

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**Terapia com polimixina B em infecção de corrente sanguínea por bacilos  
Gram-negativos multirresistentes**

**Marcelo Carneiro**

**Porto Alegre**  
**2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**Terapia com polimixina B em bacteremia por bacilos Gram-negativos  
multirresistentes**

Orientador: Prof. Dr. Alexandre P. Zavascki

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

**Porto Alegre  
2015**

## CIP - Catalogação na Publicação

Carneiro, Marcelo

Terapia com polimixina B em infecção de corrente sanguínea por bacilos Gram-negativos multirresistentes / Marcelo Carneiro. -- 2015. 72 f.

Orientador: Alexandre Prehn Zavascki.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Polimixina B. 2. Infecção de Corrente Sanguínea. 3. Bacilos Gram-negativos. 4. Acinetobacter baumannii. 5. Pseudomonas aeruginosa. I. Prehn Zavascki, Alexandre, orient. II. Título.

## DEDICATÓRIA

A minha esposa, Luciana Basso, pela parceria de mais de 20 anos e dedicação irrestrita aos nossos filhos, Pedro Basso Carneiro, Francisco Basso Carneiro (*in memoriam*) e Tiago Basso Carneiro.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Professor Dr. Alexandre P. Zavascki, que agradeço sinceramente pela oportunidade.

Ao Dr. Diego R. Falci, do Hospital Nossa Senhora da Conceição, pela parceria, um grande facilitador para a coleta de dados.

Ao Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial à bolsista Fabiane Veira, pelo auxílio no armazenamento de amostras biológicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, pelo acolhimento e atenção dispensados.

À equipe da Comissão de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar e da Direção Geral do Hospital Santa Cruz pela liberação quando solicitada e pela ausência em diversos momentos.

Ao curso de medicina da Universidade de Santa Cruz do Sul.

Aos colegas da Universidade de Santa Cruz do Sul, Dra. Lia Possuelo, Dra. Andreia Valim, Dra. Janine Rauber, Dr. Luciano Duro, Dra. Marília Dornelles, Dra. Jane Renner, Dra. Cristiane Machado, Dr. Claus Dummer, Dra. Cynthia Caetano, Dr. Leandro Muller e Dr. Juliano Breunig pelo apoio e incentivo.

A toda minha família, pelo apoio, incentivo e compreensão nas minhas ausências.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Alessandro Pasqualotto

Prof. Dr. Luciano Goldani

Prof. Dra. Lessandra Michelim

## RESUMO

**Introdução:** As polimixinas são consideradas as opções terapêuticas de resgate para o tratamento das infecções de corrente sanguínea (ICS) por bacilos Gram-negativos (BGN) com resistência aos carbapenens (CR) e a combinação com outro antimicrobiano tem sido utilizada apesar da falta de evidência clínica para esta prática.

**Objetivo:** Avaliar o uso de polimixina B intravenosa em monoterapia e em combinação com outro antimicrobiano para ICS por BGN CR.

**Pacientes e Métodos:** Foi um estudo de coorte retrospectivo em um hospital terciário, incluindo 99 pacientes. A comparação dos tipos terapias foi através do *propensity score*.

**Resultados:** A mortalidade global em 30 dias foi de 43,4%: 40,7% (24 de 59) e 47,5% (19 de 40),  $p=0,51$ , em pacientes que receberam combinação e monoterapia, respectivamente. A sepse grave/choque séptico no dia da ICS, alta pontuação do escore de bacteremia de Pitt e a presença de neoplasia como doença de base foram, independentemente, associados a maior mortalidade em 30 dias no modelo de regressão de Cox. A terapia combinada não foi significativamente associada a este resultado (hazard ratio, 0,70; intervalo de confiança de 95%, 0,36-1,36);  $p=0,29$ ). Apesar de não ser significativa, houve uma tendência a um efeito benéfico da associação em pacientes com ICS por BGN CR da família Enterobacteriaceae. Não houve diferença no desenvolvimento de insuficiência renal aguda em pacientes que receberam terapia de combinação comparado com os que receberam monoterapia.

**Conclusão:** Não houve diferença na mortalidade em 30 dias em pacientes com ICS por BGN CR tratados com polimixina B em combinação com outro antimicrobiano ou em monoterapia. A prática rotineira de combinar um segundo antibiótico em esquemas baseados em polimixinas, especialmente, se a bactéria apresenta resistência *in vitro* ao carbapenem, ainda necessita estudos clínicos adicionais.

**Palavras-chave:** polimixina; colistina; mortalidade; terapia de combinação; carbapenem; estudo de coorte

## ABSTRACT

**Background:** Polymyxins are usually the last resort therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CR GNB) bloodstream infections (BSIs), combination with another antimicrobial has been used despite the lack of clinical evidence supporting such practice.

**Objective:** We aimed to assess the use of intravenous polymyxin B in combination with another antimicrobial in comparison with polymyxin B as a single drug for CR GNB BSIs, adjusting for a propensity score for indication of combination therapy.

**Patient and methods:** We compared combination versus monotherapy with polymyxin B for CR GNB BSIs, adjusting for a propensity score for indication of combination therapy. It was a retrospective cohort study at a tertiary-hospital including 99 patients.

**Results:** The overall 30-day mortality was 43.4%: 40.7% (24 of 59) and 47.5% (19 of 40),  $P=0.51$ , in patients receiving combination and monotherapy, respectively. Severe sepsis/ septic shock at BSI onset higher Pitt bacteremia score and neoplasia were independently associated with higher 30-day mortality in a Cox-regression model. Combination therapy was not significantly associated with this outcome (Hazard Ratio, 0.70; 95% confidence interval, 0.36-1.36);  $P=0.29$ ). Although not significant, there was a tendency to a beneficial effect of combination in patients with Enterobacteriaceae CR GNB BSIs. There was no difference in development of AKI in patients receiving combination therapy compared to those receiving monotherapy.

**Conclusions:** There was no difference in 30-day mortality in patients with CR GNB BSIs treated with polymyxin B in combination with another antimicrobial compared with polymyxin B alone. The routine practice of combining a second antibiotic in polymyxins-based regimes, especially if the bacteria present in vitro resistance to the agent, still lacks support from clinical studies.

**Keywords:** polymyxin; colistin; mortality; combination therapy; carbapenem; cohort study



## LISTA DE FIGURA

FIGURA 1. Estratégia de busca das referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo.....	12
--	----

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APACHE - *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*

BGN – Bacilo Gram-negativo

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CLSI - *Clinical and Laboratory Standard Institute*

CR – Carbapenem Resistente

DD – Disco de Difusão

ESBL -  $\beta$ -Lactamases de Espectro Ampliado

ESKAPE - *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, and Enterobacter species*

EUCAST – *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

ICS – Infecção de Corrente Sanguínea

LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

MDR – *Multidrug-Resistant Bacteria*

MIC - Concentração Inibitória Mínima

MR – Multirresistente

PBP – Proteína Ligadora de Penicilina

PDR – *Pandrug-Resistant Bactéria*

PMB – Polimixina B

PubMed – Banco de dados desenvolvido pelo *National Center for Biotechnology Information*

SCOPE – *Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance*

SciELO – *Scientific Electronic Library Online*

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

XDR – *Extensively Drug-Resistant Bacteria*

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações.....	14
2.2 Infecção de corrente sanguínea .....	15
2.3 Mecanismos de resistência dos bacilos Gram-negativos.....	16
2.4 Polimixinas.....	19
2.5 Definição do perfil de sensibilidade das polimixinas.....	21
2.6 Resistência bacteriana e as opções terapêuticas.....	22
2.7 Terapia combinada de antimicrobianos.....	23
3 JUSTIFICATIVA.....	26
4 OBJETIVOS.....	27
4.1 Objetivo primário.....	27
4.2 Objetivos secundários.....	27
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
6 ARTIGO .....	45
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	71
ANEXOS.....	72

## 1 INTRODUÇÃO

As Infecções de Corrente Sanguínea (ICS) de origem hospitalar estão relacionadas fortemente à presença de cateteres intravasculares, especialmente, os vasculares centrais de curta permanência. O impacto social relacionado à morbimortalidade e ao incremento expressivo de custos hospitalares projetou esta síndrome infecciosa como uma prioridade governamental (1). A frágil capacidade de atuação das equipes assistenciais na prevenção de ICS de origem hospitalar acompanhada da emergência de bacilos Gram-negativos (BGN) multirresistentes (MR) é uma realidade que aumenta a morbidade, mortalidade e custos relacionados (2-8).

O diagnóstico adequado de ICS e a imediata prescrição de terapia empírica potente, baseada na epidemiologia local, com posterior ajuste conforme antibiograma, poderão contribuir para a redução da mortalidade (9, 10). A identificação dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de infecções por BGN torna-se importante para guiar as estratégias terapêuticas empíricas (11, 12). São fatores relacionados: colonização ou infecção prévia documentada por BGN MR (13), exposição prévia a antimicrobianos de amplo espectro, profilaxia com fluoroquinolonas em pacientes oncológicos (14), aumento da prevalência de pacientes imunodeprimidos por drogas (corticóides, imunossupressores reumatológicos, quimioterápicos), períodos de internação prolongados, uso de cateteres urinários e venosos centrais, ventilação mecânica e traqueostomia (7, 15, 16).

A terapêutica baseada na associação de antimicrobianos para BGN MR favorece uma ampla cobertura bacteriana com atividade sinérgica para BGN MR (6, 17). A reintrodução das polimixinas foi necessária, nesse contexto, para compor esta combinação, após a disseminação das carbapenemases (18-20). Durante a última década, a prescrição de polimixina B (PMB) e de colistina (polimixina E) favoreceram a sedimentação dessa classe como opções seguras e eficazes em pacientes graves (17, 20-24).

Os dados do *Brazilian SCOPE (Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance)* demonstraram uma frequência de 58,3% de BGN e uma mortalidade geral de 40%. As cefalosporinas, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e os carbapenens não possuem atividade contra mais de 50% de isolados testados de *Acinetobacter spp.*, sendo 76% (85/112) produtores de  $\beta$ -lactamases do tipo *bla<sub>OXA-23</sub>*. Mais de um terço das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* foram resistentes aos carbapenens. A detecção de *bla<sub>SPM</sub>* e *bla<sub>IMP</sub>* foi de 41% e 10%, respectivamente. Nas espécies de *Klebsiella spp.* verificou-se altos níveis de resistências em geral aos  $\beta$ -lactâmicos, mas taxa de 1,3% para meropenem (*bla<sub>KPC</sub>*). A presença de *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>* foi de 89%, 86% e 72%, respectivamente (7).

No entanto, a melhor alternativa é a prevenção das ICS, através da indicação criteriosa de procedimentos invasivos, uso de barreira máxima para a inserção do cateter venoso central, uso de clorexidina para o preparo da pele e no curativo são algumas evidências que diminuem a ICS associada a cateter venoso central (4). Estas medidas objetivam diminuir a probabilidade de formação de biofilmes e outras formas de aderência bacteriana que propiciam circunstâncias para a inativação de escassos antimicrobianos ativos e um cenário sem previsão de novas moléculas pela indústria farmacêutica (25, 26).

Portanto, necessita-se de evidências clínicas de qual melhor opção, monoterapia com PMB ou terapia combinada associando outro antimicrobiano, para o tratamento de ICS por BGN MR.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

Esta revisão está focada nos fatores de risco para infecção de corrente sanguínea por bacilos Gram-negativos tratados com PMB. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: LILACS, SciELO, PubMed e banco de teses da CAPES, no período de 2000 a 2014. Foram realizadas buscas através dos termos: “*Pseudomonas*”, “*Acinetobacter*”, “Enterobacteriaceae”, “polymyxin B”, “bacteraemia”, “mortality”, “multidrug resistance” e suas combinações apresentadas na Figura 1.

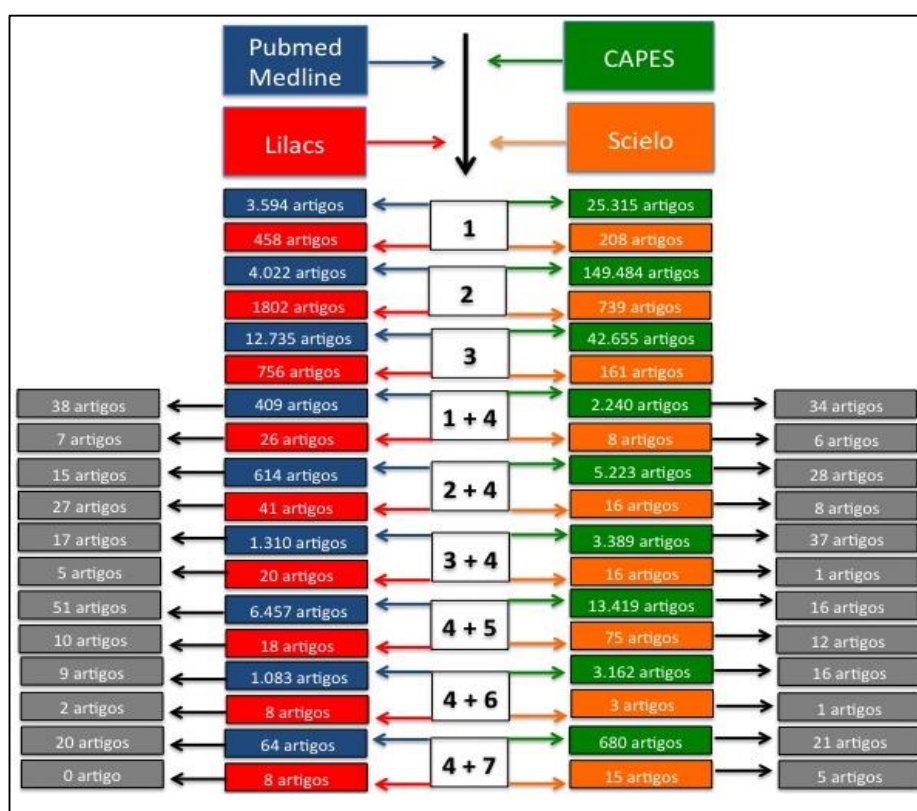


Figura 1 - Estratégia de busca das referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo.\*

\*Caixas em cinza indicam os artigos que foram incluídos na revisão de acordo com os critérios de inclusão. Este é o resultado da busca das palavras-chave e suas combinações: (1) “*Acinetobacter*”, (2) “*Pseudomonas*”, (3) “Enterobacteriaceae”, (4) “bacteraemia”, (5) “mortality”, (6) “multidrug resistance”, (7) “polymyxin B”.

## 2.2 Infecção de corrente sanguínea

A ICS de origem hospitalar pode ser classificada em primária ou secundária, isto é, sem ou com foco primário identificável, respectivamente. O envolvimento do cateter intravascular central é um fator importante que deve ser considerado (1). A utilização de critérios padronizados facilitam o entendimento e a uniformização diagnóstica pelos laboratórios e instituições hospitalares. Os critérios mais relevantes para o diagnóstico em adultos são: (a) paciente com uma ou mais hemoculturas positivas coletadas, preferencialmente, de sangue periférico, descartando o patógeno relacionado à infecção em outro sítio; ou (b) paciente com pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas: febre ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), tremores, oligúria (volume urinário  $<20$  ml/h), hipotensão (pressão sistólica  $<90$  mmHg) sem relação com infecção em outro sítio e pelo menos duas hemoculturas (em diferentes punções com intervalo máximo de 48 horas) com contaminante comum de pele (27).

A rápida detecção e identificação de BGN envolvidos na ICS são essenciais para uma terapia otimizada em pacientes com quadros sépticos, especialmente, em unidade de terapia intensiva (UTI) (28). A perda de oportunidades para se confirmar o agente causal poderá afetar negativamente o desfecho. No entanto, hemoculturas positivas com microrganismos contaminantes (15-30%) aumentam os custos, os eventos adversos relacionados ao uso de antimicrobianos e atrasam o tratamento do verdadeiro patógeno (29). Os BGN de importância clínica englobam os da família Enterobacteriaceae e os não fermentadores. As cepas resistentes de *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.* são reconhecidos como patógenos emergentes deste século, fazendo parte dos patógenos denominados “ESKAPE” (30). O surgimento das carbapenemases em combinação com aumento da expressão de bombas de efluxo e diminuição da permeabilidade da membrana externa são os responsáveis pelos altos níveis de resistência aos carbapenens (31). As  $\beta$ -lactamases são os mecanismos de resistência importantes na clínica e foram agrupados conforme a estrutura molecular

(Classificação de Ambler) ou similaridade funcional (Classificação de Bush-Jacoby-Medeiros) (32, 33).

A família Enterobacteriaceae é caracterizada por BGN anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, fermentadores de glicose, oxidase-negativo e capazes de reduzir nitrato a nitrito. A presença de flagelos favorece a movimentação em muitas espécies. São células procarióticas, com estruturas extracromossomais, plasmídeos e ribossomos, no citoplasma (34, 35). As espécies de *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*, são frequentes em decorrência da alta incidência de infecções urinárias e as cepas de *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* devido a infecções relacionadas a procedimentos invasivos (36).

Os BGN não fermentadores são microrganismos aeróbios, não esporulados, que se caracterizam pelo fato de serem incapazes de utilizar carboidratos como fonte de energia através de fermentação, degradando-os pela via oxidativa. O gênero *Acinetobacter* inclui mais de 20 genoespécies e a bioespécie *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* é a mais prevalente. As infecções por *A. baumannii* e *P. aeruginosa* são de considerável impacto clínico, particularmente, devido a fatores de permanência ambiental (capacidade de crescimento em fontes simples de nitrogênio e carbono, além de resistir às mudanças de umidade no meio ambiente) (4). Estas características, em decorrência da patogenicidade, tornam *A. baumannii* um agente importante de colonização e contaminação ambiental, e *P. aeruginosa* agente de infecções em pacientes com maior tempo de permanência hospitalar (37).

### 2.3. Mecanismos de resistência dos bacilos Gram-negativos

A alta prevalência dos mecanismos de resistência enzimáticos tornou-se mundialmente endêmico, inclusive de controle incerto e improvável, visto a evolução dos mecanismos de resistência relacionados. As diferenças regionais da multirresistência bacteriana acentuam a necessidade de conhecimento epidemiológico local. A mortalidade e as opções terapêuticas são o foco de preocupação da maioria dos clínicos, visto a complexidade das informações sobre a genética bacteriana e a falta de novas drogas ativas e de estudos de segurança das melhores terapias que proporcionam um desfecho favorável (34).



As  $\beta$ -lactamases (por exemplo: TEM-1, TEM-2, SHV-1) hidrolisam, o anel  $\beta$ -lactâmico impedindo a ligação do antimicrobiano com a proteína ligadora de penicilina (PBP) e, conseqüentemente, impedindo a síntese da parede celular (38). Essas atuam em Gram-negativos e hidrolisam as aminopenicilinas, cefalosporinas de primeira geração, carboxipenicilinas e ureidopenicilinas. O uso de inibidores de  $\beta$ -lactamase (clavulanato, sulbactam e tazobactam) são capazes de ligarem-se irreversivelmente, a tais enzimas e na associação com alguns  $\beta$ -lactâmicos proporcionar um retorno da atividade bactericida. Desde o reconhecimento das primeiras enzimas a evolução foi rapidamente concebida e disseminada, principalmente, por codificação de plasmídeos ou transferíveis por conjugação a outras bactérias (39).

As  $\beta$ -lactamases de espectro ampliado (ESBL) possuem a característica de expandir a hidrólise a outros  $\beta$ -lactâmicos como as cefalosporinas de terceira e quarta geração e aos monobactâmicos (40). Outra evidência relevante é a associação de altos valores da concentração inibitória mínima (MIC) nas bactérias produtoras de ESBL. Portanto, o uso de cefalosporinas, monobactam e penicilinas com inibidores de  $\beta$ -lactamases mesmo que fenotipicamente sensível no antibiograma é desaconselhado (41). Os carbapenens, por sua vez, são considerados os agentes de primeira linha para o tratamento de bactérias produtoras de ESBL. A tigeciclina possui atividade *in vitro* e é uma opção terapêutica quando bem indicada (42). As ESBL do tipo CTX-M selecionam a resistência a outras classes como aminoglicosídeos, cloranfenicol, tetraciclina e sulfametoxazol/trimepropim.

As  $\beta$ -lactamases denominadas AmpC, serinoenzimas do tipo C, se codificam cromossomicamente e de forma induzida. Esse evento ocorre quando as bactérias são expostas a um  $\beta$ -lactâmico, desenvolvendo resistência a cefalosporinas de terceira geração. São encontradas no grupo denominado CESP, isto é, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella spp.*, e, entre outras Enterobacteriaceae, inclusive *A. baumannii* e *P. aeruginosa* (43). *Enterobacter cloacae* tem uma grande significância clínica devido a sua prevalência. A resistência à cefoxitina, diferente das ESBL, e uma frequente sensibilidade ao cefepime é um fenótipo encontrado. A sensibilidade pode ser verificada para a tigeciclina, aminoglicosídeos e sulfametoxazol/trimetropim (41).

A presença de plasmídeos codificadores de ESBL em isolados produtores de AmpC favoreceu o aumento da prescrição de carbapenems, considerado esquema de primeira linha. A produção de carbapenemases na família Enterobacteriaceae surgiu na última década e diminuiu a segurança empírica desta escolha (44). A descoberta de carbapenemases plasmidiais, do tipo *bla<sub>KPC</sub>*, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), com resistência a várias classes de antimicrobianos (penicilinas/inibidores de  $\beta$ -lactamases, cefalosporinas de terceira e quarta geração, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos) ampliou a problemática e, conseqüentemente a detecção laboratorial (44). Em 2009, uma nova metalo- $\beta$ -lactamase, a *new Delhi* metalo- $\beta$ -lactamase (NDM), foi descrita, dificultando as opções terapêuticas (45-54). É importante ressaltar que em *P. aeruginosa* a ação dos antimicrobianos no sítio alvo, PBP, é dificultado devido aos altos valores da MIC. A expressão de uma porina Opr D2 dificulta a entrada do imipenem. Se associado à hiperprodução de AmpC gera uma redução da sensibilidade, sendo possível a resistência ao imipenem e sensibilidade ao meropenem. O doripenem é uma alternativa mais atual (55).

A resistência aos aminoglicosídeos é decorrente da impermeabilidade da membrana, mas também a múltiplos sistemas de bomba de efluxo e de enzimas inativadoras. A resistência às fluoroquinolonas é, principalmente, devido a mutações dos genes *gyr A* e *par C* ou a bombas de efluxo (56).

A resistência às polimixinas é baixa e pode ser explicada devido ao seu reduzido *fitness* bacteriano, ou seja, a dificuldade de expressar o fenótipo de resistência devido ao gasto energético necessário para tal função (57). Ressalta-se que a resistência cruzada entre a PMB e a colistina é observada (58-62). Os possíveis fenótipos de resistência podem estar relacionados à resistência natural ou adaptativa. A resistência natural pode ser por alteração do DNA e a adaptativa quando ocorre o desenvolvimento da resistência após exposição à droga, podendo ser reversível na ausência da mesma (63). Ambos os mecanismos são caracterizados por modificação da membrana externa bacteriana, especialmente, através da alteração do lipídeo A do lipopolissacarídeo. Tal alteração resulta na mudança do potencial de membrana (reduz a negatividade) da superfície bacteriana e conseqüente diminuição da afinidade da polimixina com a membrana externa (17, 64). Em isolados de *K. pneumoniae* a presença de cápsula diminui a interação da droga com a parede bacteriana (5, 62, 65, 66). O aumento da problemática poderá

ocorrer quando a atividade das polimixinas for reduzida e não existirem outras opções terapêuticas disponíveis para o tratamento de infecções por BGN MR (59). Esta preocupação é uma realidade em todas as instituições hospitalares, pois ocorre um crescente consumo desta droga e ainda a prescrição em subdoses (60, 61).

Em *P. aeruginosa* foram descritos os sistemas PmrAB, PhoPQ e ParRS, que controlam a ativação do operon *arnBCADTEF*. Em *A. baumannii* o sistema PmrAB foi descrito, regulando a expressão do gene *pmrC*. A ativação da regulação gênica pelos fatores ambientais (altas concentrações de cálcio, baixas de magnésio, modificação do pH e presença de ferro) são responsáveis por tais mecanismos (67-75). O aparecimento de heterorresistência à colistina em isolados de *A. baumannii* foi descrito em diversos hospitais (22, 76-79) e em outros BGN (68, 80, 81). Em estudo do sul do Brasil, que analisou cepas de *A. baumannii* produtores de OXA-23 a presença de subpopulações com altos MICs para PMB foi comum, bem como grande nível de resistência adaptativa (79). A heterorresistência é conceituada quando surge uma subpopulação resistente em uma população de bactérias sensíveis à colistina. O motivo pode ser a presença de um grupo geneticamente distinto ou uma variação no sistema regulatório entre bactérias idênticas, favorecendo a expressão da resistência (74). A prévia exposição à colistina é considerada como fator de risco, selecionando bactérias com MICs mais elevadas (82).

Os seguintes conceitos ficaram definidos (83,84):

- a) *Multidrug-resistant (MDR) bacteria* – quando há resistência no mínimo a um antimicrobiano de três classes ativas;
- b) *Extensively drug-resistant (XDR) bacteria* - quando há resistência no mínimo a um antimicrobiano de todas as classes ativas, preservando atividade a duas ou menos;
- c) *Pandrug-resistant (PDR) bacteria* - quando há resistência a todos os antimicrobianos ativos;

## 2.4 Polimixinas

As polimixinas são antimicrobianos polipeptídeos catiônicos, que diferem por um aminoácido (D-fenilalanina na PMB e D-leucina na colistina), com atividade bactericida contra BGN, descobertas em 1947 e de uso abandonado na década de 70 devido a novas opções consideradas mais seguras (85). São produzidas pelo *Bacillus polymyxa* (86). A colistina é administrada (parenteral, oral e inalatória) sob a forma inativa de metanossulfonato de colistina e a polimixina B na forma sulfato (23). A classe possui atividade contra a maioria dos BGN. São exceções *Proteus spp.*, *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia pseudomallei*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* e *Providencia spp.*, que apresentam resistência intrínseca (98). O mecanismo de ação é por meio de uma interação eletrostática entre os polipeptídeos catiônicos e os lipopolissacarídeos aniônicos da membrana bacteriana. A remoção de moléculas de cálcio e magnésio, estabilizadores da parede celular, promove o aumento da permeabilidade e conduz a perda do conteúdo citoplasmático e morte bacteriana (87).

O conhecimento sobre a farmacodinâmica e da farmacocinética das polimixinas foram revisados, nos últimos anos, devido à necessidade de drogas ativas para o tratamento de infecções graves por BGN MR (17, 88). Para PMB o melhor perfil, relacionado à atividade bactericida, é o descrito pela área sob a curva sobre a MIC de 60, isto é, altas doses diárias de PMB demonstram melhor desfecho clínico (5, 89, 90, 91). A dose de ataque de 20.000-25.000 UI/Kg (infusão de duas horas) favorece uma concentração de 85-87% no primeiro dia de administração da PMB e recomendada, especialmente, em pacientes graves (61). As doses de manutenção deverão ser de 15.000 UI/Kg (infusão de 1 hora) de 12/12 horas. Um estudo de coorte retrospectivo brasileiro demonstrou que doses de PMB  $\geq 200$  mg/dia foram associadas à diminuição de mortalidade, na análise multivariada, no subgrupo bacteremia (n=53) e nas infecções microbiologicamente documentadas (n=212), confirmando os achados dos estudo *in vitro* e em animais (90).

A PMB é eliminada, principalmente, por vias não renais, e a depuração corporal total parece ser relativamente indiferente à função renal (23). Portanto, a dose não deve ser ajustada de acordo com o *clereance* renal (61). Naqueles pacientes sob hemodiálise veno-venosa contínua as evidências disponíveis demonstram que somente 5-12% da PMB foi removida, isto é, aumento da dose pode ser necessária (23).

Os eventos adversos das duas principais preocupações com a segurança com o uso das polimixinas injetáveis estão relacionadas à nefrotoxicidade e neurotoxicidade. O mecanismo exato de nefrotoxicidade não é bem compreendido, e a incidência é variável, de 0% a 53%, mas atualmente em níveis menores se comparados a estudos anteriores da década de 70 (87, 92-94). A dose diária total e a maior duração da terapia correlacionam-se com o aumento do risco de disfunção renal; no entanto, é geralmente reversível após a descontinuação da droga (48). A neurotoxicidade pode manifestar-se com parestesias e bloqueio neuromuscular, sendo reportada de 4% a 6% dos pacientes (94).

## 2.5 Definição do perfil de sensibilidade das polimixinas

A definição fenotípica, da resistência às polimixinas, pode ficar subestimada ou superestimada, dependendo da técnica microbiológica realizada. Os critérios interpretativos são diferentes se comparados aos indicados pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) e o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

No EUCAST, somente colistina é referenciada. *P. aeruginosa* é considerada sensível se  $MIC \leq 4$  mg/L e resistente quando  $MIC > 4$  mg/L. Para *A. baumannii*  $MIC \leq 2$  mg/L é sensível e  $MIC > 2$  mg/L é resistente. O CLSI oferece valores de referência para PMB e colistina. No entanto, somente para *Pseudomonas sp.* existe padronização do teste de difusão de disco (DD). Apesar disso, estudos demonstram que a metodologia de DD não apresenta acurácia para as polimixinas, independente da espécie bacteriana e, dessa forma, não deve ser utilizada pelos laboratórios clínicos para determinação da sensibilidade a essa classe de antibióticos (95-98). Infelizmente, devido às dificuldades encontradas na realização ou custo elevado dos testes dilucionais, a técnica de DD continua sendo realizada. A colistina para *P. aeruginosa* é considerada sensível se o halo na DD  $\geq 11$  mm e resistente se  $\leq 10$  mm (discos com 10  $\mu$ g de colistina) e a PMB sensível se o halo da DD  $\geq 12$  mm e resistente se  $\leq 11$  mm (discos com 300 UI de PMB). Uma  $MIC < 2$  mg/L é sensível e  $MIC \geq 8$  mg/L é resistente, para ambas polimixinas. Para *A. baumannii*, tanto a PMB quanto a colistina apresentam pontos de corte iguais, isto é,  $MIC \leq 2$  mg/L é sensível e  $MIC \geq 4$  mg/L é resistente (99, 100).

Para Enterobacteriaceae o EUCAST apresenta critérios interpretativos apenas para colistina, sendo  $MIC \leq 2$  mg/L sensível e  $MIC > 2$  mg/L resistentes (99).

A falta de consenso sobre os pontos de corte para a definição de resistência à PMB é um fator limitador importante a ser apreciado.

## 2.6 Resistência microbiana e as opções terapêuticas

Atualmente, a terapêutica antimicrobiana é selecionada a partir do perfil de sensibilidade provável pela epidemiologia local e o descalonamento, quando possível, após a confirmação da cultura.

O desfecho após a adequada terapia antimicrobiana para infecções por BGN ainda está indefinido devido a várias razões. Devemos considerar que: (a) muitos estudos são retrospectivos, pequenos e de um único centro; (b) a diferenciação entre colonização e infecção não é fácil, pois esta informação, na análise retrospectiva de prontuários, nem sempre está descrita adequadamente; (c) a utilização de antimicrobianos em um episódio infeccioso pode variar desde monoterapia à terapia combinada e a escolha ser direcionada a alguns fatores não mensuráveis e não controlados; (d) o atraso da terapia antimicrobiana adequada pode afetar a mortalidade; (e) os pacientes com infecções por BGN possuem diversas comorbidades e situações relacionadas a procedimentos que pioram o desfecho; (f) a coexistência de infecções polimicrobianas ou colonizações podem prejudicar o prognóstico e limitar o extrapolarmento dos resultados (101-106). Portanto, a necessidade de um tratamento eficaz, especialmente, em pacientes graves de unidades de tratamento intensivo e de queimados e em imunodeprimidos por quimioterapia ou transplante, após a perda da classe dos carbapenens torna-se crucial.

Em estudo que analisou ICS por *K. pneumoniae* CR demonstrou uma mortalidade de 72% contra 22% em pacientes com infecções pela mesma bactéria, mas em outro sítio de infecção (107). Este resultado é confirmado por outro estudo, inclusive relacionando readmissão hospitalar (101). São considerados fatores de risco para mortalidade para ICS por *K. pneumoniae* carbapanem resistente: escore de comorbidade de Charlson, Escore de bacteremia de Pitt, APACHE II e a idade (6,

101, 108, 109). Em estudo que analisou 215 pacientes, com ICS por BGN não-fermentadores, verificou-se que cirrose hepática, malignidade hematológica, pneumonia, choque séptico e infecções adquiridas na unidade de terapia intensiva foram fatores de risco independentes para a mortalidade (78).

Ilustrado pelo aumento mundial da resistência microbiana hospitalar discute-se protocolos terapêuticos para pacientes graves (110). No entanto, a dificuldade de escolha das opções é decorrente do acúmulo de mecanismos de resistência como  $\beta$ -lactamases de espectro estendido, carbapenemases, alterações de permeabilidade de membrana e bombas de efluxo (111). Apesar disso, o lançamento de novas drogas pela indústria farmacêutica não é proporcional, o que impulsiona a otimização farmacológica de drogas existentes (112). Neste cenário, a utilização das polimixinas ressurgiram e fazem parte de esquemas terapêuticos de resgate para diversas infecções associadas a serviços de saúde, apesar de resultados conflitantes de eficácia e segurança dos estudos (113).

## 2.7 Terapia combinada de antimicrobianos

O tratamento de infecções causadas por BGN MR é um desafio clínico. A necessidade de tratamento empírico com amplo espectro de cobertura está evidenciado em situações de sepse grave/choque séptico (114). Os estudos *in vitro* proporcionam resultados atraentes no ponto de vista de análises que são de difícil mensuração em estudos clínicos. A necessidade de uma terapia combinada para infecções por BGN CR baseia-se na *Cornerstone therapy*, ou seja, a associação de um antimicrobiano para a qual o organismo apresenta sensibilidade *in vitro* com um antimicrobiano adjuvante que pode ser sensível ou não. Esse adjuvante não precisa ser bactericida em monoterapia, mas com potencial benefício em otimizar a morte bacteriana ou prevenir resistência. São opções: os carbapenens, tigeciclina, fosfomicina, aminoglicosídeos e rifampicina (90). As polimixinas, neste contexto, são os agentes mais empregados para a *Cornerstone therapy*. A tigeciclina e os carbapenens são outras alternativas para essa finalidade.

A necessidade de utilização de carbapenens como droga adjuvante deve considerar algumas situações como altas doses e infusão estendida ou contínua. O

motivo é alcançar as metas farmacocinéticas/farmacodinâmicas, isto é, tempo de droga livre durante o intervalo de dose acima da MIC > 40% para bactérias com MIC para carbapenem entre 1 e 8 mg/l, proporcionando menores taxas de mortalidade, especialmente, em infecções por *K. pneumoniae* CR com MICs < 8 mg/l (melhor se MIC < 4 mg/l) (99, 115-117). Nos BGN não fermentadores os MICs são maiores (>32 mg/l), pois as carbapenemases são mais potentes e ocorre a adição de outros mecanismos de resistência, o que pode prejudicar os benefícios dessa classe como droga adjuvante no esquema com polimixinas (31).

Foram encontrados resultados positivos da atividade sinérgica, utilizando método *time-kill*, entre tigeciclina e colistina em oito cepas de Enterobacteriaceae produtora de KPC (*K. pneumoniae*, *E. coli* e *E. cloacae*, *S. marcescens*) (118, 119). Em contraponto, uma análise com 42 cepas de *K. pneumoniae* produtores de metallo- $\beta$ -lactamase demonstrou efeito antagônico em 56% das amostras colistina resistente, independente da sensibilidade ao carbapenem (120). Em análises retrospectivas, para Enterobacteriaceae CR, principalmente, *K. pneumoniae* produtor de KPC, verificou-se aspectos favoráveis para a terapia combinada. As combinações com colistina, PMB ou tigeciclina com carbapenem ou carbapenem com aminoglicosídeo foram analisadas. Os esquemas contendo carbapenem foram associados com melhor desfecho, sugerindo um efeito residual mesmo quando resistente (6, 99, 117, 121, 122, 123).

O uso de terapia combinada para o tratamento de infecções causadas por *P. aeruginosa* ainda é uma controvérsia entre os especialistas (19, 124, 125). As combinações baseadas em  $\beta$ -lactâmicos são as comumente analisadas (126-128). A terapia empírica com duas drogas anti-*Pseudomonas* pode ser considerada e justificada quando o risco de resistência for substancial e comprometer o desfecho como em pacientes com neutropenia febril, sepse grave/choque séptico e outras infecções potencialmente graves (129). Os estudos *in vitro* demonstram sinergismo em esquemas de polimixinas com rifampicina, amicacina, carbapenem ou doxiciclina (130, 131), mas precisam de validação em estudo clínicos.

Em relação ao tratamento de infecções por *A. baumannii* CR, os dados são insuficientes para indicação formal de terapia combinada. A combinação de carbapenem e ampicilina/sulbactam foi relacionada com menor mortalidade, bem



como de colistina com rifampicina endovenosa (132-134). A associação de colistina com tigeciclina parece ser promissora (82, 90).

A terapia de combinação apresenta propostas vantajosas, especialmente, por oferecer um esquema com pelo menos um agente ativo com possibilidade de alcançar atividade sinérgica entre os mesmos com modificação do desfecho, especialmente, em casos de bactérias com altos MICs (61, 135). Outro benefício, proposto para o tratamento de BGN apenas sensíveis à polimixina, é minimizar o surgimento de subpopulações heterorresistentes durante a monoterapia (67, 77, 136-139). No entanto, questiona-se o real benefício, principalmente, em casos de infecções por BGN sensíveis ao carbapenem visto que sobrecarrega o sistema de saúde com custos adicionais, podendo aumentar a toxicidade com pouco ou nenhum efeito na sobrevida (140).

Portanto, para uma otimização terapêutica, faltam dados clínicos robustos que indiquem a melhor estratégia associada à eficácia e segurança, apesar de resultados promissores provindos de estudos *in vitro*, retrospectivos e observacionais a favor da terapia combinada (106, 129, 140). As críticas a respeito dos estudos existentes são consideráveis, pois a uniformização e regra sobre a indicação da terapia combinada, na prática clínica, tornou-se excessiva mesmo que ainda não esteja comprovada (129).

### **3 JUSTIFICATIVA**

As polimixinas são as escolhas na terapia de ICS por BGN MR. A terapia combinada baseada na PMB com outro antimicrobiano necessita de evidências que suportem tal indicação, apesar do uso na prática clínica. Logo, torna-se necessário a comparação do uso de PMB intravenosa em regimes de terapia combinada ou monoterapia, a fim de evitar uma grande exposição a antimicrobianos de amplo espectro, com riscos de resistência e aumento de custos hospitalares.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo primário

- Avaliar se o uso de PMB em terapia combinada está relacionado à redução da taxa de mortalidade em ICS BGN MR.

### 4.2 Objetivo secundário

- Identificar os antimicrobianos prescritos na terapia combinada com PMB e relacioná-los ao desfecho;

- Avaliar as doses de PMB com a mortalidade em 30 dias;

- Verificar se houve interferência do tempo de início do tratamento, após o diagnóstico de ICS, no desfecho clínico;

- Estimar a incidência de insuficiência renal aguda nos grupos de terapia combinada ou monoterapia, analisados e sua interferência na mortalidade.

## 5 REFERÊNCIAS

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde. 1.ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2013. 81 p.
2. Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA*. 1994;271(20):1598–1601.
3. Herwaldt LA, Cullen JJ, Scholz D, French P, Zimmerman MB, Pfaller MA, Wenzel RP, Perl TM. A prospective study of outcomes, healthcare resource utilization, and costs associated with postoperative nosocomial infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27(12):1291-1298.
4. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med*. 2010;362(19):1804-1813.
5. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*. 2010;13:132-138.
6. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, Prekates A, Themeli-Digalaki K, Tsakris A. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(12):1798–1803.
7. Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, Sukiennik T, Behar PR, Medeiros EA, Ribeiro J, Girão E, Correa L, Guerra C, Brites C, Pereira CA, Carneiro I, Reis M, de Souza MA, Tranches R, Barata CU, Edmond MB; Brazilian SCOPE Study Group. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J Clin Microbiol*. 2011;49(5):1866-1871.
8. Dimopoulos G, Koulenti D, Tabah A, Poulakou G, Vesin A, Arvaniti K, Lathyris D, Matthaiou DK, Armaganidis A, Timsit JF. Bloodstream Infections in ICUs with increased resistance: epidemiology and outcomes. *Minerva Anesthesiol*. 2014;81(4):405-418.

9. Martinez JA, Cobos-Trigueros N, Soriano A, Almela M, Ortega M, Marco F, Pitart C, Sterzik H, Lopez J, Mensa J. Influence of empiric therapy with a beta-lactam alone or combined with an aminoglycoside on prognosis of bacteremia due to gram-negative microorganisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(9):3590–3596.
10. Deresinski, S. Principles of antibiotic therapy in severe infections: optimizing the therapeutic approach by use of laboratory and clinical data. *Clin Infect Dis.* 2007;45(Suppl. 3):S177–S183.
11. Heyland DK, Dodek P, Muscedere J, Day A, Cook D. Randomized trial of combination versus monotherapy for the empiric treatment of suspected ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med.* 2008;36(3):737–744.
12. Ibrahim, E. H., G. Sherman, S. Ward, V. J. Fraser, and M. H. Kollef. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest.* 2000;118:146–155.
13. Deshpande, L. M., R. N. Jones, T. R. Fritsche, and H. S. Sader. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000–2004). *Microb Drug Resist.* 2006;12(4):223–230.
14. Bassetti M, Righi E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:428-432.
15. Gudiol C, Calatayud L, Garcia-Vidal C, Tamayo JL, Císnal M, Duarte R. Bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) in cancer patients: clinical features, risk factors, molecular epidemiology and outcome. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):333–341.
16. Aubron C, Poirel L, Fortineau N, Nicolas P, Collet L, Nordmann P. Nosocomial spread of *Pseudomonas aeruginosa* isolates expressing the metallo-beta-lactamase VIM-2 in a hematology unit of a French hospital. *Microb Drug Resist.* 2005;11(3):254–259.

17. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60:1206-1215.
18. Matthaiou, Dimitrios K.; Michalopoulos, Argyris; Rafailidis, Petros I.; Karageorgopoulos, Drosos E.; Papaioannou, Vassiliki; Ntani, Georgia; Samonis, George; Falagas, Matthew E. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant Gram-negative bacteria: A matched case-control study. *Crit Care Med.* 2008;36(3):807-811.
19. Kanj SS, Kanafani ZA. Current concepts in antimicrobial therapy against resistant gram-negative organisms: extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(3):250-259.
20. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73(4):354-360.
21. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, Liolios L. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):2946–2950.
22. Li J, Nation RL. Old polymyxins are back: is resistance close? *Clin Infect Dis.* 2006;43(5):663-664.
23. Zavascki AP, Goldani LZ, Cao G, Superti SV, Lutz L, Barth AL, Ramos F, Boniatti MM, Nation RL, Li J. Pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients. *Clin Infect Dis.* 2008;47(10):1298-1304.
24. Rozales FP, Ribeiro VB, Magagnin CM, Pagano M, Lutz L, Falci DR, Machado A, Barth AL, Zavascki AP. Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Porto Alegre, Brazil. *Int J Infect Dis.* 2014;25:79-81.
25. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE Jr, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG; Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America.

Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006;42(5):657-668.

26. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(3):813–821.

27. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309-332.

28. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943-4960.

29. Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 2012;40(12):3277-3282.

30. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;48(1):1-12.

31. Zavascki AP, Carvalhes CG, Picão RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(1):71-93.

32. Ambler RP. The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980;289:321-331.

33. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:1211-1233.

34. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis*. 2011;53(1):60-67.

35. Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7ed. USA: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. p. 2815-2833.
36. Casellas JM. Antibacterial drug resistance in Latin America: consequences for infectious disease control. Rev Panam Salud Publica. 2011;30(6):519-528.
37. Peleg AY, Seigert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21(3):538-582.
38. Livermore D. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995;8(4):557-584.
39. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clin Infect Dis. 2006;43(suppl 2):43-48.
40. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, McCormack JG, Yu VL. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum-beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol. 2001;39(6):2206-2212.
41. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005;18(4):657-686.
42. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. J Antimicrob Chemother. 2008;62:895-904.
43. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009;22(10):161-182.
44. Tenover FC, Kalsi RK, Williams PP, Carey RB, Stocker S, Lonsway D, Rasheed JK, Biddle JW, McGowan JE Jr, Hanna B. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* not detected by automated susceptibility testing. Emerg Infect Dis. 2006;12:1209-1213.



45. Endimiani A, Patel G, Hujer KM, Swaminathan M, Perez F, Rice LB, Jacobs MR, Bonomo RA. In vitro activity of fosfomycin against blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* isolates, including those nonsusceptible to tigecycline and/or colistin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:526-529.
46. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis.* 2008;46:567-570.
47. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:5046–5054.
48. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, Yee V, Zhao JJ, Chopra T, Lephart P, Kaye KS. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis.* 2011; 53:879–884.
49. Kontopoulou K, Protonotariou E, Vasilakos K, Kriti M, Koteli A, Antoniadou E, Sofianou D. Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2  $\beta$ -lactamase resistant to colistin. *J Hosp Infect.* 2010;76:70-73.
50. Huang LY, Chen TL, Lu PL, Tsai CA, Cho WL, Chang FY, Fung CP, Siu LK. Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(11):1010-1019.
51. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multi-drug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis.* 2006;43(supl 2):S49–S56.
52. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(1):24-38.
53. Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem-resistance. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4776–4778.

54. Rice LB. Challenges in identifying new anti-microbial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis. 2006;43(supl 2): S100–S105.
55. Juan C, Mulet X, Zamorano L, Albertí S, Pérez JL, Oliver A. Detection of the novel extended-spectrum beta-lactamase OXA-161 from a plasmid-located integron in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Spain. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(12):5288-5290.
56. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. Front Microbiol. 2014;4:422.
57. López-Rojas R, Jiménez-Mejías ME, Lepe JA, Pachón J. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin alters its antibiotic resistance profile: a case report from Spain. J Infect Dis. 2011;204(7):1147-1148.
58. Rolain JM, Roch A, Castanier M, Papazian L, Raoult D. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. J Infect Dis. 2011;204(7):1146-7114.
59. Al-Sweih NA, Al-Hubail MA, Rotimi VO. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. J Chemother. 2011;23(1):13-16.
60. Falci DR, Pacheco LS, Puga LS, da Silva RC, Alves AP, Behar PR, Zavascki AP. Polymyxin B consumption and incidence of gram-negative bacteria intrinsically resistant to polymyxins. Infect Control Hosp Epidemiol. 2012;33(5):536-537.
61. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, Behle TF, Bordinhão RC, Wang J, Forrest A, Nation RL, Li J, Zavascki AP. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. Clin Infect Dis. 2013;57(4):524-531.
62. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. Ann Pharmacother. 1999;33(9):960-967.

63. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014;5:643.
64. Kwa AL, Tam VH, Falagas ME. Polymyxins: a review of the current status including recent developments. *Ann Acad Med Singapore.* 2008;37(10):870-883.
65. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompарт CM, Albertí S, Bengoechea JA. Capsule Polysaccharide Mediates Bacterial Resistance to Antimicrobial Peptides. *Infect. Immun.* 2004;72(12):7107–7114.
66. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, Kopterides P, Souli M, Armaganidis A, Giamarellou H. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(4):786-790.
67. Yau W, Owen RJ, Poudyal A, Bell JM, Turnidge JD, Yu HH, Nation RL, Li J. Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect.* 2009;58(2):138-144.
68. Skiada A, Markogiannakis A, Plachouras D, Plachouras D, Daikos GL. Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37:187–193.
69. Miller AK, Brannon MK, Stevens L, Johansen HK, Selgrade SE, Miller SI, Hoiby N, Moskowitz SM. PhoQ mutations promote lipid A modification and polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* found in colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(12):5761-5769.
70. Barrow K, Kwon DH. Alterations in two-component regulatory systems of phoPQ and pmrAB are associated with polymyxin B resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(12):5150-5154.
71. Moskowitz SM, Brannon MK, Dasgupta N et al. PmrB mutations promote polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(2):1019-1030.

72. Fernández L, Gooderham WJ, Bains M, McPhee JB, Wiegand I, Hancock REW. Adaptive resistance to the “last hope” antibiotics polymyxin B and colistin in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by the novel two-component regulatory system ParR-ParS. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(8):3372-3382.
73. Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, Hankins JV, Trent SM, Hancock REW. The pmrCAB Operon Mediates Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and Clinical Isolates through Phosphoethanolamine Modification of Lipid A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011;55(8):3743-3751.
74. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, Lavender H, Murthy AR, Jacobs MR, Bonomo RA. Resistance to Colistin in *Acinetobacter baumannii* Associated with Mutations in the PmrAB Two-Component System. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009;53(9):3628-3634.
75. Castelli MA, Vescovi EG, Soncini FC. The Phosphatase Activity Is the Target for Mg<sup>2+</sup> Regulation of the Sensor Protein PhoQ in *Salmonella*. *J. Biol. Chem.* 2000;275(30):22948–22954.
76. Ko KS, Suh JY, Kwon KT, Jung SI, Park KH, Kang CI, Chung DR, Peck KR, Song JH. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(5):1163-1167.
77. Rodríguez CH, Bombicino K, Granados G, Nastro N, Vay C, Famiglietti A. Selection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in post neurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;65(2):188-191.
78. Chang TY, Lee CH, Liu JW. Clinical characteristics and risk factors for fatality in patients with bloodstream infections caused by glucose non-fermenting gram-negative Bacilli. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010;43(3):233-239.
79. Barin J, Martins AF, Heineck BL, Barth AL, Zavascki AP. Hetero- and adaptive resistance to polymyxin B in OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2013;12:15.

80. Napier BA, Burd EM, Satola SW, Cagle SM, Ray SM, McGann P, Pohl J, Lesho EP, Weiss DS. Clinical use of colistin induces cross-resistance to host antimicrobials in *Acinetobacter baumannii*. *MBio*. 2013;4(3):e00021-13.
81. Shields RK, Kwak EJ, Potoski BA, Doi Y, Adams-Haduch JM, Silveira FP, Toyoda Y, Pilewski JM, Crespo M, Pasculle AW, Clancy CJ, Nguyen MH. High mortality rates among solid organ transplant recipients infected with extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: using in vitro antibiotic combination testing to identify the combination of a carbapenem and colistin as an effective treatment regimen. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(2):246-252.
82. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(7):1607-1615.
83. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-281.
84. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(12):1333–1353.
85. Michalopoulos A, Falagas ME. Colistin and polymyxin B in critical care. *Crit Care Clin*. 2008;24(2):377-391.
86. Llobet E, Tomas JM, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide is a bacterial decoy for antimicrobial peptides. *Microbiol*. 2008;154:3877–3886.
87. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1333–1341.
88. Hermsen ED, Sullivan CJ, Rotschafer JC. Polymyxins: pharmacology,

pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect Dis Clin North Am*. 2003;17(3):545-562.

89. Tam VH, Schilling AN, Vo G, Kabbara S, Kwa AL, Wiederhold NP, Lewis RE. Pharmacodynamics of Polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:3624-3630.

90. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:2231-2237.

91. Dudhani RV, Turnidge JD, Li J. Elucidation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic determinant of colistin activity against *Pseudomonas aeruginosa* in murine thigh and lung infection models. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:1117-1124.

92. Kwon JA, Lee JE, Huh W, Peck KR, Kim YG, Kim DJ, Oh HY. Predictors of acute kidney injury associated with intravenous colistin treatment. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;35:473-477.

93. Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, Kamei LK, Rocha JL, Zavascki AP. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;43:349-352.

94. Holloway KP, Roupheal NG, Wells JB, King MD, Blumberg HM. Polymyxin B and doxycycline use in patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in the intensive care unit. *Ann Pharmacother*. 2006; 40:1939-1945.

95. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol*. 2001;39(1):183-190.

96. van der Heijden IM, Levin AS, De Pedri EH, Fung L, Rossi F, Duboc G, Barone AA, Costa SF. Comparison of disc diffusion, Etest and broth microdilution for testing susceptibility of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to polymyxins. *Annals Clin Microbiol Antimicrob*. 2007;6:1-8.

97. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederens BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(10):3726-30.
98. Girardello R, Gales AC. Resistência às polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções terapêuticas. *Rev Epidemiol Control Infect.* 2012;2(2):66-69
99. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015. <http://www.eucast.org> (10 Janeiro de 2015, data do último acesso).
100. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fourth. Informational Supplement (January 2014 Update) M100-S24. CLSI, Wayne, PA, USA, 2014.
101. Neuner EA, Yeh J-Y, Hall GS, Sekeres J, Endimiani A, Bonomo RA, Shrestha NK, Fraser TG, van Duin D. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69:357–362.
102. Safdar N, Maki DG. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, Gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and *Candida*. *Ann Intern Med.* 2002;136:834–844.
103. Ku K, Pogue JM, Moshos J, Bheemreddy S, Wang Y, Bhargava A, Campbell M, Khandker N, Lephart PR, Chopra T, Hayakawa K, Martin ET, Abreu-Lanfranco O, Dhar S, Kaye KS, Marchaim D. Retrospective evaluation of colistin versus tigecycline for the treatment of *Acinetobacter baumannii* and/or carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Am J Infect Control.* 2012;40(10):983–987.
104. Tam VH, Rogers CA, Chang KT, Weston JS, Caeiro JP, Garey KW. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3717-3722.

105. van Duin D, van Delden C; AST Infectious Diseases Community of Practice. Multidrug-resistant gram-negative bacteria infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13(Suppl 4):31-41.
106. van Duin D, Kaye KS, Neuner EA, Bonomo RA. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a review of treatment and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75(2):115-20.
107. Borer A, Saidel-Odes L, Borer A, Saidel-Odes L, Riesenber K, Eskira S, Peled N, Nativ R, Schlaeffer F, Sherf M. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30:972–976.
108. Ben-David D, Kordei R, Kordevani DR, Keller N, Tal I, Marzel A, Gal-Mor O, Maor Y, Rahav G. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18:54–60.
109. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;8:2322-2328.
110. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, Karaiskos I, Poulakou G, Kontopidou F, Armaganidis A, Cars O, Giamarellou H. Population pharmacokinetic analysis of colistinmethanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(8):3430-6.
111. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of antibiotics. *Future Microbiology*. 2013;8(6): 711-724.
112. Walsh TR, Toleman MA. The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1–3.
113. Goodwin NJ, Colistin sulfate versus sodium colistimethate. *Ann Intern Med*.



1969;70:232-3.

114. Uppu DS, Ghosh C, Haldar J. Surviving sepsis in the era of antibiotic resistance: Are there any alternative approaches to antibiotic therapy? *Microb Pathog.* 2015;80C:7-13. [Epub ahead of print]
115. Langgartner J, Vasold A, Gluck T, Reng M, Kees F. Pharmacokinetics of meropenem during intermitente and continuous intravenous applicarion in patients treated by continuous renal replacement therapy. *Intesnive Care Med.* 2008;34(6):1091-1096.
116. Pea F, Viale P, Cojutti P, Furlanut M. Dosing nomograms for attaining optimum concentrations of meropenem by continuous infusion in critically ill patients with severe gram-negative infections: a pharmacokinetics/pharmacodynamics-based approach. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(12):6343-6348.
117. Tzouveleakis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *K. pneumoniae* an other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):682-707.
118. Lee GC, Burgess DS. Polymyxin and Doripenem combination against. KPC-Producing *K. pneumoniae*. *J Clin Med Res.* 2013;5(2):97-100.
119. Pournaras S, Vrioni G, Neou E, Dendrinou J, Dimitroulia E, Poulou A, Tsakris A. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;37(3):244-247.
120. Souli M, Rekatsina PD, Chryssouli Z, Galani I, Giamarellou H, Kanellakopoulou K. Does the activity of the combination of imipenem and colistin in vitro exceed the problem of resistance in metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates? *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(5):2133-2135.
121. Hirsch EB, Tam VH. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2010;10(4):441-451.

122. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, Polsky B, Adams-Haduch JM, Doi Y. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2108–2113.
123. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis.* 2012;55(7):943-950.
124. Kim YJ, Jun YH, Kim YR, Park KG, Park YJ, Kang JY, Kim SI. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. *BMC Infect Dis.* 2014;14:161.
125. Bowers DR, Liew YX, Lye DC, Kwa AL, Hsu LY, Tam VH. Outcomes of appropriate empiric combination versus monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(3):1270-1274.
126. Dubois V, Arpin C, Melon M, Melon B, Andre C, Frigo C, Quentin C. Nosocomial outbreak due to a multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* P12: efficacy of cefepime-amikacin therapy and analysis of beta-lactam resistance. *J Clin Microbiol.* 2001;39(6):2072-2078.
127. Fish DN. Optimal antimicrobial therapy for sepsis. *Am J Health Syst Pharm.* 2002;59(Suppl 1):S13-9.
128. Dundar D, Otkun M. In-vitro efficacy of synergistic antibiotic combinations in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Yonsei Med J.* 2010;51(1):111-116.
129. Paul M, Lador A, Grozinsky-Glasberg S, Leibovici L. Beta lactam antibiotic monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside antibiotic combination therapy for sepsis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;1:CD003344.
130. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-

resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*. 2006;27(3):224-228.

131. Lim TP, Cai Y, Hong Y, Chan EC, Suranthran S, Teo JQ, Lee WH, Tan TY, Hsu LY, Koh TH, Tan TT, Kwa AL. In-vitro Pharmacodynamics of Various Antibiotics in Combination against Extensively Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015. pii: AAC.03639-14. [Epub ahead of print]

132. Kuo LC, Lai CC, Liao CH, Hsu CK, Chang YL, Chang CY, Hsueh PR. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia: clinical features, antimicrobial therapy and outcome. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13(2):196-198.

133. Giannouli M, Di Popolo A, Durante-Mangoni E, Bernardo M, Cuccurullo S, Amato G, Tripodi MF, Triassi M, Utili R, Zarrilli R. Molecular epidemiology and mechanisms of rifampicin resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates from Italy. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(1):58-63.

134. Aydemir H1, Akduman D, Piskin N, Comert F, Horuz E, Terzi A, Kokturk F, Ornek T, Celebi G. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Epidemiol Infect*. 2013;141(6):1214-1222.

135. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Lee HJ, Li J, Nation RL. 'Old' antibiotics for emerging multidrug-resistant bacteria. *Curr Opin Infect Dis*. 2012;25(6):626-633.

136. Meletis G, Tzampaz E, Sianou E, Tzavaras I, Sofianou D. Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(4):946-947.

137. Lesho E, Yoon EJ, McGann P, Snesrud E, Kwak Y, Milillo M, Onmus-Leone F, Preston L, St Clair K, Nikolich M, Viscount H, Wortmann G, Zapor M, Grillot-Courvalin C, Courvalin P, Clifford R, Waterman PE. Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* containing a novel pmrCAB operon during colistin therapy of wound infections. *J Infect Dis*. 2013;208(7):1142-1151.

138. Hermes DM1, Pormann Pitt C, Lutz L, Teixeira AB, Ribeiro VB, Netto B, Martins

AF, Zavascki AP, Barth AL. Evaluation of heteroresistance to polymyxin B among carbapenem-susceptible and resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol*. 2013;62(8):1184-1189.

139. Ah YM, Kim AJ, Lee JY. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(1):8-15.

140. Kmeid JG, Youssef MM, Kanafani ZA, Kanj SS. Combination therapy for Gram-negative bacteria: what is the evidence? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(12):1355-1362.

141. Rigatto MH, Ribeiro VB, Konzen D, Zavascki AP. Comparison of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*. *Infection*. 2013;41:321-328.

**6 ARTIGO**

Formato conforme as normas da revista *Infection*.

**Combination versus monotherapy in patients with carbapenem-resistant  
Gram-negative bacterial bloodstream infections treated with  
intravenous polymyxin B**

M. Carneiro; D. R. Falci; M. H. Rigatto; E. C. Sonda; A. P. Zavascki\*

M. Carneiro and E. C. Sonda: *School of Medicine, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul;*

D. R. Falci: *Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre;*

M. H. Rigatto: *Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul;*

A. P. Zavascki: *Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; and Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St., 90.035-903, Porto Alegre, Brazil*

Running title: Combination therapy with polymyxin B for GNB BSIs

\* Corresponding Author: Alexandre P. Zavascki. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto, 2350 Ramiro Barcelos St., 90.035-903, Porto Alegre, Brazil. Fone/Fax: +55(51) 33598152. E-mail: [azavascki@hcpa.ufrgs.br](mailto:azavascki@hcpa.ufrgs.br)

## Abstract

*Purpose* Polymyxins are usually the last resort therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CR GNB) bloodstream infections (BSIs), combination with another antimicrobial has been used despite the lack of clinical evidence supporting such practice. *Methods* We compared combination versus monotherapy with polymyxin B for CR GNB BSIs, adjusting for a propensity score for indication of combination therapy. It was a retrospective cohort study at a tertiary-hospital including 99 patients. *Results* The overall 30-day mortality was 43.4%: 40.7% (24 of 59) and 47.5% (19 of 40),  $P=0.51$ , in patients receiving combination and monotherapy, respectively. Severe sepsis/ septic shock at BSI onset higher Pitt bacteremia score and neoplasia were independently associated with higher 30-day mortality in a Cox-regression model. Combination therapy was not significantly associated with this outcome (Hazard Ratio, 0.70; 95% confidence interval, 0.36-1.36);  $P=0.29$ ). Although not significant, there was a tendency to a beneficial effect of combination in patients with Enterobacteriaceae CR GNB BSIs. There was no difference in development of acute kidney injury in patients receiving combination therapy compared to those receiving monotherapy. *Conclusions* There was no difference in 30-day mortality in patients with CR GNB BSIs treated with polymyxin B in combination with another antimicrobial compared with polymyxin B alone. The routine practice of combining a second antibiotic in polymyxins-based regimes, especially if the bacteria present in vitro resistance to the agent, still lacks support from clinical studies.

**Keywords:** polymyxin; colistin; mortality; combination therapy; carbapenem; cohort study

## Introduction

In later years, particularly in the last decade, the emergence of carbapenem-resistant (CR) Gram-negative bacteria (GNB) as a cause of serious hospital infections, such as bloodstream infections (BSIs) have posed a challenge to the current antimicrobial therapy for infections by these bacteria [1-4]. Among CR GNB isolates, members of Enterobacteriaceae, notably *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* are those of major clinical importance since they are major causes of hospital infections are worldwide disseminated [1-4].

CR GNB isolates usually present the extended-drug-resistance profile and are commonly susceptible only to polymyxins, both B and E (colistin) [4]. Indeed, these 'old' antibiotics have re-emerged as agents of last resort in the antimicrobial armamentarium for hospital infections by CR GNB [5, 6]. However, despite their *in vitro* activity against most of these isolates, the combination of a second antibiotic, including for isolates with *in vitro* resistance to this second agent, have been frequently used even without a definitive clinical evidence supporting this therapeutic strategy [4, 7].

A possible limited clinical efficacy of polymyxins and the potential for resistance emergence during treatment have been advocated as one the main reasons for combining another antimicrobial to polymyxins-based regimes against CR GNB [4, 7]. Actually, there are two clinical trials that failed to find any beneficial effect of the combination of rifampicin with colistin over this drug alone on the mortality of patients with *A. baumannii* infections [8, 9]. In contrast, two cohort studies assessing CR *K. pneumoniae* BSIs suggested that combining a second antibiotic may improve 30-day



survival [10, 11]. Nevertheless, combination therapy in these later studies was defined as treatment with two *in vitro* active antibiotics, which impair conclusions about combining another drug for a CR *K. pneumoniae* isolate with documented *in vitro* resistance to such agent and, naturally, data refers only to infections by CR GNB and cannot be extrapolated to BSIs by other CR GNB.

Additionally, some limitations of these studies that could potentially favor combination therapy have been pointed out, particularly a possible suboptimal use of polymyxins considering recent pharmacokinetic studies but, notably, the potential for indication bias owing to observational designs of most studies addressing combination therapy [7].

In this study, we aimed to assess the use of intravenous polymyxin B in combination with another antimicrobial in comparison with polymyxin B as a single drug for CR GNB BSIs, adjusting for a propensity score for indication of combination therapy.

## **Methods**

### Study design, setting and participants

This was a single-centre retrospective cohort study performed at Hospital Nossa Senhora da Conceição, an 800-bed tertiary-care teaching hospital from Porto Alegre, Brazil. Patients  $\geq 18$  years with CR GNB BSIs who received intravenous polymyxin B between December 2011 and July 2013 were eligible for the cohort. Patients were included if they received therapy with polymyxin B for at least 48 hours. They were excluded if they died or were discharged within the first 48 hours after blood culture collection. Only the first episode was considered if the patient had  $>1$  BSIs. Institutional protocol recommended doses PMB of 1.5 to 3.0mg/kg/day in two divided

infusions, administered over 4 hours. Loading doses and dose adjustment according to creatinine clearance were not recommended. The study was approved by the Institutional Ethics Review Board.

#### Variables and definitions

The primary outcome was 30-day mortality defined as death for any cause during the first 30 days after the day that the blood culture that yielded GNB growth was collected (also defined as the onset of infection). Acute kidney injury (AKI) defined by Acute Kidney Injury Network (AKIN) criteria [12] was a secondary outcome. Variables potentially associated with 30-day mortality were: age; gender; Charlson comorbidity score [13]; APACHE II score [14]; Pitt bacteremia score [15]; baseline diseases; presentation of BSI with severe sepsis or septic shock [16] at the onset infection; length of hospital stay before BSI; hospitalization at intensive care unit (ICU) at the moment of BSI; baseline creatinine level and baseline estimated creatinine clearance; hemodialysis at the onset infection; bacterial specie; primary site of infection according to CDC criteria [17]. Central venous catheter infection was also considered the primary site if the differential positivity time of blood culture drawn simultaneously from central venous catheter and peripheral sites was  $\geq 2$  h); polymicrobial infection (isolation of  $>1$  organism from blood, excluding coagulase-negative staphylococci in a single blood culture); time to initiation of polymyxin B; doses of polymyxin B; and combination therapy (the association of a second antimicrobial with anti-GNB activity with either *in vitro* susceptibility or resistance for at least 48 hours).

## Microbiology

All isolates were identified and susceptibility was determined by the Vitek 2 system (bioMérieux, Marcy-l'Etoile/France). Susceptibility to polymyxin B was assumed based on the results for colistin (susceptible  $\leq 2$  mg/L) by Vitek 2 system. Carbapenem susceptibility was interpreted according to CLSI [18]. Mais FDA para tigeciclina.

Detalhar hemocultura?

## Statistical analysis

All statistical analyses were carried out using SPSS for Windows, version 18.0. Bivariate analysis was performed separately for each of the variables. *P* values were calculated using the  $\chi^2$  or Fisher's exact test for categorical variables and the Student's t-test or the Wilcoxon rank-sum test for continuous variables. In order to adjust for potential confounding of indication, we developed a propensity score for prescribing association therapy. Covariates were first compared between combination and monotherapy regimens. Age, baseline creatinine clearance and APACHE II score (*a priori* judged to be clinically relevant) were included in a logistic regression model along with those variables with a *P*  $\leq 0.20$ . A bivariate analysis of factors associated with mortality was performed and variables with a *P*  $\leq 0.20$  were included in a Cox proportional hazards model, using a forward stepwise regression, along with the propensity score. A variable with a *P*  $\leq 0.10$  was maintained in the model. Combination therapy was maintained in the model regardless of the *P* value. Proportional hazards assumption was graphically checked inspecting the log [-log(S)] plot. Tests for interactions were not performed. All tests were two-tailed and a *P*  $\leq 0.05$  was considered significant.

## Results

### Patients characteristics

A total of 257 patients had a GNB BSIs during the study period. Of these, 152 patients were excluded because were <18 years or were not treated with polymyxin B for at least 48 hours, and six because the causative bacteria was a polymyxin-resistant isolate, resulting in 99 patients included in the study. Fifty-nine (59.6%) patients were treated with polymyxin B in combination and 40 (40.0%) with polymyxin B in monotherapy. The characteristics of patients treated with combination therapy were similar to those treated with monotherapy (Table 1), except that they had higher weight ( $P=0.05$ ) and had lower proportion of *A. baumannii* ( $P=0.01$ ) and higher of *K. pneumoniae* ( $P=0.02$ ) infections with MIC of meropenem  $\leq 8$ mg/L ( $P=0.08$ ). There were also a trend for distinct proportion of males, time to start polymyxin B and average daily dose in mg/kg. All these variables were included in the propensity score along with those previously mentioned in methods.

### Mortality and risk factors

The overall 30-day mortality was 43.4% (43 of 99): 40.7% (24 of 59) and 47.5% (19 of 40),  $P=0.51$ , in patients receiving combination and monotherapy, respectively. The characteristics of the entire cohort and the comparison of variables among patients who were 30-day survivors and non-survivors are presented in Table 2.

The results of multivariate analysis revealed that severe sepsis or septic shock at BSI onset higher Pitt bacteremia score and neoplasia were independently associated with higher 30-day mortality. Combination therapy was not significantly associated with

this outcome (Table 3). Combination therapy was also not associated with the 30-day mortality in any of the analysed subgroup.

### Toxicity

Twenty (20.2%) patients who were undergoing hemodialysis at the BSI onset were excluded for AKI analysis. Of the 79 patients evaluated, 41 (51.9%) developed some degree of AKI during therapy: 17 (41.5%) stage 1, 12 (29.3%) stage 2 and 12 (29.3%) stage 3. There was no difference in development of AKI in patients receiving combination (44.1%) therapy (Relative Risk 1.31; 95% CI 0.57-2.98;  $P=0.51$ ) compared to those receiving monotherapy (37.5%). The 30-day mortality observed in the group with and without AKI was 44.2% (19 of 41) and 31.6% (12 of 38), respectively ( $P=0.52$ ).

### Discussion

Our study did not show superiority of the combination of another antimicrobial in patients treated with polymyxin B for CR GNB BSIs. The role of combination therapy for CR GNB BSIs actually has only been previously evaluated in CR *K. pneumoniae* isolates [10, 11, 19, 20], and only two retrospective cohort studies have shown that combination therapy was independently associated with improved survival of these patients [10, 11]. Notably, most of the beneficial effect has been driven by the use of schemes containing a carbapenem in BSIs caused by *K. pneumoniae* with MICs of meropenem  $\leq 8$ mg/L [10, 11].

In our study, although 61.0% of the 59 patients treated with combination therapy received meropenem, only 15 patients (41.7% of schemes containing meropenem

and 25.4% of the total combination schemes) were treated with meropenem for organisms with MIC of meropenem  $\leq 8$ mg/L (all Enterobacteriaceae); but, even in these few patients, a clear benefit was not observed in bivariate analysis. Indeed, most isolates of our study were non-fermentative GNB, mostly *A. baumannii* isolates, which are organisms to which there is no clinical evidence suggesting that combination therapy might be superior to polymyxins in monotherapy for the treatment of CR isolates. Actually, this is the first study assessing polymyxin B in combination with another agent for BSIs which evaluated CR GNB other than *K. pneumoniae* and there was no superiority of combination in the subgroup of patients with non-fermentative CR GNB BSIs.

Although only 33 patients had BSIs by CR Enterobacteriaceae, in this subgroup combination therapy slightly tended to a protective effect. Significance was likely not found by the low statistical power in this subgroup. Combination and monotherapy were also similar in the subgroup of patients with low respiratory tract infections as the primary source of BSI and in those at ICU unit. Together, these findings indicate that the absence of a beneficial effect has not been driven by any specific group of patients or infections.

Noteworthy, no variable related to the treatment of BSIs was significantly associated with 30-day mortality in our study. We believe that it was because both groups (combination and monotherapy) were very similar regarding the main variables associated with therapy. Polymyxin B doses in both groups may be considered adequate according to recent pharmacokinetic data [21, 22], with a mean daily dose of 2.9 mg/kg that resulted in more than 60% of patients receiving total daily doses  $\geq 200$  mg/d, which has been previously associated with improved survival [23]. Additionally, most patients started antimicrobial therapy within the first 24 hours of

BSI episode; early appropriate therapy has been associated with improved survival in patients with BSIs [24-26]. Thus, our findings suggests that when polymyxin B doses and treatment is early initiated, the potential benefit of combining a second agent to the former antibiotics may be less clinically relevant or even absent in CR GNB BSIs. Nonetheless, it still requires further investigations considering the heterogeneity of agents in combination with polymyxin B, which has also been observed in previous studies [7]. It is truly possible that for a specific bacteria, and it may be more likely for CR Enterobacteriaceae, a specific antimicrobial agent may be beneficial in BSIs even when the cornerstone therapy with polymyxins is optimized in terms or doses and time to initiation.

One of the strengths of our study is that it was adjusted for indication bias through the inclusion of a propensity score in multivariate analysis. Considering the observational design of almost all studies comparing combination with monotherapy for CR GNB infections published so far, it is possible that such a bias may have at least partially influenced in their results [7].

Considering kidney toxicity, the frequency of AKI in our study (51.9%) was similar to previous studies with polymyxin B that adopted standardized criteria for the definition of AKI [27-31]. Notably, the addition of a second agent did not increase AKI rates in our study. Additionally, development of AKI did not impact in 30-day mortality, as suggested in previous studies [29, 31]; however, proper investigation of AKI on mortality was not the objective of this study and was not performed.

Our study have other limitations that should be acknowledged besides those previously discussed. It is a single center study; thus, considering the retrospective design, it might be possible that specific characteristics of this center might contributed to the lack of difference between groups. So, as any other single center

study readily generalization of data warrants caution. Second, it had a relatively low number of patients, which have likely decreased the statistical power of the subgroup of patients with Enterobacteriaceae BSIs.

## **Conclusions**

In summary, our study showed no difference in 30-day mortality in patients with CR GNB BSIs treated with polymyxin B in combination with another antimicrobial in comparison with polymyxin B alone. Both therapeutic strategies were similar in distinct subgroup of patients and infections, with the possible exception of Enterobacteriaceae BSIs when combination tended to have a non-significant protective effect. Routine practice of combining a second antibiotic in polymyxins-based regimes, especially if the bacteria present *in vitro* resistance to the agent, is still not supported by clinical evidence. Considering the limitations of each study published so far, further investigations are required to define the role of combination therapy for CR GNB BSIs.

## **Acknowledgements**

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

## **Conflict of interest**

All authors have nothing to disclose.



## References

1. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect. Dis.* 2013;13:785-796.
2. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 2013;11:383-393.
3. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res. Int.* 2014;2014:249856.
4. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2013;11:1333-1353.
5. Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and Polymyxin B: Peas in a Pod, or Chalk and Cheese? *Clin. Infect. Dis.* 2014;59:88-94
6. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007;60:1206-1215.
7. Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, Mouton JW, Tacconelli E, Theuretzbacher U, Mussini C, Leibovici L. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 2014;69:2305-2309.

8. Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De Cristoforo M, Murino P, Bassetti M, Malacarne P, Petrosillo N, Galdieri N, Mocavero P, Corcione A, Viscoli C, Zarrilli R, Gallo C, Utili R. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter, randomized clinical trial. Clin. Infect. Dis. 2013;57:349-358.
9. Aydemir H, Akduman D, Piskin N, Comert F, Horuz E, Terzi A, Kokturk F, Ornek T, Celebi G. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. Epidemiol. Infect. 2013;141:1214-1222.
10. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing K. pneumoniae: importance of combination therapy. Clin. Infect. Dis. 2012;55:943-950.
11. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. Antimicrob. Agents Chemother. 2014;8:2322-2328.
12. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A; Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. Crit. Care. 2007;11:R31.

13. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J. Chronic Dis.* 1987;40: 373-383.
14. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit. Care Med.* 1985;13:818-829.
15. Rhee JY, Kwon KT, Ki HK, Shin SY, Jung DS, Chung DR, Ha BC, Peck KR, Song JH. Scoring systems for prediction of mortality in patients with intensive care unit-acquired sepsis: a comparison of the Pitt bacteremia score and the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II scoring systems. *Shock.* 2009;31:146-150.
16. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992;101:1644-1655.
17. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am. J. Infect. Control.* 2008;36:309-332.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement M100-S23. Wayne, PA, USA: CLSI. 2013.
19. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, Prekates A, Themeli-Digalaki K, Tsakris A. Predictors of mortality in patients with

- bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. Clin. Microbiol. Infect. 2011;17:1798-1803.
20. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, Polsky B, Adams-Haduch JM, Doi Y. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. Antimicrob. Agents Chemother. 2012;4:2108-2113.
21. Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, Behle TF, Bordinhão RC, Wang J, Forrest A, Nation RL, Li J, Zavascki AP. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. Clin. Infect. Dis. 2013;57: 524-531.
22. Zavascki AP. Polymyxins for the treatment of extensively-drug-resistant Gram-negative bacteria: from pharmacokinetics to bedside. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2014;12:531-533.
23. Elias LS, Konzen D, Krebs JM, Zavascki AP. The impact of polymyxin B dosage on in-hospital mortality of patients treated with this antibiotic. J. Antimicrob. Chemother. 2010;65:2231-2237.
24. Retamar P, Portillo MM, López-Prieto MD, Rodríguez-López F, de Cueto M, Garcia MV, Gómez MJ, Del Arco A, Muñoz A, Sánchez-Porto A, Torres-Tortosa M, Martín-Aspas A, Arroyo A, García-Figueras C, Acosta F, Corzo JE, León-Ruiz L, Escobar-Lara T, Rodríguez-Baño J; SAEI/SAMPAC Bacteremia Group. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream

- infections: a propensity score-based analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012;56: 472-478.
25. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005;49:760-766.
26. Paul M, Shani V, Muchtar E, Kariv G, Robenshtok E, Leibovici L. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010;54:4851-4863.
27. Kubin CJ, Ellman TM, Phadke V, Haynes LJ, Calfee DP, Yin MT. Incidence and predictors of acute kidney injury associated with intravenous polymyxin B therapy. *J. Infect.* 2012;65:80-87.
28. Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, Dakum P, Charurat ME, Gilliam BL. Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin. Infect. Dis.* 2013;57:1300-1303.
29. Tuon FF, Rigatto MH, Lopes CK, Kamei LK, Rocha JL, Zavascki AP. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B or colistin methanesulfonate sodium. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2014;43:349-352.
30. Phe K, Lee Y, McDanel PM, Prasad N, Yin T, Figueroa DA, Cottreau JM, Hu M, Tam VH. In vitro assessment and multicenter cohort study of comparative nephrotoxicity rates associated with colistimethate versus polymyxin B therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58:2740-2746.

31. Rigatto MH, Behle TF, Falci DR, Freitas T, Lopes NT, Nunes M, Costa LW4, Zavascki AP. Risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with polymyxin B and influence of AKI on mortality: a multicentre prospective cohort study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015. doi: 10.1093/jac/dku561

**Table 1** Characteristics of patients treated with polymyxin B in combination and monotherapy

Variables <sup>a</sup>	Combination (n=59)	Monotherapy (n=40)	P value
Age, years (mean ± S.D.)	58±16	55±17	0.42
Gender, male	33 (55.9)	28 (70.0)	0.16
Weight, kg (mean ± S.D.)	72±16	66±13	0.05
Charlson comorbidity index [median (IQR)]	3 (2-7)	3 (2-6)	0.48
APACHE II (mean ± S.D.)	12±5	13±6	0.71
Pitt bacteremia score [median (IQR)]	4 (2-9)	5 (2-9)	0.48
Severe sepsis/septic shock	35 (59.3)	24 (60.0)	0.95
Length of hospital stay before bacteremia, days [median (IQR)]	32 (16-52)	31 (21-50)	0.91
Baseline creatinine clearance, ml/min (mean ± S.D.)	119±83	112±76	0.67
Baseline creatinine, mg/dL (mean ± S.D.)	1±0.7	1±0.8	0.94
Hemodialysis at the onset of infection	11 (18.6)	9 (22.5)	0.64
Continuous venovenous	11 (18.6)	8 (20.0)	0.87
Intermittent	0 (0)	1 (2.5)	0.23
Comorbidities			
Pulmonary	13 (22.0)	5 (12.5)	0.23
Cardiovascular	21 (35.6)	12 (30.0)	0.57
Diabetes	19 (32.2)	10 (25.0)	0.44
HIV/Aids	10 (16.9)	7 (17.5)	0.94
Neoplasia	8 (13.6)	9 (22.5)	0.25
Connective tissue	3 (5.1)	1 (2.5)	0.53
Hepatic	5 (8.5)	3 (7.5)	0.86
Neurological	10 (16.9)	4 (10.0)	0.33
Iatrogenic immunosuppression	1 (1.7)	0 (0)	0.41
ICU stay at the onset of infection	33 (55.9)	22 (55.0)	0.93
MV at the onset of infection	29 (49.2)	21 (52.5)	0.75
Source of blood stream infection			

Low Respiratory Tract infection	17 (28.8)	15 (37.5)	0.37
Central venous cateter	16 (27.1)	11 (27.5)	0.25
Primary bloodstream	14 (23.7)	8 (20.0)	0.66
Intra-abdominal	5 (8.5)	2 (5.0)	0.51
Urinary	3 (5.1)	1 (2.5)	0.53
Surgical site	2 (3.4)	3 (7.5)	0.36
Bone and Join	2 (3.4)	0 (0)	0.24
Vancomycin use	17 (28.8)	10 (25.0)	0.68
Polymicrobial infection	14 (23.7)	9 (22.5)	0.89
Time to initiate polymyxin B, days (mean ± S.D.)	2±2	2±1	0.17
Time to initiate polymyxin B, ≤24 h	35 (59.3)	25 (62.5)	0.75
Total average daily dose, mg/kg [median (IQR)]	209 (158- 220)	208 (159-214)	0.71
Average daily dose, mg/kg [median (IQR)]	2.8 (2.5-3.2)	2.9 (2.6-3.3)	0.18
Average daily dose (≥200 mg/day)	38 (64.4)	23 (57.5)	0.43
<i>Bacteria</i>			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	25 (42.4)	27 (67.5)	0.01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20 (33.9)	5 (12.5)	0.02
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9 (15.3)	5 (12.5)	0.70
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 (8.5)	2 (5.0)	0.51
<i>Escherichia coli</i>	0 (0)	1 (2.5)	0.23

ICU, Intensive Care Unit; APACHE, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; MV, mechanical ventilation.

<sup>a</sup> Data are n (%) unless otherwise indicated



**Table 2** Bivariate analysis of factors potentially associated with 30-day mortality among the 99 patients treated with intravenous polymyxin B

Variables <sup>a</sup>	Total (n=99)	Non-survivors (n=43)	Survivors (n=56)	P value
Age, years (mean ± S.D.)	56±16	58±16	55±16	0.42
Gender, male	61 (61.6)	24 (55.8)	37 (66.1)	0.30
Weight, kg (mean ± S.D.)	70±15	70±15	69±15	0.87
Charlson comorbidity index [median (IQR)]	3 (2-6)	3 (2-6)	3 (1-6)	0.79
APACHE II (mean ± S.D.)	12±5	14±5	11±5	0.03
Pitt bacteremia score [median (IQR)]	4 (2-9)	6 (3-10)	4 (2-6)	0.003
Severe sepsis/septic shock	59 (59.6)	34 (79.1)	25 (44.6)	0.000
Baseline creatinine clearance, ml/min (mean ± S.D.)	116±80	108±74	123±84	0.36
Baseline creatinine, mg/dL (mean ± S.D.)	1±0.7	1±1	1±1	0.49
Hemodialysis at the onset infection	20 (20.2)	12 (27.9)	8 (14.3)	0.10
Continuous venovenous	19 (19.2)	12 (27.9)	7 (12.5)	0.05
Intermittent	1 (1)	0 (0)	1 (1.8)	0.38
Comorbidities				
Pulmonary	18 (18.2)	4 (9.3)	14 (25.0)	0.04
Cardiovascular	33 (33.3)	11 (25.6)	22 (39.3)	0.15
Diabetes	29 (29.3)	13 (39.2)	16 (28.6)	0.86
HIV/Aids	17 (17.2)	6 (14.0)	11 (19.6)	0.46
Malignancy	17 (17.2)	10 (23.3)	7 (12.5)	0.16
Connective tissue	4 (4.0)	2 (4.7)	2 (3.6)	0.79
Hepatic	8 (8.1)	6 (14.0)	2 (3.6)	0.06
Neurological	14 (14.1)	5 (11.6)	9 (16.1)	0.53
Iatrogenic immunosuppression	1 (1.0)	1 (2.3)	0 (0)	0.26
ICU stay at the onset of infection	55 (55.6)	28 (65.1)	27 (48.2)	0.09
MV at the onset of infection	50 (50.5)	27 (62.8)	23 (41.1)	0.03
Source of blood stream infection				
Low Respiratory Tract infection	32 (32.3)	15 (34.9)	17 (30.4)	0.64
Central venous cateter	27 (27.3)	10 (23.3)	17 (30.4)	0.21

Primary bloodstream	22 (22.2)	14 (32.6)	8 (14.3)	0.03
Intra-abdominal	7 (7.1)	2 (4.7)	5 (8.9)	0.42
Urinary	4 (4.0)	0 (0)	4 (7.1)	0.07
Surgical site	5 (5.1)	2 (4.7)	3 (5.4)	0.87
Bone and Joint	2 (2.0)	0 (0)	2 (3.6)	0.21
Vancomycin use	27 (27.3)	14 (32.6)	13 (23.2)	0.31
Polymicrobial infection	23 (23.2)	9 (20.9)	14 (25.0)	0.64
Time to initiate polymyxin B, days (mean $\pm$ S.D.)	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	0.41
Time to initiate polymyxin B, $\leq$ 24 h	60 (60.6)	30 (69.8)	30 (53.6)	0.10
Total average daily dose, mg/kg [median (IQR)]	208 (158- 215)	204 (169- 225)	209 (156-214)	0.21
Average daily dose, mg/kg [median (IQR)]	2.9 (2.6-3.2)	3.0 (2.6-3.2)	3.0 (2.5-3.2)	0.30
Average daily dose ( $\geq$ 200 mg/day)	61 (61.6)	30 (69.8)	31 (55.4)	0.15
Combination therapy with	59 (59.6)	24 (55.8)	35 (62.5)	0.51
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1 (1.0)	0 (0)	1 (1.8)	0.38
Ceftazidime	9 (9.1)	2 (4.7)	7 (12.5)	0.18
Ciprofloxacin	1 (1.0)	0 (0)	1 (1.8)	0.38
Amikacin	1 (1.0)	1 (2.3)	0 (0)	0.26
Aztreonam	1 (1.0)	0 (0)	1 (1.8)	0.38
Ampicillin-sulbactam	3 (3.0)	2 (4.7)	1 (1.8)	0.41
Piperacillin-tazobactam	4 (4.0)	3 (7.0)	1 (1.8)	0.20
Tigecycline	3 (3.0)	1 (2.3)	2 (3.6)	0.72
Meropenem	36 (36.4)	15 (34.9)	21 (37.5)	0.79
Meropenem MIC $\leq$ 8 mg/L	15 (15.2)	9 (20.9)	6 (10.7)	0.16
Meropenem extended infusion	35 (35.4)	15 (34.9)	20 (35.7)	0.93
dose				
Bacteria				
<i>Acinetobacter baumannii</i>	52 (52.5)	23 (53.5)	29 (51.8)	0.87
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25 (25.3)	10 (23.3)	15 (26.8)	0.69
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14 (14.1)	7 (16.3)	7 (12.5)	0.60
<i>Enterobacter cloacae</i>	7 (7.1)	3 (7.0)	4 (7.1)	0.97
<i>Escherichia coli</i>	1 (1.0)	0 (0)	1 (1.8)	0.38

ICU, Intensive Care Unit; APACHE, Acute Physiology; Chronic Health Evaluation; MV, mechanical ventilation.

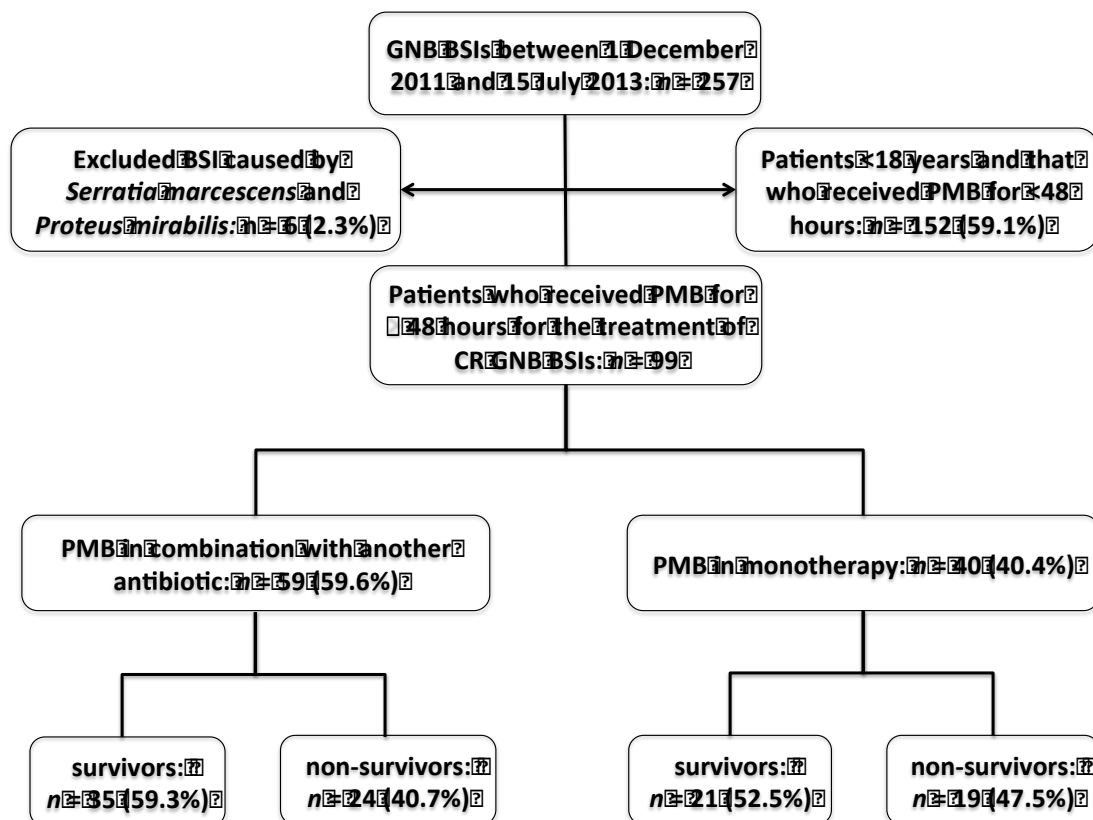
<sup>a</sup> Data are n (%) unless otherwise indicated

**Table 3** Multivariate analysis of factors associated with 30-day mortality in patients treated with intravenous polymyxin B

Variable	HR <sup>a</sup>	95% CI	P value
Combination therapy	0.70	0.36-1.36	0.29
Pitt bacteremia score	1.10	1.02-1.19	0.009
Severe sepsis or septic shock	2.57	1.18-5.57	0.02
Neoplasia	2.15	1.02-4.53	0.04

HR, Hazard Ratio; CI, confidence interval.

<sup>a</sup> Adjusted for propensity score ( $P = 0.39$ ), which included the variables: age, gender, weight (kg), baseline creatinine clearance, average daily dose, time to start polymyxin B, APACHE II and *Acinetobacter baumannii* infection.



**Fig. 1.** Flow chart of eligible and excluded patients.

GNB BSI, Gram-negative bacteria bloodstream infection; PMB, polimixina B;

CR GNB, carbapenem resistant Gram-negative bacteria.

30-day mortality, survivors and non-survivors.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, a terapia com PMB para pacientes com ICS por BGN MR, em monoterapia ou terapia combinada com outro antimicrobiano, é um assunto em discussão, pois as evidências são ainda escassas. Os seguintes aspectos são considerados:

- O estudo não demonstrou diferença significativa de mortalidade em 30 dias nos dois grupos de terapia analisados. A prática de associar um segundo antimicrobiano, no esquema terapêutico com PMB, especialmente, para infecções por BGN com resistência *in vitro*, ainda não está suportado por evidência clínicas, mas os resultados podem ter sido prejudicados pela amostragem pequena;
- A dose de PMB, o tempo de início da terapia antimicrobiana e o tipo de antimicrobiano adjuvante não interferiram no desfecho em ambos os grupos analisados;
- A frequência de insuficiência renal aguda foi similar em ambos os grupos e semelhantes a outros estudos;
- A sepse grave/choque séptico no dia da ICS, alta pontuação do escore de bacteremia de Pitt e a presença de neoplasia como doença de base foram independentemente associados a maior mortalidade em 30 dias no modelo de regressão de Cox.
- Apesar de não ser significativa, houve uma tendência a um efeito benéfico da combinação em pacientes com ICS por BGN CR da família Enterobacteriaceae.

## **8 PERSPECTIVAS**

Várias perguntas continuam sem respostas, mas as investigações estão ocorrendo em vários locais, e resultados esclarecedores poderão ser vislumbrados em breve. Acreditamos que este trabalho agrega mais uma evidência que deve ser considerada no momento da prescrição da PMB, apesar dos fatores limitantes do tipo de estudo.

A indicação de terapia combinada deve seguir um protocolo de prescrição determinado por fatores de risco, gravidade da doença e diagnóstico topográfico esclarecido para evitar o abuso desta droga e, conseqüentemente, emergência de subpopulações com heterorresistência ou resistência à PMB.

**9 ANEXO**

## Ficha de coleta de dados

**Infecção de corrente sanguínea por bacilos Gram-negativos tratados com Polimixina B**

Nome (Iniciais): \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_ Sexo (M) (F) Idade: \_\_\_\_\_ a

Data da Internação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ kg Altura: \_\_\_\_\_ m

Bactéria: \_\_\_\_\_

Data HMC positiva: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Antibiograma:**

- |   |  |   |                                      |
|---|--|---|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Ciprofloxacino       | <input type="checkbox"/> Levofloxacino | <input type="checkbox"/> Ticarcilina+cla                  | <input type="checkbox"/> Gentamicina |
| <input type="checkbox"/> Amicacina            | <input type="checkbox"/> Doxiciclina   | <input type="checkbox"/> Cefepima                         | <input type="checkbox"/> Ceftazidima |
| <input type="checkbox"/> Ceftriaxona          | <input type="checkbox"/> Cefotaxima    | <input type="checkbox"/> Cefuroxima                       | <input type="checkbox"/> Cefoxitina  |
| <input type="checkbox"/> Aztreonam            | <input type="checkbox"/> SMX-TMP       | <input type="checkbox"/> Ampicilina                       | <input type="checkbox"/> Tigeciclina |
| <input type="checkbox"/> Ampicilina/sulbactam |  | <input type="checkbox"/> Piperacilina/tazobactam          |                                      |
| <input type="checkbox"/> Ertapenem. MIC_____  |  | <input type="checkbox"/> Meropenem. MIC_____              |                                      |
| <input type="checkbox"/> Imipenem. MIC_____   |  | <input type="checkbox"/> Polimixina B/Colistina. MIC_____ |                                      |

APACHE II: \_\_\_\_\_

Internação em CTI no momento da bacteremia? (NÃO) (SIM) : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Ventilação mecânica no momento da bacteremia? (NÃO) (SIM)

Sepse grave ou choque séptico no dia da HMC positiva? (NÃO) (SIM)

Cateter: (NÃO) (SIM)

Remoção nos primeiros 5 dias após data HMC positiva? (NÃO) (SIM) (NA)



**Escore Pitt:** \_\_\_\_\_

**Sítio da bacteremia:**

- ( ) Primária ( ) Cateter venoso central  
 ( ) Trato urinário ( ) Ortopédico  
 ( ) Trato respiratório Inferior ( ) Intra-abdominal  
 ( ) Infecção sítio cirúrgico \_\_\_\_\_

**Infecção polimicrobiana:** (NÃO) (SIM) Qual agente? Qual perfil? \_\_\_\_\_

---



---



---



---

**ATB nos últimos 14 dias (por pelo menos 48h):** (NÃO) (SIM) Quais? \_\_\_\_\_

---



---



---



---

**Escore Charlson:** \_\_\_\_\_

**Comorbidades:**

- ( ) Pulmonar ( ) Cardiovascular ( ) Diabetes  
 ( ) Neoplasia ( ) Tecido conjuntivo ( ) Hepatopatia  
 ( ) Neurológica ( ) HIV/AIDS ( ) Insuficiência renal crônica  
 ( ) Imunossupressão por drogas

**Creatinina basal:** \_\_\_\_\_ **Creatinina máx no tto:** \_\_\_\_\_

Hemodiálise (NÃO) (SIM) Qual? \_\_\_\_\_

**Drogas nefrotóxicas durante o uso de Polimixina B?** (NÃO) (SIM) Quais? \_\_\_\_\_

---



---

**Data início Polimixina B:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ até \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Polimixina B com início nas primeiras 72h após HMC?** (NÃO) (SIM)

Início: ( ) ≤24h                    ( ) 25-48                    ( ) 49-72

**Dose de ataque?** (NÃO) (SIM) \_\_\_\_\_ mg

**Dose manutenção:** \_\_\_\_\_ mg/dia

**Drogas associadas durante o uso de Polimixina B por > 48h?** (NÃO) (SIM)

Se sim, qual e posologia completa:

---

---

---

**Desfechos:**

Óbito: (NÃO) (SIM) : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Alta: (NÃO) (SIM) : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_