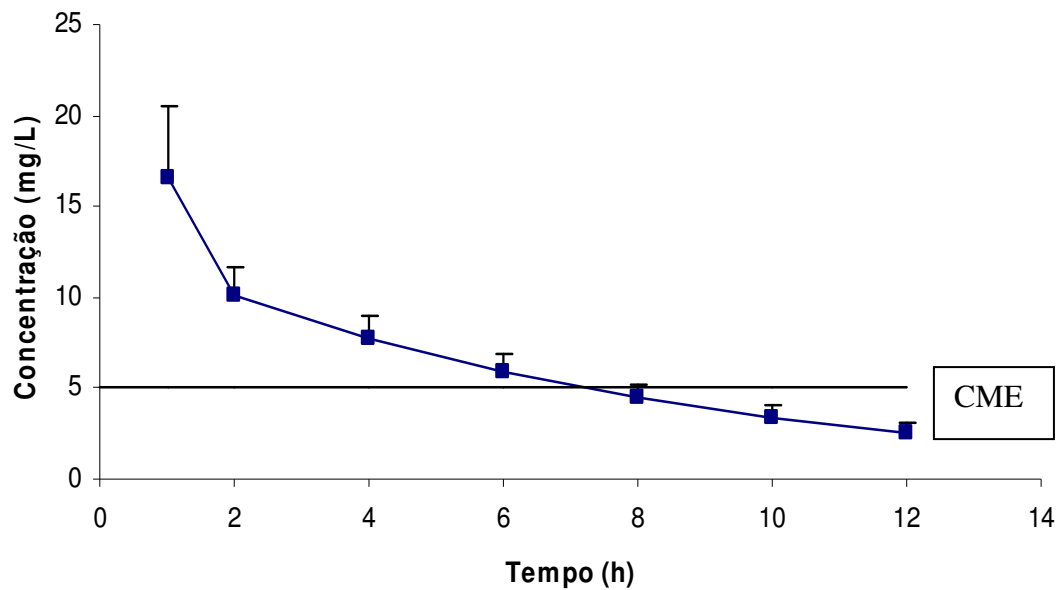
## **5.2 Monitoramento Terapêutico da vancomicina nos grandes queimados**

Aplicou-se o método bioanalítico validado no monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina em nove pacientes grandes queimados com indicação do uso deste antimicrobiano. Realizamos as análises diariamente utilizando seis calibradores, três controles internos (baixo, médio e alto em duplicata), e a seqüência de amostras dos pacientes em duplicata.

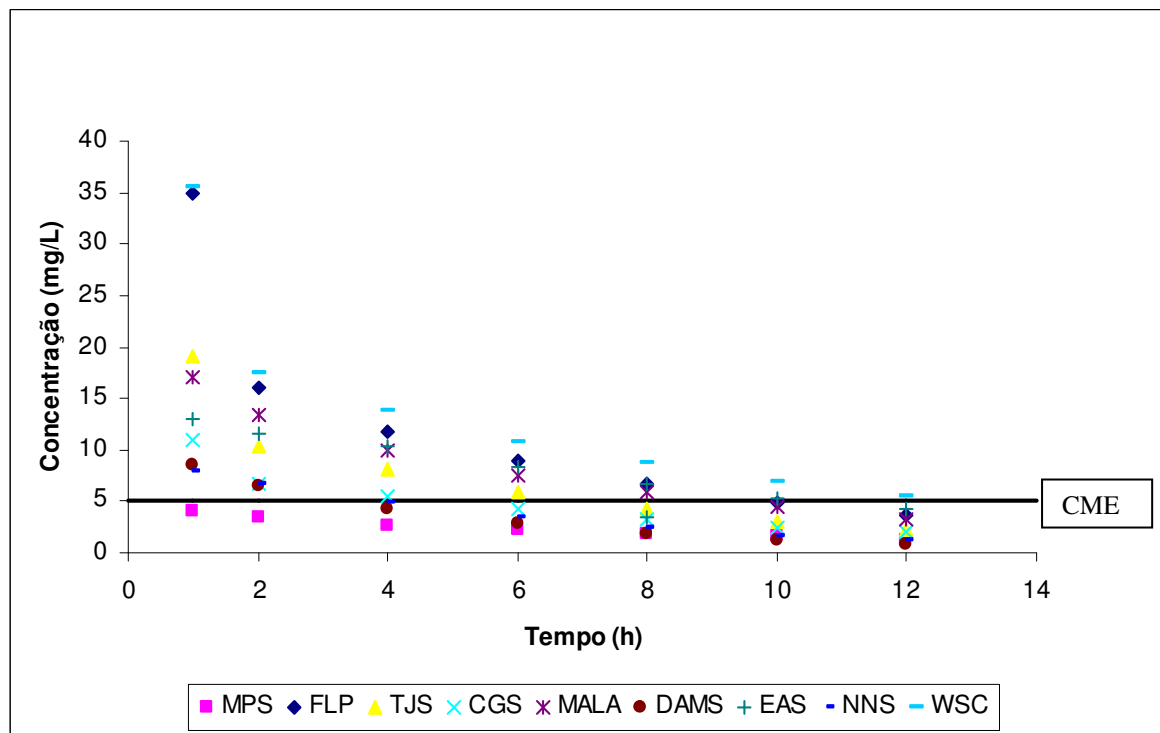
### **5.2.1 Curva de decaimento plasmático da vancomicina nos pacientes**

Os valores obtidos para a vancomicina no plasma, foram expressos através da média (IC95%) e as curvas de decaimento plasmático da vancomicina, dados populacionais e individuais estão representadas nas figuras 3 e 4, tabela 5.

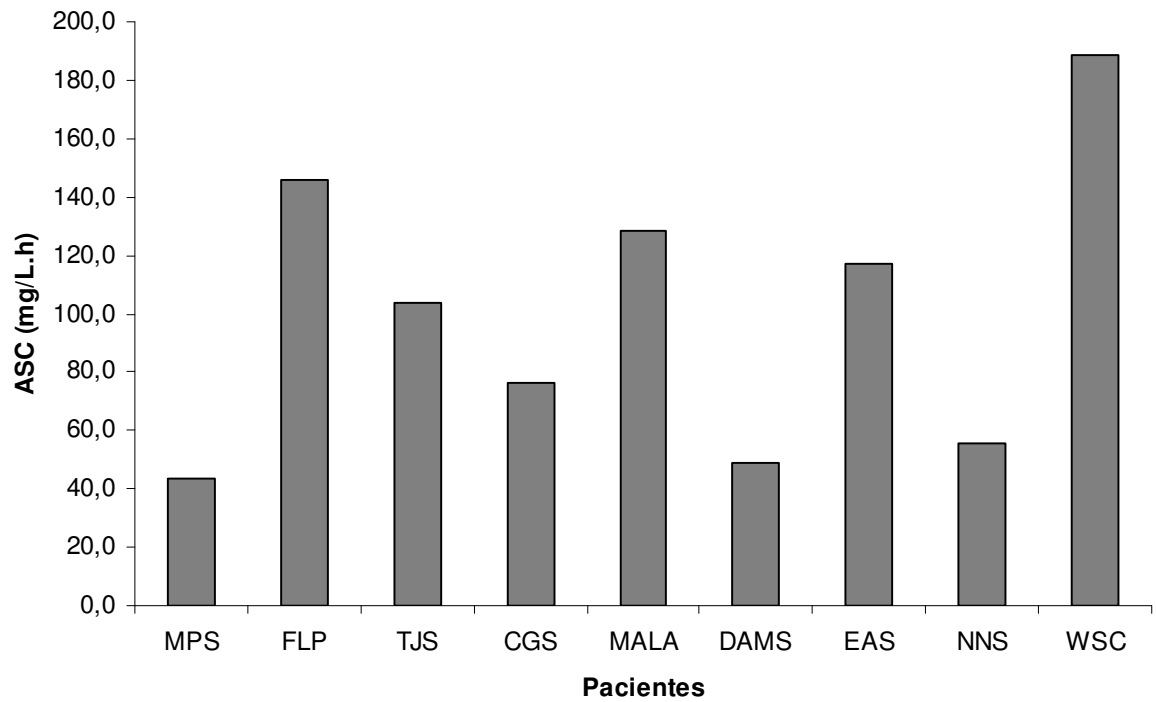
A área sob a curva do decaimento plasmático do fármaco em função do tempo ( $AUC_T$ ) após administração de 1g de vancomicina teve um valor médio de 81,2 (86,20 – 143,8). Os valores para todos os pacientes está representado na figura 5.



**Figura 3:** Curvas de decaimento plasmático C (mg/L) vs T, após administração através de infusão de 1g de vancomicina (1 hora) a pacientes queimados, Valores expressos através da média e erro padrão da média. CME: concentração mínima eficaz (5mg/L)



**Figura 4:** Curvas de decaimento plasmático C (mg/L) vs T após administração de vancomicina (1g/ 1hora) por infusão nos nove pacientes, comparados com a concentração mínima eficaz, CME (Concentração Mínima Eficaz = 5mg/L)



**Figura 5:** Valores estimados para área sob a curva do decaimento plasmático do fármaco em função do tempo ( $ASC_T, C$  vs  $T$ ) após administração de vancomicina (1g/ 1hora) por infusão nos nove pacientes. (Iniciais do paciente)

**Tabela 5:** Concentração plasmática da vancomicina obtida após administração da medicação ao término da infusão de 1g durante 1 hora, em cada período de coleta

Pacientes	Coletas						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
<b>MPS</b>	4	3,4	2,7	2,3	1,9	1,6	1,3
<b>FLP</b>	35	16	11,8	8,9	6,6	4,9	3,7
<b>TJS</b>	19	10,4	8,2	5,9	4,2	3	2,2
<b>CGS</b>	11	6,8	5,4	4,2	3,2	2,5	2
<b>MALA</b>	17	13,3	10	7,6	5,8	4,4	3,3
<b>DAMS</b>	8,5	6,4	4,3	2,9	1,9	1,3	0,8
<b>EAS</b>	11,5	10,3	8,3	6,6	5,3	4,3	3,4
<b>NN</b>	8	6,8	4,8	3,4	2,4	1,7	1,2
<b>WSC</b>	35,5	17,5	13,8	10,8	8,8	7	5,4
<b>Mediana (mg/L)</b>	11,5	10,3	8,2	5,9	4,2	3,0	2,2
<b>Média (IC95)</b>	16,6 (7,8-25,5)	10,1 (6,5-13,8)	7,7 (4,8-10,6)	5,8 (3,6-8,1)	4,5 (2,6-6,3)	3,4 (1,9-4,9)	2,6 (1,4-3,7)

Valores expressos através da mediana (mg/L), média e IC95%.

### 5.2.2 Disposição cinética da vancomicina em pacientes queimados

A disposição cinética da vancomicina foi avaliada nos nove pacientes após administração da medicação (1 hora após término da infusão) fornecendo os parâmetros dependentes (constante de velocidade de eliminação e a respectiva meia-vida) e modelo independentes (depuração plasmática e volume de distribuição aparente) que são descritos frente a faixa de referência na tabela 6 e ilustrados nas figuras 6 e 7.

**Tabela 6:** Disposição cinética da vancomicina no grupo de pacientes queimados

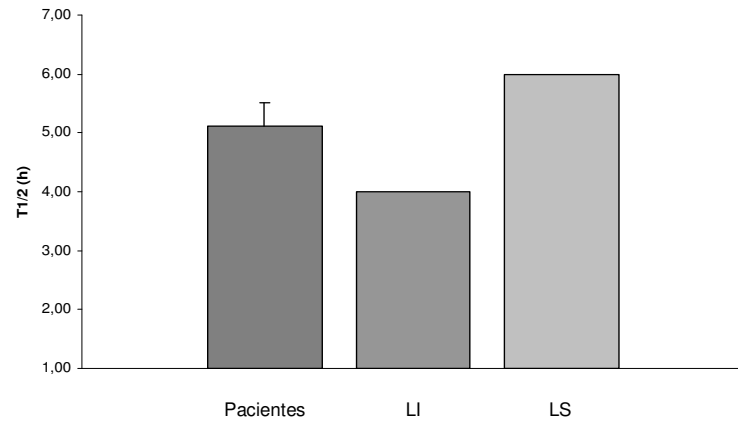
<b>Parâmetros</b>	<b>Unidade</b>	<b>Média (IC95%)</b>	<b>Valores de Referência*</b>
Kel	h-1	0,14 (0,117-0,117)	0,115-0,173
T1/2	h	5,12 (4,2-6,05)	4 – 6
Cl	ml/min/kg	3,23 (1,96-4,5)	1,3 – 1,5
Vd	l/kg	1,4 (0,79-2,01)	0,33 – 0,45
Vale	mg/L	2,59 (1,45-3,73)	5 a 10

Disposição cinética da vancomicina, valores expressos através da média e IC 95%.

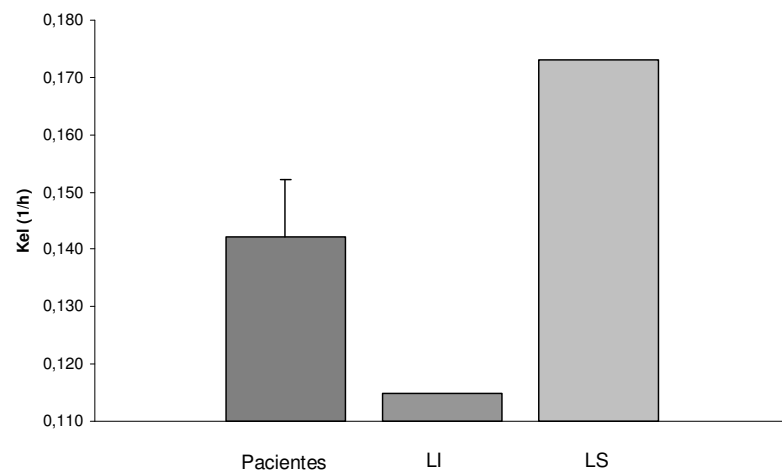
\*Fonte: LEADER WG et al. Pharmacokinetic optimization of Vancomycin Therapy. Clin. Pharmacokinetic. 1995, 25:327-342.



### Tempo de Meia Vida



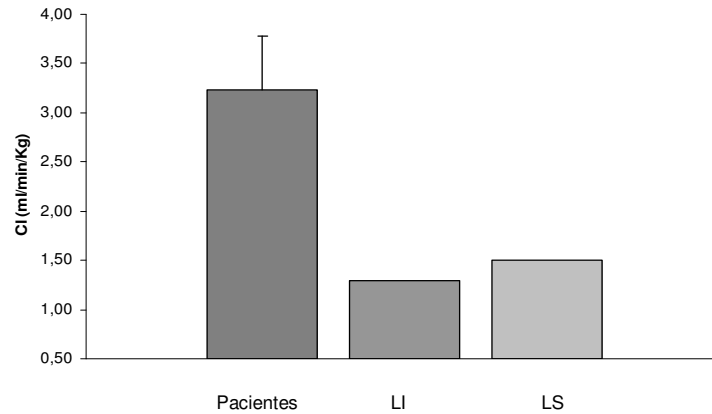
### Constante de Velocidade de Eliminação



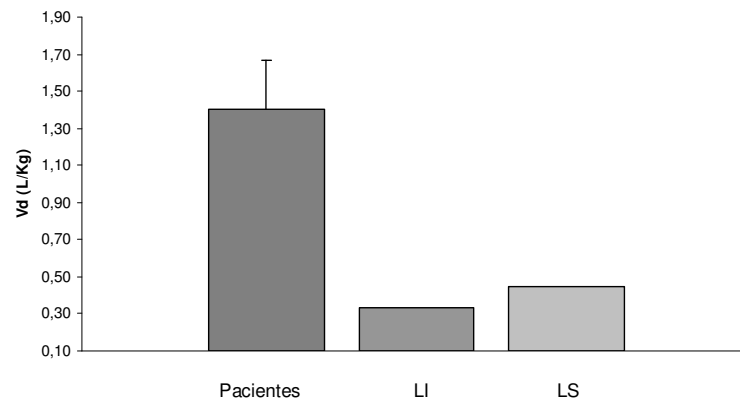
**Figura 6** – Valores estimados para a meia-vida e constante de eliminação dos nove pacientes. Resultados expressos através da média e erro padrão da média, frente aos limites inferior (LI)\* e superior (LS)\* da faixa de referência considerada.

\*Fonte: LEADER WG et al. Pharmacokinetic optimization of Vancomycin Therapy. Clin. Pharmacokinetic. 1995, 25:327-342.

### Depuração Plasmática



### Volume de Distribuição



**Figura 7** – Valores estimados para a Depuração plasmática e Volume de distribuição dos nove pacientes, expressa através da média e erro padrão da média, frente aos limites inferior (LI)\* e superior (LS)\* da faixa de referência da literatura.

\*Fonte: LEADER WG et al. Pharmacokinetic optimization of Vancomycin Therapy. Clin. Pharmacokinetic. 1995, 25:327-342.

## **6. Discussão**

## 6.1 Validação do método analítico

Diferentes métodos têm sido reportados para quantificar vancomicina em plasma, incluindo bioensaio, CLAE, radioimunofluorescência, imunoensaio por fluorescência polarizada (FPIA) e Imunofluorescência. A precisão e exatidão destes métodos têm sido comparadas em vários trabalhos (TANAKA, 2002; FEBERBAUM, 2001; FURUTA, 2000; TRUJILLO, 1999 e GREENE 1987).

Para laboratórios clínicos o método FPIA tem sido recomendado por ser rápido e automatizado, embora tenha um alto custo e apresente problemas de especificidade e seletividade, podendo superestimar concentrações séricas de vancomicina (TRUJILLO, 1999).

Já o CLAE, utilizado neste estudo, apesar de menos rápido que o anterior, traz as vantagens de maior precisão, especificidade, seletividade e menor custo, uma vez que se tenha feito o investimento inicial do aparelho (TANAKA, 2002; FEBERBAUM, 2001; FURUTA, 2000; TRUJILLO, 1999 e GREENE 1987). Além disso, o método desenvolvido em nosso estudo mostrou-se aplicável na identificação de cefepime, antimicrobiano frequentemente associado à vancomicina na terapêutica de pacientes grandes queimados, o que possibilita a identificação simultânea destes dois antimicrobianos.

Dentre os vários métodos que reportam a utilização da técnica de CLAE para quantificação de vancomicina plasmática (HOSOTSUBO, 1989; LI et al., 1995, LUKSA, MARUSIC, 1995; NAJJAR, AL-DHUWAILIE, TEKLE, 1995; DEL-NOZAL ET AL., 1996), as colunas de fase reversa do tipo C18, que optou-se por utilizar, são as preferidas em relação àquelas do tipo C8, na análise quantitativa de vancomicina, por meio de cromatografia líquida, apresentando bons resultados com relação à

seletividade e precisão dos resultados obtidos (SANTOS, 2001; FEBERBAUM, 2001; FAVETTA, 2000; LUZZAT, 2000; LUKSA, MARUSIC, 1995).

O volume de sangue exigido na coleta da amostra é crítico, uma vez que se trata de pacientes queimados em estado grave nas Unidades de Terapia Intensiva; assim sendo, o volume de plasma requerido, de 200mcl, para análise torna-se uma vantagem frente as metodologias reportadas anteriormente, que exigem volumes superiores a 0,5ml de plasma, tornando a monitoração plasmática de vancomicina pouco viável no paciente grande queimado, que geralmente tem acesso venoso limitado (LUZZAT, 2000; FARIM, 1997; LUKSA, MARUSIC, 1995 e GREENE 1987).

Destaca-se ainda a importância da extração do fármaco, que é determinante da eficiência na análise cromatográfica realizada, uma vez que alguns dos procedimentos anteriormente reportados para quantificação da vancomicina levam a redução da vida útil da coluna analítica em decorrência ou da injeção direta na matriz biológica no sistema cromatográfico ou, em consequência da alta vazão, com arraste de componentes na fase estacionária, que comprometem seriamente a utilização da coluna analítica reduzindo o período de uso (KITAHASHI, 2001; FURUTA, 2000; GHASSEMPOUS, 2000; LUZZAT, 2000; FARIM, 1997; LUKSA, MARUSIC, 1995 e GREENE 1987).

Considerou-se, ainda no método aqui descrito, o emprego de padrão interno na análise quantitativa, permitindo que perdas ocorridas nas etapas de purificação sejam corrigidas. Desta forma, métodos que não utilizam padrão interno se mostram em desvantagem (FAVETTA, 2000 e LUKSA, MARUSIC, 1995).

Ao analisarmos a robustez do método verificamos a reprodutibilidade do mesmo, que apresentou coeficiente de variação de 6,9% e 9,1% para a utilização de diferentes colunas analíticas C18 e variações no pH do tampão, respectivamente.

Além disto, a vancomicina mostrou-se estável, nas condições analisadas, para a estabilidade de curta duração (ciclo de congelamento e descongelamento) e estabilidade de tempo e condição da análise. É importante ressaltar que poucos estudos de estabilidade (LUKSA, MARUSIC, 1995 e GREENE 1987) e nenhum de robustez foram realizados nos trabalhos reportados anteriormente.

Desta forma, o método analítico aqui descrito para quantificação da vancomicina plasmática utilizando CLAE-UV é simples, sensível, específico, apresenta boa reprodutibilidade, viabilizando a determinação do fármaco nos pacientes grandes queimados que apresentam restrição no volume das amostras sanguíneas requeridas para o controle terapêutico.

A aplicação deste método permite a individualização de dose pelo controle terapêutico e modelagem farmacocinética para antibioticoterapia eficaz nos pacientes queimados portadores de infecção grave com indicação de vancomicina.

## 6.2 Monitoramento da vancomicina no grupo de pacientes queimados

A infecção é a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com queimaduras extensas. O paciente queimado é particularmente susceptível a complicações infecciosas secundárias a: perda da pele, primeira barreira de defesa contra microorganismos; presença de tecido desvitalizado, que fornece um meio favorável para o crescimento de microorganismos; e alterações no sistema imune que seguem a injúria termal. Estes pacientes podem ter não apenas infecções da ferida, mas também infecções sistêmicas e septicemia (BOUCHER, 1991).

A administração sistêmica de antimicrobianos é única alternativa para as complicações infecciosas que afligem o paciente queimado. Entretanto, as mudanças fisiopatológicas que se seguem a injúria termal afeta de forma significativa a disposição cinética dos fármacos nestes pacientes (BOUCHER, 1991; WEINBREN, 1999).

Os pacientes com queimaduras graves normalmente necessitam de altas doses de antibióticos para manter concentrações terapêuticas no plasma (STEER, 1996). Uma preocupação na terapêutica destes pacientes é que as sub-doses de antibióticos, além de não serem eficazes, podem levar ao surgimento de resistência bacteriana.

O MRSA (*Staphylococcus aureus* metilina resistente) é uma bactéria amplamente encontrada em feridas, podendo desenvolver infecção ou colonização, sendo que alguns pacientes podem se tornar cronicamente colonizados (Boyce et al, 1983; Mayhall, 1996). Nos pacientes queimados, sua frequência, é elevada, podendo ser um dos principais agentes diagnosticados, assim como a *Pseudomonas* spp. Em estudo anterior, realizado no Hospital Geral de Vila Penteado por Dell' Aquilla (2004), assim como no de Revathi et al (1998), o

MRSA foi o segundo agente mais encontrado na infecção da corrente sangüínea com 18,0% de freqüência, junto com a *Candida spp*, sendo superado apenas pela *Pseudomonas aeruginosa* em 27,0%.

Resultado semelhante ao encontrado por Santucci et al (2003) que encontraram *Staphylococcus aureus* em 24,0% e *Pseudomonas aeruginosa* em 18% de todas as infecções em uma unidade de queimados em estudo realizado no período de sete anos. Devido a esta alta prevalência de MRSA nas unidades de queimados, a vancomicina torna-se antimicrobiano de escolha para tratamento de infecções nestes pacientes. Sendo ainda utilizadas nos casos de infecções graves por microrganismos gram positivos, quando há impossibilidade de uso de beta-lactâmicos por motivos de alergia (WEINBREN,1999).

Isto criou a necessidade de avaliar de forma criteriosa os fatores que influenciam a farmacocinética da vancomicina. Trabalhos anteriores têm indicado que pacientes queimados exibem alterações na farmacocinética da vancomicina, quando comparado a pacientes não-queimados (RYBAK, 1990).

Segundo Boucher (1991) na tentativa de otimizar o tratamento de infecções em queimados, tem sido desenvolvidos estudos das alterações farmacocinéticas dos antimicrobianos nestes pacientes, mas o grande número de variáveis inter-individuais torna difícil a padronização de um esquema posológico, apontando para necessidade de monitoramento individual e para necessidade de estudos complementares.

No presente trabalho foi realizado um estudo farmacocinético da vancomicina em nove pacientes queimados. O monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina através de CLAE-UV forneceu os resultados de 16 mg/L  $\pm$ 11 ao término da infusão (pico, referência 20-40mg/L) e 2,6 mg/L  $\pm$  1,5) imediatamente a dose



subseqüente (vale, 5-10mg/L). Apenas um paciente atingiu concentração no vale de 5,4mg/L, todos os demais pacientes tiveram concentrações inferiores. Observou-se que já na 8ª hora após administração de 1g de vancomicina, 67% dos pacientes apresentavam concentrações abaixo de 5 mg/L.

Considerando que a vancomicina tem a ação bactericida e é tempo dependente, a sua concentração sérica deve estar acima do CIM em cerca de quatro vezes, sendo que a medida que esta decai abaixo desse valor a atividade bactericida é perdida. Portanto se o CIM de uma cepa sensível é 4mg/L, a concentração sérica mais adequada seria acima de 16mg/L (WEINBREN et al, 1999).

Em trabalho realizado anteriormente neste mesmo hospital (Hospital Geral de Vila Penteado) Dell' Áquilla reportou valores de 4,1 mg/L no pico e 1,7mg/L no vale, ambos situados bem abaixo da faixa de referência para um paciente grande queimado. Assim, fica mais uma vez documentada a necessidade de monitoramento da vancomicina plasmática nestes pacientes uma vez que os testes de determinação da concentração inibitória mínima mostraram cepas com CIM de 2mg/L. Apesar do baixo valor obtido para o CIM, a concentração plasmática de 1,7mg/L atingida no vale não seria suficiente para inviabilizar a bactéria, já que para isso seria desejável concentração de 4 vezes o CIM, ou seja, concentração ao redor de 8mg/L.

Garrelts; Peterie (1988) em estudo realizado com 9 pacientes, observou que foi necessária uma dose/diária de vancomicina maior em pacientes queimados que em não queimados; para atingir um vale de 8,1 mg/L foi necessário administrar 2800mg/dia, sendo que em um deles utilizou-se 3600mg/dia. Segundo o autor, uma vez que o mecanismo para explicar a

necessidade de maiores doses é ainda desconhecido, a recomendação da individualização da terapia, está embasada no monitoramento das concentrações plasmáticas (GARRELT; PETERIE,1988).

A partir das sete concentrações obtidas no intervalo de dose, aplicou-se o modelo de 1 compartimento aberto e estimaram-se os parâmetros da distribuição e da eliminação.

O volume aparente de distribuição, que expressa a medida da extensão desse processo mostrou-se elevado em cerca de 3,5 vezes,  $1,4 \text{ L/Kg} \pm 0,8$  frente a faixa de referência recomendada (referência  $0,33\text{-}0,45\text{L/kg}$ ). Tal resultado pode ser explicado em função da hiperhidratação oferecida ao paciente queimado, o que contribui para um maior seqüestro desse antimicrobiano hidrofílico da circulação sistêmica pelos compartimentos fluidos extravasculares, resultado semelhante foi obtido por Dailly (2003), em um estudo com 41 pacientes queimados que utilizaram ceftazidima.

O aumento do volume de distribuição também foi observado para o Fentanil, em trabalho realizado com 20 pacientes, onde o VD apresentou um aumento de quase 2 vezes em relação ao grupo controle. O autor atribui este aumento, a administração de fluidos no intuito de reverter o quadro de hipovolemia, que acontece nestes pacientes; ao aumento da permeabilidade capilar e extravasamento do fármaco para ferida (HAN, 2007).

Os parâmetros modelo dependentes estimados foram:  $K_{el}$  de  $0,142 \pm 0,033 \text{ h}^{-1}$  (referência  $0,116 - 0,173 \text{ h}^{-1}$ ) e meia vida biológica de  $5,0 \pm 1,2$  horas (referência 4 - 6 horas) dentro da faixa recomendada. A depuração plasmática nesses pacientes mostrou-se aumentada em cerca de 2,5 vezes,  $3,2 \pm 1,65 \text{ mL/min.kg}$  frente a faixa de referência ( $1,3 - 1,5 \text{ mL/min.kg}$ ).

Este aumento da depuração plasmática também foi reportado em outros trabalhos com vancomicina (RYBACK 1990; GARRELTS; PETERIE, 1988; BRATER et al, 1985).

Quando analisamos a meia vida biológica da vancomicina nos 9 pacientes estudados, observa-se que a média obtida se encontrava dentro dos limites esperados. Fry (1996) reportou ainda o aumento de volume de distribuição sem alteração da meia vida biológica da fármaco em mais de 50% dos casos investigados, provavelmente em função da hiper-hidratação para a reposição da perda hídrica.

Estes dados obtidos em concordância aos reportados anteriormente nos levam a indicação de que ocorrem importantes alterações na farmacocinética da vancomicina nos pacientes grandes queimados (GARRELTS; PETERIE, 1988; WEINBREN; 1999). De fato, os pacientes após o estudo, tiveram sua terapia individualizada requerendo doses elevadas de vancomicina para atingir concentrações séricas terapêuticas, conforme orientação de Garrelts; Peterie (1988).

É conhecido e recomendado que o paciente receba rigorosamente um volume de hidratação diário relativamente alto, tanto na fase aguda como na de manutenção, e que ocorre perda de fluido em alta extensão pela área cruenta. A vancomicina se liga aproximadamente 55,0% a albumina, e sugere-se que a perda de vancomicina se deva no caso desses pacientes queimados, à depuração plasmática do fármaco através dos rins somada àquela perda decorrente do extravasamento de fluido através da ferida, principalmente no período após a cirurgia de debridaç o (GARRELTS; PETERIE, 1988).

Com base nos resultados obtidos, recomendamos que a monitoriza o da concentra o plasmática da vancomicina seja realizada nos pacientes queimados

para alteração do regime posológico para evitar falência terapêutica e reduzir o risco de desenvolvimento de resistência bacteriana.

## **7. Conclusão**

- O método bioanalítico mostrou-se linear, preciso, exato e suficientemente sensível para o monitoramento das concentrações plasmáticas da vancomicina. Adicionalmente os estudos de estabilidade de bandeja e de curta duração através de ciclos sucessivos de congelamento e descongelamento, bem como os estudos de robustez indicam a aplicabilidade desse método no ajuste farmacoterapêutico de vancomicina nos pacientes grandes queimados.
- O monitoramento das concentrações plasmáticas dos pacientes evidenciou a necessidade de terapia dose ajustada para a garantia da eficácia em função do vale reduzido e as alterações farmacocinéticas nos pacientes ora investigados,
- Este estudo indica que as doses, regimes posológicos e tipo de infusão devam ser revistos com base no controle terapêutico dos pacientes em todas as fases da internação, utilizando a farmacocinética como ferramenta complementar.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AMBROSE PJ, WINTER ME. Vancomycin. In: Winter ME. *Basic clinical pharmacokinetics*. Philadelphia: Lippincott; 2004. p.451-76.

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

BELLI CA. Farmacocinética da vancomicina em pacientes no período pós operatório cardíaco. Dissertação de Mestrado pela Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2000.

BOLLERO D, CORTELLINI M, STELLAM, CARNINO R, IORIO M. Pan-Antibiotic Resistance and Nosocomial Infection in Burn Patients: Therapeutic Choices and Medico-legal Problems in Italy. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 2003, 16(4)

BOUCHER BA, KUHLE DA, HICKERSON WL. Pharmacokinetics of systemically administered antibiotics in patients with thermal injury. *Clin Infect Dis* 1992, 14:458-63

BOYCE JM, WHITE RL, CAUSEY WA, LOCKWOOD WR. Burn units as a source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *JAMA* 1983, 249:2803-7.

BRATER DC, BAWDON RE, ANDERSON SA, PURDUE FG, HUNT LJ. Vancomycin elimination in Patients with burn injury. *Clinical pharmacology Ther.* 1985, 39(6):631-34

COOK N. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. *Burns* 1998, 24:91-98.



COSGROVE SE, CARROLL KC, PERL TM. Staphylococcus aureus with Reduced Susceptibility to Vancomycin. *Clinical Infectious Diseases* 2004; 39:539-45.

CUI L, MURAKAMI H, KUWAHARA-ARAI K, HANAKI H, HIRAMATSU K. Contribution of a Thichened Cell Wall and Its Glutamine Nonamidated Component to the Vancomycin Resistance Expressed by Staphylococcus aureus Mu50. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy* 2000, Vol 44 (9): 2276-2285.

DAYLLY E, PANNIER M, JOLLIET P, BOURIN E. Population pharmacokinetics of ceftazidime in burn patients. *Clinical Pharmacology* 2003; 56:629-634.

DEL-NOZAL MJ, BERNAL JL, PAMPLIEGA A, MARINERO P, LOPEZ MI, COCO R. High-performance liquid chromatographic determination of vancomycin in rabbit serum, vitreous and aqueous humor after intravitreal injection of the drug. *J.Chromatogr. A., Amsterdam*, 1996, 727(2): 231-238.

DELL'AQUILA AM (2004). Dissertação de mestrado. Relação entre a concentração sérica da vancomicina e a concentração inibitória mínima do Staphylococcus aureus numa unidade de queimados. Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina.

DELL'AQUILLA A.M., MCCULLOCH J.A., MAMIZUKA E.M., SANTOS, PEREIRA C.A.P, Serum levels of vancomycin should be monitored in burn patients. *Burns* 2004;30:386-387.

FARIN D, PIVA GA, GOZLAN I, KITZES-COHEN R. A modified HPLC method for the determination of vancomycin in plasma and tissues and comparison to FPIA (TDX). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1997 (18): 367-372.

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

FEFERBAUM R, MACHADO JKK, DINIZ EMA, OKAY TS, SANTOS SRCJ, CECCON MEJR, KREBS VLJ, ARAUJO MCK, COSTA VAZ FA. Vancomycin monitoring in term newborns: comparison of peak and trough serum concentrations determined by high performance chromatography and fluorescence polarization immunoassay. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Méd. S. Paulo* 2001, 56(5):149-152.

FERNANDES T.A, RIBEIRO, N. *Infecção Hospitalar e Suas Interfaces na Área da Saúde*. Ed. Atheneu, 2000, V.1, p.657-667.

FONSECA DAC (2005). Dissertação de mestrado. Staphylococcus Aureus Resistente à Oxacilina em Montes Claros – MG: Caracterização Microbiológica e Epidemiológica. Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina.

FURUTA I, KITAHASHI T, KURODA T, NISHIO CO, MORISHIMA Y. Rapid serum vancomycin by high-performance liquid chromatography using a semipermeable surface packing material column. *Clinica Chimica Acta* 2000; 301: 31-39.

FRY D.E. The importance of antibiotic pharmacokinetics in critical illness. *Am J Surg* 1996;172(suppl 6A):20S-5S.

GARRELTS JC, PETERIE JD. Altered vancomycin dose vs. serum concentration relationship in burn patients. *Clin Pharmacol Ther* 1988;44:9-13.

GREENE SV, ABDALLA T, MORGAN S, BRYAN C. High-performance liquid chromatography analysis of vancomycin in plasma, bone, atrial appendage tissue and pericardial fluid. *Journal of chromatography* 1987, 417: 121-128.

GREENFIELD E, MCMANUS AT. Infectious complications: prevention and strategies for their control. *Nurs Clin North Am* 1997;32(2):297-309.

HAN T, HARMATZ BA, GREENBLATT DJ, MARTIN JAJ. Fentanyl Clearance and Volume of Distribution are Increased in Patients with Major Burns. *J Clin Pharmacology* 2007;47:674-680.

HIRAMATSU K, HANAOKI H, INO T, YABUTA K, OGURI T, TENOVER F.C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob. Chemother* 1997;40:135-6.

HOWARD PA, CANCIO LC, MCMANUS AT, GOODWIN CW, KIM SH, Pruitt Jr BA. What's new in burn-associated infections? *Current Surgery* 1999;56:397-405

HOSOTSUBO H. Rapid and specific method for the determination of vancomycin in plasma by high-performance liquid chromatography on aminopropyl column. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, Amsterdam. 1989; 487:421-427.

LEADER WG, CHANDLER MH, CASTINGLIA M. Pharmacokinetic optimization of Vancomycin Therapy. *Clin. Pharmacokinetic*. 1995; 25:327-342.

LOWY FD. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. *J. Clin. Invest.* 2003; 111:1265-1273

LUZZAT R, SANNA A, ALLEGRANZI B, NARDI S, BERTI M, BARISONI D, CONCIA E. Pharmacokinetics and tissue penetration of vancomycin in patients undergoing prosthetic mammary surgery. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000, 45: 243-245.

LUKSA J, MARUSIC A. Rapid high-performance liquid chromatography determination of vancomycin in human plasma. *Journal Chromatography B* 1995, 667: 277-281.

MACEDO, S.L.J, ROSA, C.S, MACEDO, S.C.K, CASTRO, C. Fatores de risco da sepse em pacientes queimados. *Rev. Co. Brás. Cir.* 2005; 32 (4):173-177.

MANDELL, G.L., PETRI, W.A. Antimicrobial agents: Penicilins, cefalosporins, and other  $\beta$ -lactam antibiotics. In: HARDMAN, J.G., LIMBIRD, L.E. (Eds.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics*. 9 ed., McGRAWHILL, 1996.

MARTINDALE *The Complete Drug Reference. Clin Pharmacokinetic* 32<sup>a</sup> ed. 1999

MATZKE GR, ZHANEL GG, GUAY DRP. Clinical pharmacokinetics of vancomycin. *Clin Pharmacokinet* 1986;11:257-82.

MAYHALL CG. Nosocomial burn wound infections. In: Mayhall CG. *Hospital Epidemiology and Infections Control*. Williams & Wilkins, Baltimore; 1996. p.225-36.

MOELLERING RCJR, KROGSTAD DJ, GREENBLATT DJ. Vancomycin therapy in patients with impaired renal function: a nomogram for dosage. *Ann Intern Med* 1981;94:343-6.

NAJJAR TA, AL-DHUWAILIE AA, TEKLE A. Comparison of high-performance liquid chromatography with fluorescence polarization immunoassay for the analysis of vancomycin in patients with chronic renal failure. *J. Chromatogr. B-Biomed. Appl.*, Amsterdam. 1995; 672 (2): 295-299.

OLIVEIRA GA, DELL'AQUILA AM, MASIERO RL, LEVY CE, GOMES MS, CUI L, ET AL. Isolation in Brazil of Nosocomial *Staphylococcus aureus* with Reduced Susceptibility to Vancomycin. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22(7):443-8.

PALMER-TOY DE. Therapeutic Monitoring of Vancomycin. *Arch Pathol Lab Med* – Vol 124, February 2000: 322-323.

PRUITT JR B.A, MCMANUS A.T, KIM S.H, GOODWIN C.W. Burn wound infections: current status. *World J Surg* 1998;22:135-45.

REVATHI G, PURI J, JAIN BK. Bacteriology of burns. *Burns* 1998;24:347-9.

RICE TL. Simplified dosing and monitoring of vancomycin for the burn care clinician. *Burns* 1992;18(5):355-61.

RODRIGUES GA (1992). Dissertação de mestrado. Epidemiologia do *Staphylococcus Aureus* Oxacilina-Resistente em uma Unidade de Queimados. Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina.

RYBAK MJ, ALBRECHT LM, BERMAN JR, WARBASSE LH, SVENSSON CK. Vancomycin pharmacokinetics in burn patients and intravenous drug abusers. *Antimicrob Agents Chemother* 1990, 34(5):792-5.

SANTOS CR, FEFERBAUM R, PAULA MLSA, BERTOLINE MA, OMOSAKO CEK, SANTOS SRCJ. Micrométodo para quantificação de vancomicina em plasma através da cromatografia líquida de alta eficiência. Modelagem farmacocinética simplificada na sustentação farmacológica de neonatos com sepsis. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001;37(1):87-93.

SANTUCCI SG, GOBARA S, SANTOS CR, FONTANA C, LEVIN AS. Infections in a burn intensive care unit: experience of seven years. *Journal of Hospital Infection* 2003;53:6-13.

SHAFFRAM SD. Drogas e Bactérias. In: PAGE C, CURTIS M, SUTTER M, WALKER M, HOFFMAN B. (Eds.). *Farmacologia Integrada*. 2 ed., Mamole, 2004.

SIAMANGA H. Burn Injuries – Treatment of Burn Patients Prior to Admission to the Emergency Department. *Annals of Burns and Fire disasters*. 2002 15(2)

STEER JA, PAPINI RPG, WILSON APR, DHILLON S, HICHENS, MCGROUTHER DA, FRAME JD, PARKHOUSE N. Pharmacokinetics of a single dose of Teicoplanin in Burn Patients. *The British Society for Antimicrobial Chemotherapy* 199; 37: 545-553.

TANAKA M, ORII T, GOMI T, KOBAYASHI H, KANKE M, HIRONO S. Clinical estimation of vancomycin measurement method on hemodialysis patient. *Yakugaku zasshi. Japan* 2002 122(4): 269-275.

TAVARES W. Resistência bacteriana. In: *Tavares W, editor. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos*. 2nd ed. São Paulo: Atheneu; 1996. p.43-100.

TRUJILLO TN, SOWINSKI KM, VENEZIA RA, SCOTT MK, MUELLER BA. Vancomycin assay performance in patients with acute renal failure. *Intensive Care Med* 1999, 25: 1291-1296.

TENOVER FC, WEIGEL ML, APPEUBAUM PC, MCDUGAL LK, MCALLISTER S, CLARK N, KILLGORE G, PATEL BJ, O'HARA OJ, JEVIT L, BOZDOGAN B. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolate from a Paciente Pennsylvania. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2004; 48(1): 275-280.

VALE SCE. Primeiro atendimento em queimaduras: a abordagem do dermatologista. *Anais Brás. Dermatologia*. 2005;80 (1).

WALSH TR, HOWE RA. The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol*. 2002; 56:657-75.

WEINBREN MJ. Pharmacokinetics of antibiotics in burn patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1999;44:319-27.





**TERMO DE CONSENTIMENTO****HOSPITAL GERAL “DR. JOSÉ PANGELLA” DE VILA PENTEADO**

(Instruções para preenchimento no verso)

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F

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

ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE .....

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

2. RESPONSÁVEL LEGAL .....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : .....SEXO: M  F

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

ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

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

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **USO DA VANCOMICINA NAS INFECÇÕES DE PACIENTES QUEIMADOS POR STAPHYLOCOCCUSS AUREUSS E EPIDERMIDES: MONITORAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS APÓS INFUSÃO INTERMITENTE**

2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Adriana Macedo Dell’Aquila (responsável clínico)

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO  RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

### III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

- 1. Justificativa e os objetivos da pesquisa:** Se o(a) senhor(a) apresentar sinais de infecção serão empregados antibióticos para o tratamento, isto é, medicações que visam tratar a infecção, conseqüente da lesão pela queimadura. Um dos antibióticos atualmente utilizados para esta finalidade chama-se VANCOMICINA. O objetivo do presente estudo é avaliar se este antibiótico, na dose e forma utilizadas, atinge quantidades satisfatórias no sangue. Será comparada também a forma de administração, isto é, no primeiro dia serão infundidas duas doses do remédio com intervalo de 12 horas e no dia seguinte será infundido o mesmo remédio com gotejamento contínuo nas 24 horas.
- 2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais:** o senhor receberá o antibiótico nas doses e nos momentos normalmente utilizados pelos pacientes com infecção devido a queimaduras. Serão coletadas amostras de sangue. No sangue será dosada concentração do antibiótico utilizando por métodos laboratoriais específicos.
- 3. Desconforto e riscos esperados:** o risco a que o senhor será submetido é mínimo e refere-se à coleta das amostras de sangue, procedimento que é feito de forma estéril, com material descartável, por profissionais altamente treinados. Poderá aparecer um arroxamento temporário no local da punção.
- 4. Benefícios que poderão ser obtidos:** após os resultados deste estudo, caso seja necessário, serão realizados ajustes nas doses e intervalos de doses de antibióticos utilizados no tratamento de infecções em queimados que deverá futuramente beneficiar muito outros pacientes.
- 5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo:** neste caso, não há procedimentos alternativos, pois se trata de procedimento rotineiro em pacientes queimados com infecção, sendo a VANCOMICINA um dos antibióticos previstos no protocolo de tratamento empírico de infecções com antimicrobianos em queimados.

**IV - ESCLARECIMENTOS DADO PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:**

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no Hospital Geral "Dr. José Pangella" de Vila Penteado , por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Em caso de intercorrências clínicas e reações adversas relacionadas ao estudo atual, entrar em contato com:

Dra. Adriana Macedo Dell'Aquila

*HOSPITAL GERAL "DR. JOSÉ PANGELLA" DE VILA PENTEADO*

End.: Avenida Petrônio Portela 1642, Freguesia do O – São Paulo – SP

Fone: 3976-9911 (R309)

**VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:****VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_\_.

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome Legível)

## **INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO**

### **(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)**

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

## APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**PROTOCOLO DE COLETAS****Ficha de Monitorização do Antimicrobiano no Queimado**

Nome do Paciente:		
RH:	Sexo:	Idade:
Data de Internação:		Data do Acidente:
SCQT:	IIIº Grau:	Última Cirurgia:
Agente da Queimadura:		Albumina na 1ª coleta:
Peso:		Hematócrito:
Altura:		Creatinina:

Medicamentos				
Antibiótico:			Posologia:	
Data:			Hora:	
Tempo de Infusão:	Intermitente		Contínuo	

	Coleta	Horário prev.	Horário colhido	COLAR etiqueta
Nome:	1ª Coleta (___ Hora)			
	2ª Coleta (___ Hora)			
	3ª Coleta (___ Hora)			
	4ª Coleta (___ Hora)			
	5ª Coleta (___ Hora)			
	6ª Coleta (___ Hora)			
	7ª Coleta (___ Hora)			

Abreviaturas: AM: antimicrobiano