

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

**IMPACTO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE AMICACINA  
NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR ENTEROBACTÉRIAS  
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**

DIÓGENES RODRIGUES

Porto Alegre

2020

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

**IMPACTO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE AMICACINA  
NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR ENTEROBACTÉRIAS  
RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**

DIÓGENES RODRIGUES

Orientadora: Prof. Dra. Maria Helena Rigatto

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

Porto Alegre

2020

### CIP - Catalogação na Publicação

Rodrigues, Diógenes

Impacto da concentração inibitória mínima de amicacina no tratamento de infecções por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos. / Diógenes Rodrigues. -- 2020.

57 f.

Orientador: Maria Helena Rigatto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Amicacina. 2. Concentração inibitória mínima. 3. Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos. 4. Mortalidade. 5. Testes de sensibilidade microbiana. I. Rigatto, Maria Helena, orient. II. Título.

*“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”. (Roger Von Oech).*

## **Agradecimentos**

À orientadora e professora Dr<sup>a</sup> Maria Helena Rigatto pela confiança depositada, pelo apoio dedicado a meu crescimento profissional e valiosos ensinamentos durante essa trajetória.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

À UFRGS, aos seus professores e funcionários pela oportunidade de realizar o curso.

À FIPE-HCPA pelo apoio financeiro ao projeto.

Aos colegas do Laboratório Clínico do Hospital São Lucas da PUCRS, em especial aos amigos da Microbiologia, pelas discussões, pela ajuda nos mais variados assuntos e pelo privilégio de poder conviver e aprender com vocês.

Aos bolsistas Aline, Douglas e Giulia pela contribuição em diversas etapas desse projeto.

Ao setor de Microbiologia do Diagnóstico Laboratorial do HCPA, pela parceria e colaboração.

Ao Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (Labresis) pela colaboração com o projeto.

À minha família que, com todo apoio e compreensão nos momentos difíceis, tornou possível essa caminhada, em especial minha esposa Rocheli e minha filha Clara pelo companheirismo, incentivo, paciência e amizade.

Às demais pessoas e Instituições que, de uma forma ou outra, contribuíram para a concretização deste trabalho.

## RESUMO

**Base teórica:** A disseminação mundial das Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) representa uma séria ameaça para a saúde pública. A amicacina é um aminoglicosídeo frequentemente utilizado em combinações terapêuticas para bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenêmicos, por ser uma das poucas opções com sensibilidade *in vitro* frequentemente preservada nesses casos.

**Objetivos:** Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) de amicacina e determinar o impacto no desfecho clínico em pacientes tratados com esta droga para infecções por ERC.

**Métodos:** Foi realizada uma coorte retrospectiva de pacientes com idade >18 anos, com culturas positivas para ERC em dois hospitais terciários de Porto Alegre, Brasil. Os testes de susceptibilidade à amicacina foram realizados pela técnica de microdiluição em caldo. Nosso desfecho primário foi mortalidade em 30 dias. Os desfechos secundários foram nefrotoxicidade e *clearance* microbiológico. A nefrotoxicidade foi avaliada pelo *escore* RIFLE. Todos os testes bicaudais e  $P \leq 0,05$  foram considerados significativos. Uma análise de regressão Cox foi realizada para mortalidade.

**Resultados:** Foram incluídos 86 pacientes para análise. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) foi o mecanismo de resistência identificado em 82 (95,3%) e New-Dehli Metallobetalactamase (NDM) em 4 (4,7%) amostras. A MIC50 e MIC90 para amicacina foram de 1 µg / mL e 4 µg / mL, respectivamente. Sessenta e um pacientes (72,1%) foram tratados com terapia combinada suscetível com polimixinas. Vinte e nove (33,7%) pacientes morreram em 30 dias. Os valores da CIM não influenciaram na mortalidade ( $P = 0,18$ ). Os fatores finais no modelo de regressão Cox foram idade ( $P = 0,04$ ) e uso de vasopressores ( $P = 0,01$ ). Trinta e três (37,2%) pacientes desenvolveram lesão renal aguda (LRA) durante o tratamento com amicacina pelos critérios do RIFLE. Os fatores de risco para LRA foram: maior taxa de filtração glomerular basal estimada (TFGe) ( $P < 0,01$ ) e dias de uso de amicacina ( $P = 0,04$ ). Todos os pacientes que desenvolveram lesão ou falha renal estavam recebendo polimixinas. A depuração bacteriana ocorreu em 18 (60%) dos 30 pacientes que coletaram culturas subsequentes nos primeiros 14 dias de terapia. Duas (16,6%) das 12 culturas persistentemente positivas, alteraram o perfil de sensibilidade para amicacina, pois passaram de suscetível para intermediário durante a terapia.

**Conclusão:** A amicacina é uma opção terapêutica importante para infecções por ERC e é necessário conhecer a distribuição de CIMs para este medicamento. Isolados com valores baixos de CIM, como os obtidos nesta coorte, não tiveram impacto em desfecho clínico ou microbiológico. Desta forma, nenhum ajuste de dose específico parece necessário, especialmente quando este medicamento é combinado com outros antibióticos ativos *in vitro*. A nefrotoxicidade esteve relacionada aos dias de uso de amicacina, mas não a dose total diária.

**Palavras-chave:** Amicacina, CIM, ERC e mortalidade.

## ABSTRACT

**Background:** The worldwide spread of Carbapenem-resistant Enterobacteriales (CRE) poses a serious threat to public health. The amikacin is an aminoglycoside often used in therapeutic combinations for carbapenemic resistant Gram-negative bacilli, as it is one of the few *in vitro* sensitivity options often preserved in these cases.

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the minimum inhibitory concentration (MIC) of amikacin and to determine the impact on clinical outcome in patients with this drug for CRE infections.

**Methods:** We conducted a retrospective cohort of patients aged > 18 years, with positive cultures for CRE in two tertiary hospitals in Porto Alegre, Brazil. Amikacin susceptibility tests were performed by broth microdilution technique. Our primary outcome was mortality within 30 days. Secondary outcomes were nephrotoxicity and biological clearance. Nephrotoxicity was assessed by the RIFLE score. All two-tailed tests and  $P \leq 0.05$  were used. A Cox regression analysis was performed for mortality.

**Results:** We included 86 patients for analysis. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) was the resistance mechanism identified in 82 (95.3%) and New-Dehli Metallobetalactamase (NDM) in 4 (4.7%) samples. Amikacin MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> were 1 µg/mL and 4 µg/mL, respectively. Sixty-one patients (72.1%) were treated with susceptible combination therapy with polymyxins. Twenty-nine (33.7%) patients died in 30-days. MIC values did not influence on mortality ( $P=0.18$ ). Final factors in Cox regression model were age ( $P=0.04$ ) and vasopressor use ( $P=0.01$ ). Thirty-three (37.2%) patients developed acute kidney injury (AKI) during amikacin therapy by RIFLE criteria. Risk factors for AKI were: higher baseline estimated glomerular filtration rate (eGFR) ( $P<0.01$ ) and days of amikacin use ( $P=0.04$ ). All patients that developed renal injury or failure were receiving polymyxins. Bacterial clearance occurred in 18 (60%) of 30 patients who collected subsequent cultures in the first 14 days of therapy. Two (16.6%) of the 12 persistently positive cultures changed the sensitivity profile to amikacin, as they passed from susceptible to intermediate during therapy.

**Conclusion:** Amikacin is an important therapeutic option for CRE infections and it is necessary to know the distribution of MICs to this drug. At low MIC values, no specific dose adjustments seem necessary, specially when this drug is combined to other *in vitro* active



antibiotics. Nephrotoxicity was related to days of antibiotic use and it should be monitored, especially in long-course therapies.

**Key Words:** Amikacin, MIC, CRE and mortality.

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1** - Fluxograma da revisão da literatura

**Figura 2** – Placa de poliestireno para microdiluição.

**Figura 3** – Estrutura química da amicacina.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG - Aminoglicosídeos

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC - *American Type Culture Collection*

BGN - Bacilos Gram-negativos

CIM - Concentração inibitória mínima

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

Cmax - Concentração sérica máxima

EMA - Agência Europeia de Medicamentos

ERC - Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos

ESBL – Beta-lactamases de espectro estendido

EUCAST - *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

FC- Farmacocinética

FD - Farmacodinâmica

FDA - Food and Drug Administration

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

KPC - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

LRA - Lesão renal aguda

PAV - Pneumonia associada à ventilação mecânica

PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

RNA - Ácido ribonucleico

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	15
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações	15
2.2 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Epidemiologia	17
2.3 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Diagnóstico	17
2.4 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Impacto clínico	19
2.5 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Terapia	20
2.6 Aminoglicosídeos	22
<b>3. MARCO CONCEITUAL</b>	28
<b>4. JUSTIFICATIVA</b>	29
<b>5. OBJETIVOS</b>	30
<b>6. REFERÊNCIAS</b>	31
<b>7. ARTIGO</b>	35
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	53
<b>9. PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	54
<b>10. ANEXOS</b>	55

## 1. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares por bacilos Gram-negativos (BGN) são eventos frequentes, estas acometem mais frequentemente os pacientes idosos, sendo a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) o local mais comum. Entre os BGN, as Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) estão associadas a mortalidade de até 50% (1).

O aumento da prevalência mundial de infecções por ERC, principalmente a *Klebsiella pneumoniae* produtora de Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC), são especialmente preocupantes pois essas bactérias frequentemente carregam genes que podem conferir altos níveis de resistência aos carbapenêmicos, além de outros antibióticos. Além disso, o número limitado de novos medicamentos disponíveis para o tratamento destas infecções representa um grande desafio terapêutico para os clínicos (2).

Alguns antibióticos como a tigeciclina, polimixinas e alguns aminoglicosídeos (AG) mostram atividades favoráveis *in vitro* contra as ERCs (3). Mais recentemente, a aprovação do uso de ceftazidima-avibactam para tratamento de ERC traz uma perspectiva nova neste cenário. Diversos estudos mostraram menor mortalidade e toxicidade desta nova droga quando comparado aos antibióticos antigos (4). No entanto, desafios como custo ainda limitam o amplo uso desta medicação. O relato de emergência de resistência quando ceftazidima-avibactam foi usado em monoterapia também é uma preocupação (5). Além disso, estudos sobre a eficácia terapêutica, sugerem benefício da terapia combinada para infecções sanguíneas causadas por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC (6).

Os AG são drogas ainda frequentemente utilizadas na composição de esquemas terapêuticos para tratamento de ERC. É importante destacar que a monoterapia com AG é limitada e não é recomendada em infecções graves por não apresentarem resultados favoráveis comparado a terapia combinada (7). A concentração inibitória mínima (CIM) para amicacina em ERC não é rotineiramente testada em muitos laboratórios. A dificuldade de atingir o alvo terapêutico de AG em infecções com CIM no limite superior de suscetibilidade representa um desafio no uso desta classe de antibióticos. Além disso, a nefrotoxicidade dose-dependente pode limitar o uso de doses elevadas.

Para a execução deste trabalho, foi realizado um estudo de coorte visando caracterizar a distribuição das CIMs para amicacina em amostras obtidas de pacientes com infecções por ERC e tratados com esta droga, bem como avaliar o seu impacto na mortalidade.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

Esta revisão da literatura evidencia os aspectos relacionados à amicacina no tratamento de infecções por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos. A estratégia de busca de informações envolveu pesquisas em livros e pesquisas via descritores DeCS/MeSH (“Amikacin”, “Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae” and “Microbial Sensitivity Tests”) nas seguintes bases de dados como Pubmed, Lilacs e Scielo conforme esquematizado na Figura 1.

#### 2.1.1 Resultado da busca de dados

- Estratégia Pubmed - 23 artigos

(Amikacin[mh] OR Yectamid[tw] OR Amikacina Medical[tw] OR Amikacina Normon[tw] OR Amikafur[tw] OR Amikalem[tw] OR Amikason's[tw] OR Amikayect[tw] OR Amikin[tw] OR Biklin[tw] OR Biclin[tw] OR Amiklin[tw] OR Amukin[tw] OR BB-K8[tw] OR BB K8[tw] OR BBK8[tw] OR BB-K 8[tw] OR BB K 8[tw] OR BBK 8[tw] OR Gamikal[tw] OR Kanbine[tw] OR Oprad[tw] OR A.M.K[tw] OR Amikacin Sulfate[tw]) AND (Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae[mh] OR Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae[tw] OR Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae[tw]) AND (Microbial Sensitivity Tests[mh] OR Microbial Sensitivity Tests[tw] OR Minimum Inhibitory Concentration\*[tw] OR Antimicrobial Susceptibility Breakpoint Determination[tw]).

- Estratégia Lilacs - 0 artigos

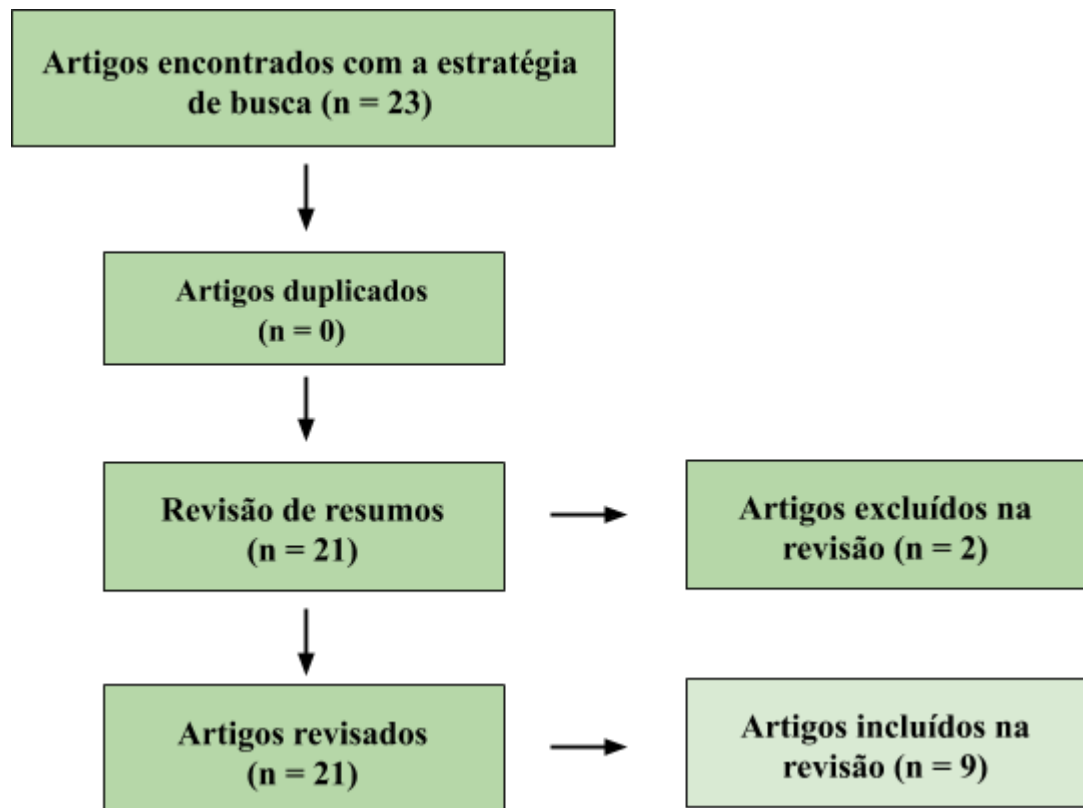
Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae [Words] and amikacin [Words] and Microbial Sensitivity Tests [Words].

- Estratégia Scielo - 0 artigos

(Enterobacteriáceas Resistentes a Carbapenêmicos ) OR (Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae ) OR ( Enterobacteriaceae Resistentes a los Carbapenémicos) AND

(amikacin) OR (Amicacina ) AND (Testes de Sensibilidade Microbiana) AND (Microbial Sensitivity Tests ) AND (Pruebas de Sensibilidad Microbiana).

### 2.1.2 Fluxograma da revisão da literatura



**Figura 1.** Fluxograma da revisão da literatura.

Em busca de mais dados, também foram incluídos artigos clássicos e referências dos artigos encontrados na busca inicial.



## **2.2 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Epidemiologia**

As infecções por Enterobacteriales resistentes a múltiplas drogas são na maioria das vezes causadas por cepas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) ou carbapenemases, e representam uma crescente ameaça global. Ao longo dos anos, surgiu uma série de questões importantes no gerenciamento dos pacientes com infecções causadas por esses agentes patógenos, como a complexidade do mecanismo de resistência, a escolha e o momento do tratamento empírico ou direcionado, a dosagem antimicrobiana e a escolha do tratamento em monoterapia ou combinada (7).

A resistência aos carbapenêmicos têm se propagado em todo o mundo durante a última década, apresentando variações geográficas da epidemiologia molecular. A produção de KPC é o mecanismo de resistência mais comum entre as Enterobacteriales produtoras de carbapenemase (7). Múltiplos mecanismos de resistência aos carbapenêmicos foram identificados, incluindo superexpressão de bombas de efluxo, mutações de porinas e inativação enzimática (1).

*Klebsiella pneumoniae* é um dos membros mais importantes da família Enterobacteriaceae, tendo sido a primeira bactéria onde foi identificado produção de KPC e a mais frequentemente associada a presença deste mecanismo de resistência. A *Klebsiella pneumoniae* é responsável por diferentes infecções, como trato urinário, bacteremia, sepse, abscessos, infecções respiratórias. Essa bactéria está presente frequentemente em infecções hospitalares, incluindo pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) nos pacientes em UTIs e infecções da corrente sanguínea, causando elevada mortalidade e morbidade (8). Sabino et al. (2019) mostraram em uma coorte de 1190 pacientes com sepse que infecções por ERC tiveram mortalidade de 63,8% versus 33,4% em outras etiologias ( $P < 0,01$ ) (9).

## **2.3 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Diagnóstico**

O diagnóstico de ERC em amostras clínicas na rotina dos laboratórios de microbiologia, depende do crescimento desses bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenêmicos nos meios de culturas, principalmente em ágar MacConkey, que é um

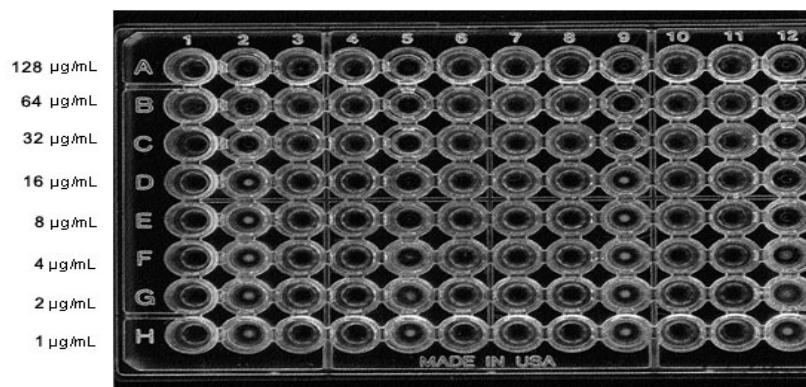
meio seletivo e diferencial de bactérias Gram-negativas. A identificação das espécies pode ser realizada por testes bioquímicos ou sistema automatizado.

A determinação do perfil de suscetibilidade frente aos antimicrobianos no laboratório de microbiologia clínica é uma atividade importante para auxiliar na seleção da terapia antimicrobiana (1). Diversos métodos laboratoriais podem ser utilizados para determinar o perfil de suscetibilidade, como exemplo, o método de disco-difusão em ágar, considerado um método simples e confiável, pode ser realizado através da aplicação dos discos de antimicrobianos sobre a placa de ágar após a semeadura do inóculo bacteriano de aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL. Os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano são medidos em milímetros, fornecendo resultados qualitativos, podendo ser interpretados conforme o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ou BRCast em: intermediário, resistente ou sensível (10, 11). Entretanto, os resultados devem ser interpretados com cautela. Em um estudo que avaliou os critérios CLSI e *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), os isolados foram não suscetíveis para amicacina em 39% e 52%, respectivamente. Devido aos diferentes critérios estabelecido pelo EUCAST e pelo CLSI para a amicacina, em particular, a suscetibilidade, houve uma diferença estatisticamente significativa nos resultados (p= 0,0008) (2).

Outro método alternativo de determinação do perfil de suscetibilidade pode ser feita de Etest® (bioMérieux). Esta fita plástica é impregnada com concentrações crescentes de antimicrobiano, possuindo escala de concentração para facilitar a leitura. Possui a vantagem de ter um menor custo e fácil execução comparada a microdiluição, porém alterações no pH do meio podem afetar a determinação da CIM (10,11).

Considerada padrão-ouro, a microdiluição em caldo tem a vantagem de envolver o uso de pequenos volumes, fornecendo resultados quantitativos através da determinação da CIM, e auxiliando ao clínico para eventuais ajustes de dose (1). Entretanto, esse método para determinar a sensibilidade *in vitro* é mais trabalhoso e possui alto custo. As placas (Figura 2) são fabricadas em poliestireno estéreis com 96 poços com o fundo em formato de “U” para permitir a melhor visualização do crescimento bacteriano. Para preparar as placas de microdiluição, são pipetados 50 µL de suspensão bacteriana de concentração ajustada a 1,5x10<sup>8</sup> UFC/mL e 50 µL do

antibiótico a ser testado, podendo ser diluído os agentes antimicrobianos em distintas concentrações (1, 10).



**Figura 2.** Placa de poliestireno para microdiluição. Fonte: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Além disso, para ajudar a agilizar os resultados no diagnóstico de ERC diretamente de hemoculturas positivas, existem protocolos para detecção rápida de produção de carbapenemase. Em um estudo, foram avaliados 4 protocolos ( $\beta$ -Carba, bcCarba NP, NeoRapid Carb e bcCIM) para detecção rápida da produção de carbapenemase em enterobactérias diretamente de 104 hemoculturas. A sensibilidade / especificidade foi de 99,0% / 95,1% para bcCarba NP, 99,0% / 91,4% para NeoRapid Carb, 100% / 95,1% para  $\beta$ -Carba e 100% / 100% para bcCIM. O tempo de obtenção de um resultado foi de 20 a 45 min para  $\beta$ -Carba, 2 a 3 h para bcCarba NP, 2,5 a 2 h para NeoRapid Carb e 18 a 24 h para bcCIM. Porém, a maioria dos laboratórios ainda não incorporam essas técnicas na rotina (12).

#### **2.4 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Impacto clínico**

As infecções causadas por ERC têm sido cada vez mais relatadas na última década. As carbapenemases constituem o principal mecanismo de resistência aos carbapenêmicos em Enterobacteriales (13). Infecções hospitalares causadas por ERC, constituem um problema mundial associadas com a alta morbidade, mortalidade e prolongamento de hospitalização e custos associados. A propagação de carbapenemases em *Klebsiella pneumoniae* trouxe dilemas terapêuticos para os clínicos devidos os isolados serem frequentemente resistentes a muitas classes de

antibióticos, limitando assim as opções terapêuticas e aumentando custos hospitalares devido à hospitalização prolongada, consultas médicas e testes laboratoriais (13).

Sabino et al. (2019) mostraram em uma coorte de 1190 pacientes com sepse que infecções por ERC tiveram mortalidade de 63,8% versus 33,4% em outras etiologias ( $P < 0,01$ ) (9). Além disso, evidenciaram que as taxas da terapia empírica adequada em sepse causada por ERC mostraram ser mais baixas em relação a outros patógenos, 9 (13,0%) do total de 69 versus 250 (49,8%) dos 502, respectivamente ( $P = 0,01$ ) (9). O início de terapia antibiótica efetiva em até 1h do diagnóstico de infecções levando a sepse está relacionado à maior sobrevivência dos pacientes. A terapia antimicrobiana combinada é recomendada em pacientes em choque séptico. A necessidade de início precoce de tratamento adequado para estas infecções têm aumentado o consumo de antibióticos de resgate para tratamento de ERC (14).

A terapia antimicrobiana empírica inadequada, por sua vez, tem sido associada a um aumento da morbidade e mortalidade nestes pacientes. A identificação das ERCs em amostras clínicas pelos laboratórios pode levar mais de um dia, sendo importante a identificação correta e precoce de pacientes em risco de infecção por ERC que podem receber tratamento empírico para tal (7).

## **2.5 Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos: Terapia**

Os BGN resistentes aos carbapenêmicos são frequentemente resistentes a diversos antibióticos, tendo como terapia de resgate mais frequente as polimixinas, alguns AG e tigeciclina. Mais recentemente, em junho de 2018, a ANVISA aprovou o uso de ceftazidima-avibactam para a terapia de infecções por BGN. Este medicamento possui alta atividade bactericida e eficácia terapêutica como os beta-lactâmicos associado a um inibidor de beta-lactamase de alta potência, capaz de inibir a enzima KPC, representando uma nova perspectiva para o tratamento de infecções por BGN multirresistentes (15, 16). O avibactam é um novo medicamento não beta-lactâmico inibidor da beta-lactamase aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) e Agência Europeia de Medicamentos (EMA), que restaura a atividade da ceftazidima contra a maioria das beta-lactamases de classes A, C e algumas da serina D, incluindo ESBL e KPC, exceto metalo-beta-lactamases (4).

As polimixinas foram nos últimos anos um dos agentes antimicrobianos amplamente utilizados nessas infecções (17). O uso de terapia combinada com 2 ou mais antimicrobianos com susceptibilidade *in vitro* foi associado a melhor desfecho clínico em estudos com ERC. Sendo assim, a combinação de amicacina e tigeciclina pode efetivamente suprimir seleção de resistência em baixas concentrações sendo útil na terapia clínica contra ERC (3).

As infecções da corrente sanguínea por KPC estão relacionadas a altas taxas de mortalidade e a terapia combinada tem sido associada a menor mortalidade. Medeiros et al. (2019) realizaram um estudo de coorte retrospectivo que incluiu pacientes com infecções da corrente sanguínea por KPC, sendo que o desfecho primário foi mortalidade em 30 dias. Neste estudo, foram incluídos 82 infecções da corrente sanguínea por KPC e 40 (48,7%) pacientes morreram no primeiros 30 dias. A mortalidade de pacientes tratados com a combinação de dois antibióticos, principalmente polimixina B mais amicacina, foi significativamente menor (37,5%) comparado à monoterapia (64,7%), ( $P = 0,01$ ). Portanto, a terapia combinada com dois agentes ativos *in vitro*, principalmente polimixina B mais amicacina, mostrou ser benéfico na sobrevida quando comparado a outros regimes (18).

Em outro estudo foram incluídos 255 pacientes com infecção da corrente sanguínea por Enterobacterales. Entre essas amostras, foram identificados 53 isolados produtores de carbapenemase. A terapia combinada foi significativamente mais frequente no grupo com esta infecção ( $p < 0,001$ ). A mortalidade geral foi de 37% (94/255) e significativamente maior nos pacientes com infecção de corrente sanguínea por Enterobacteriaceae produtora de carbapenemase ( $p < 0,001$ ). No entanto, os pesquisadores ressaltaram que os pacientes que receberam a terapia combinada e àqueles que receberam monoterapia tiveram mortalidade semelhante (13).

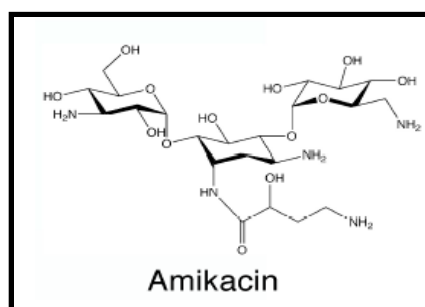
Conforme Gutierrez et al. (2017), a terapia combinada está associada a menor mortalidade do que a monoterapia apenas em pacientes com *score* maior de mortalidade. Neste estudo, entre os pacientes que receberam terapia apropriada ( $n=343$ ), 208 (61%) receberam monoterapia e 135 (39%) receberam terapia combinada. Dos pacientes que receberam monoterapia, 85 (40,9%) morreram em até 30 dias em comparação com 47 (34,8%) dos pacientes que receberam terapia combinada ( $P= 0,26$ ) (19).

Tem-se documentado na última década um aumento de ERC resistente às polimixinas. Esta ocorre principalmente pela modificação nas moléculas do lipopolissacarídeo que formam a camada externa da membrana externa. Estima-se que no Brasil, as infecções por ERC resistentes à polimixina é de aproximadamente 27% (20). Embora o ceftazidima-avibactam represente uma opção terapêutica de melhor efetividade e menor toxicidade, seu uso ainda é limitado especialmente pelo custo. Além disso, o desenvolvimento de resistência trans-tratamento quando usado em monoterapia já foi relatado em diversos estudos (4).

Os AG, em especial a amicacina, ganharam importância terapêutica neste cenário de multirresistência. Grande parte dos isolados mantém susceptibilidade a esta droga que é frequentemente utilizada como parte do esquema terapêutico seja em monoterapia ou combinação com outros antibióticos (2). As características principais desta classe serão descritas no tópico a seguir.

## 2.6 Aminoglicosídeos

Os antibióticos AG foram descobertos na década de 40 pelo Departamento de Microbiologia Experimental da Universidade Rutgers de New Jersey, nos Estados Unidos. O isolamento de uma cepa de *Streptomyces griseus* que produzia uma substância que inibia o crescimento do bacilo da tuberculose e micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos foi realizado. Em 1944, a estreptomicina foi isolada e a partir de então, foram descobertas uma série de novas substâncias com potencial antibacteriano, como por exemplo, a amicacina (Figura 3), um AG semissintético derivado da canamicina (21). Estes compostos estão entre os antibióticos mais antigos usados para tratar infecções bacterianas desde 1944, exibem amplo espectro de ação que inclui a maioria dos BGNs e algumas espécies de Gram-positivos (22).



**Figura 3.** Estrutura química da amicacina.

Os AG são bactericidas, seu principal sítio de ação é a subunidade 30S do ribossomo procariótico, interrompendo a síntese proteica bacteriana. Para alcançar este sítio, eles se ligam à parede celular bacteriana e passam por transporte ativo para o citosol celular (17). Os AG inibem a síntese de proteínas por ligação ao sítio A na porção 16S da subunidade 30S do ácido ribonucleico (RNA) ribossômico. Entretanto, existe entre os diferentes AG uma especificidade por regiões diferentes do sítio A, mas todas alteram essa conformação, com o resultado dessa interação, o antibiótico promove erros de tradução causando danos na membrana celular bacteriana (23).

Os AG são ativos contra mais que 50% dos isolados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos (24). Em um estudo realizado por Martins et al (2017), um total de 4000 isolados de Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos foram isolados em amostras clínicas de pacientes de 50 hospitais brasileiros (Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, Cascavel, Londrina, Maringá, Joinville, Ponta Grossa, Foz do Iguaçu, Francisco Beltrão), durante o período de 2013-2015. Destes 4000 isolados, 499 isolados resistentes aos carbapenêmicos foram avaliados via microdiluição em caldo a fim de determinar a atividade em diferentes antimicrobianos, entre eles a amicacina. No que diz respeito ao AG amicacina, 50% dos isolados de Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos foram suscetíveis (2).

Diferentes agentes antimicrobianos, como placomizina e amicacina, foram testados usando o método de microdiluição em caldo contra 4.825 isolados clínicos coletados durante 2014 e 2015 em 70 hospitais dos EUA. Neste trabalho, a amicacina (MIC50 e MIC90, 1 e 4 g/ml, respectivamente) inibiu 98,9% dos isolados de Enterobacterales, usando o ponto de corte do CLSI. Além disso, apenas 14 isolados foram resistentes à amicacina ao aplicar os critérios CLSI (25). Em estudo realizado por Shortridge et al. 2018, a amicacina foi um dos compostos mais ativos testados contra Enterobacterales, sendo 99,0% dos isolados sensíveis.

A amicacina é um AG frequentemente utilizada em combinações terapêuticas para BGN multirresistentes, no entanto, seu uso pode levar a efeitos adversos, sendo os mais significativos à perda de função renal e ototoxicidade (24). Atualmente, apesar de preocupações com a toxicidade e as taxas de resistência entre os isolados clínicos, os AG ainda são uma importante opção para o tratamento de infecções causadas por

organismos multirresistentes (22). A atividade de amplo espectro dos AG é aumentada *in vitro* através da sinergia com outras classes de antimicrobianos (27). Esse fenômeno, no qual o efeito combinado de dois agentes antimicrobianos é maior que a soma de seus efeitos individuais, é particularmente bem caracterizado entre os AG e os agentes ativos de parede celular, como os  $\beta$ -lactâmicos, ajudaram a estimular o uso da terapia combinada contendo AG no tratamento de vários tipos de infecções (27).

O efeito antibacteriano da amicacina em BGN é determinado pela relação entre a concentração sérica máxima (C<sub>max</sub>) sobre a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do patógeno alvo (taxa C<sub>max</sub>/CIM). A atividade antibacteriana ótima e a taxa de resposta clínica são alcançados com uma relação C<sub>max</sub>/CIM entre 8 e 10 (24). No entanto, sabe-se que nas concentrações usualmente recomendadas (15mg/kg/dia) esse alvo terapêutico é difícil de ser atingido em bactérias com CIM próximo ou no limite de corte de 16 mg/L (10; 28).

Em uma simulação de Monte-Carlo, quando as CIMs encontram-se no limite superior de susceptibilidade para amicacina (16 mg/L determinada pelo CLSI) e para gentamicina (4 mg/L CLSI e 2 mg/L pelo EUCAST) o percentual de pacientes que atinge o alvo terapêutico é de apenas 0%, 2,6% e 27,2% respectivamente (28). Estudos farmacocinéticos recentes em pacientes gravemente doentes, mostraram que mesmo com doses muito superiores às geralmente prescrito, o alvo de FC / FD para aminoglicosídeos muito improvável será alcançado contra isolados com CIM mais altas, prejudicando a atividade antimicrobiana em monoterapia (28).

O desafio de atingir o alvo terapêutico com estas drogas se deve em parte às suas propriedades farmacocinéticas que incluem um volume de distribuição pequeno (0,2-0,3 L/Kg), meia-vida curta (2-3 horas), baixa proteína de ligação, metabolismo mínimo e depuração altamente dependentes da função renal. Vários estudos em pacientes críticos demonstram que os AG aumentam o volume de distribuição, resultando em diminuição da C<sub>max</sub>. Além disso, a meia-vida e a depuração de AG são altamente dependentes da taxa de filtração glomerular, que pode ser extremamente variável em pacientes críticos (28).

Publicações de dados clínicos dos AG utilizados como base contra isolados de ERC são escassos, principalmente em pacientes críticos. É importante reavaliar a prática atual com base nos princípios de farmacocinética (FC) e farmacodinâmica



(FD), no qual apoia o uso racional de AG. Conforme Neuner et al. (2016), o alvo FC/FD pode ser desafiador no tratamento de infecções por ERC devido aos CIMs elevados. Por exemplo, o ponto de corte de sensibilidade para amicacina segundo o CLSI é 16 mg/ml e o MIC90 para ERC está frequentemente no ponto máximo de corte ou acima, para atingir esses picos de concentração é muito difícil, portanto, destaca-se a importância da determinação da CIM. Por outro lado, a CIM de amicacina não é testada na rotina de muitos laboratórios de microbiologia. As CIMs na qual haveria benefício clínico da associação desta droga não foram ainda determinadas.

Apesar disso, os AG demonstraram ser mais eficazes do que a polimixina B ou a tigeciclina no tratamento de infecções de trato urinário por *Klebsiella pneumoniae* (30). Os AG são agentes antimicrobianos com rápida ação bactericida para ERC e um efeito sinérgico com outros agentes antimicrobianos utilizados no tratamento das infecções, como, carbapenêmicos e polimixinas (31). Em um estudo de coorte com 33 pacientes que utilizaram aminoglicosídeos em bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos, 30% (10/33) foram tratados com gentamicina em monoterapia e 70% (20/33) com amicacina em associação com doripenem e obteve-se uma taxa de sucesso clínico de 54% (18/33) (31). As taxas de sucesso foram maiores entre os pacientes com doenças subjacentes que foram classificadas como não fatais do que fatal (76% [13/17] versus 31% [5/16], respectivamente; P=0,015). É importante destacar que a monoterapia com AG é limitada e não é recomendada em infecções graves por não apresentarem resultados favoráveis comparado à terapia combinada (7).

Outro estudo de coorte retrospectivo envolveu todos os receptores de transplante renal com infecção por ERC entre 2013 e 2017. Todas as infecções ERC resistentes à polimixina, exceto uma, foram identificadas como *Klebsiella pneumoniae*. O tipo de infecção mais comum (em 54,3%) foi a ITU. Dos 46 isolados, 23 (50,0%) eram suscetíveis à amicacina. O sucesso clínico alcançou 78,9% dos pacientes que usaram aminoglicosídeos versus 37,0% daqueles que não usaram este medicamento (p = 0,007) (20).

De acordo com Zavascki et al. (2017) ainda existem poucas pesquisas publicadas detalhando o tratamento com aminoglicosídeos como agente antimicrobiano contra o ERC. Além disso, esses estudos não se limitam a pacientes gravemente enfermos, portanto a exploração dos resultados deve ser feito com cautela. Além disso,

a terapia baseada em AG provavelmente se tornará mais comum no tratamento de isolados de ERC resistentes à polimixina.

Existem poucas contraindicações com o uso de AG, no entanto, estes devem ser utilizados com cautela em pacientes com deficiência auditiva, vestibular e renal pré-existente devido à ototoxicidade, nefrotoxicidade e menos frequente a toxicidade neuromuscular relacionados a estas drogas. Características de base do paciente podem modificar o risco de toxicidade, como doenças pré-existentes, gravidade da doença, drogas concomitantes administradas e predisposição genética. Além disso, a terapia prolongada com AG demonstrou ser um fator de risco para toxicidade (23).

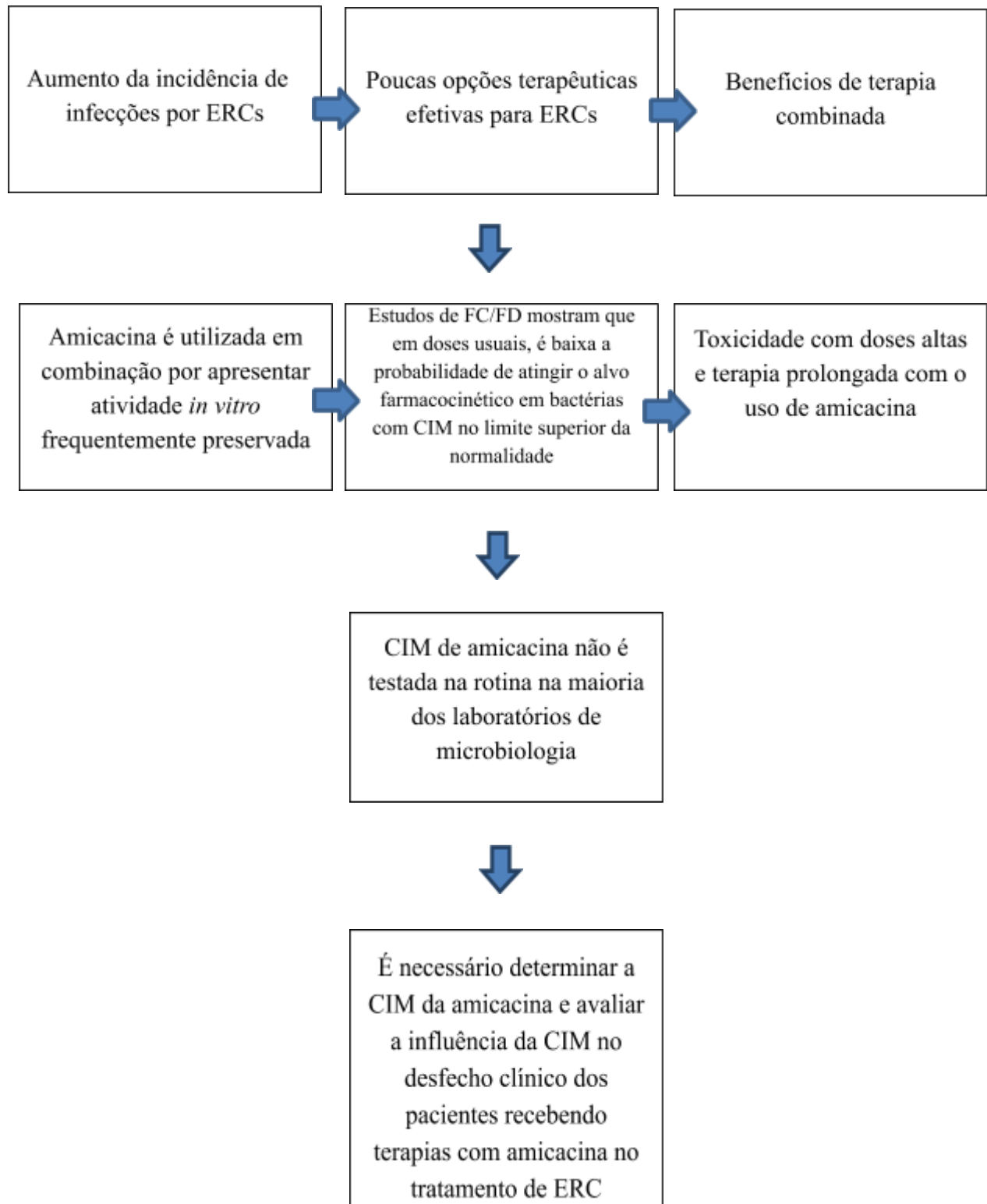
Como citado em Zavascki et al. (2017), a nefrotoxicidade é o efeito adverso mais comum associado aos aminoglicosídeos, embora a incidência relatada seja altamente variável. Doses altas de aminoglicosídeos com terapias administradas por uma semana ou mais apresentam um risco significativo de toxicidade. Existem evidências robustas, no entanto, de que os regimes posológicos diários resultarão em taxas de nefrotoxicidade significativamente mais baixas, pelo menos durante os primeiros 5 a 7 dias de terapia, em comparação com a dose de duas ou três vezes ao dia de aminoglicosídeos. Além disso, não há relatos de taxas mais altas de nefrotoxicidade em pacientes que recebem altas doses de aminoglicosídeos uma vez ao dia. Os autores ressaltam que um estudo de coorte mostrou que apenas 12% dos 562 pacientes tratados com aminoglicosídeos por pelo menos 5 dias apresentaram lesão renal aguda (LRA), conforme definido pelos critérios definidos em risco, lesão, falha e perda da função renal (28).

Os AG são bem conhecidos como causa de lesão renal aguda dose-dependente. Esta lesão está associada com maior mortalidade durante internações prolongadas e maior probabilidade de desenvolvimento de doença renal crônica. Essas drogas acumulam-se nas células do túbulo proximal onde interferem no metabolismo dos fosfolipídios, levando a morte de células epiteliais tubulares e necrose tubular aguda. (32).

A dificuldade de atingir o alvo FC e FD dos aminoglicosídeos em doses usuais somados a impossibilidade de aumento indiscriminado da dose devido a toxicidade tornam a prescrição destes antimicrobianos ainda um desafio na prática clínica, especialmente em pacientes críticos e com infecção por ERC. É necessário portanto

determinar a variabilidade dos valores de CIM para amicacina nos isolados clínicos com crescimento de ERC e o impacto da dose do antimicrobiano e de terapias combinadas no desfecho clínico dos pacientes tratados amicacina.

### 3. MARCO CONCEITUAL



#### **4. JUSTIFICATIVA**

Conforme Ong et al. (2016), o aumento da prevalência mundial de infecções por ERC é muito preocupante. A terapia de resgate baseia-se em polimixinas, alguns AG e tigeciclina. O gerenciamento das infecções causadas por ERC torna-se mais difícil devido a incidência de resistência a várias classes de antibióticos (7). Entretanto, em relação a amicacina, a dificuldade de atingir o alvo terapêutico em infecções com CIM no limite superior de sensibilidade representa um desafio no uso desta classe de antibiótico (34), além disso, rotineiramente não é avaliado o valor da CIM para amicacina nos laboratórios. Sendo assim, a determinação destes valores da CIM para amicacina, em amostras obtidas para esta pesquisa, proporcionará conhecermos os valores e variações entre a população estudada, e os resultados poderão contribuir para a seleção da terapia antimicrobiana.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo Primário**

Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) de amicacina em pacientes tratados com esta droga para infecções por Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) e seu impacto em mortalidade em 30 dias.

### **5.2 Objetivos Secundários**

- Determinar os valores de CIMs de amicacina pelo método de microdiluição em caldo;
- Avaliar os valores de CIMs de amicacina obtidos pela microdiluição em caldo, no desfecho clínico em pacientes com infecções por ERC;
- Analisar a nefrotoxicidade da terapia antimicrobiana combinada com amicacina contra as ERCs.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Haffler ZJ, Kulengowki B, Ribes JA, Burgess DS. Evaluation of the BD Phoenix automated system for determining antimicrobial susceptibility against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* compared with broth microdilution. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 54(2):249-254.
2. Martins AF, Bail L, Ito C, et al. Antimicrobial activity of plazomicin against *Enterobacteriaceae* producing carbapenemases from 50 Brazilian medical centers. *Diagn Microbiol Inf Dis*. 2018; 90(3):228-232.
3. Ni W, Wei C, Zhou C, Zhao J, Liang B, Cui J, et al. Tigecycline-Amikacin Combination Effectively Suppresses the Selection of Resistance in Clinical Isolates of KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol*. 2016; 7:1304.
4. Shields RK, Potoski BA, Haidar G, Hao B, Doi Y, Chen L, et al. Clinical Outcomes, Drug Toxicity and Emergence of Ceftazidime-Avibactam resistance among patients treated for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Infections. *Clin Infect Dis* 2016; 63(12):1615-1618.
5. King et al. Multicenter Study of Outcomes with Ceftazidime-Avibactam in Patients Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections. *Antimicrob Agents and Chemother* 2017; 61(7).
6. Tang HJ, Lai CC, Chen CC, et al. Colistin-sparing regimens against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* isolates: combination of tigecycline or doxycycline and gentamicin or amikacin. *J Microbiol Immunol Infect*. 2016; 1182(16)30024-X.
7. Bassetti M, Peghin M, Pecori D. The management of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Curr Opin Infect Dis* 2016; 29:583-594.
8. Vaez H, Sahebkar A, Khademi F. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Chemotherapy*. Published online: 30 Dec 2018.
9. Sabino S, Soares S, Ramos F, Moretti M, Zavascki AP, Rigatto MH. A Cohort Study of the Impact of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections on Mortality of Patients Presenting with Sepsis. *mSphere*. 2019; 10:4(2).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Six Informational Supplement M100S; CLSI, Wayne, PA, USA, 2019.
11. Ka LC, MV L, Raymond TPL, Jeanette WPT. Colistin and Polymyxin B Susceptibility Testing for Carbapenem-Resistant and mcr-Positive *Enterobacteriaceae*: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with Broth Microdilution. *J Clin Microbiol*. 2017; 55(9):2609-2616.

12. Meier M, Hamprecht A. Systematic Comparison of Four Methods for Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* Directly from Blood Cultures. *J Clin Microbiol.* 2019; 57(11).
13. Villegas MV, Pallares CJ, Escandon-Vargas K, Hernandez-Gomez C, Correa A, Alvarez C, Rosso F, Matta L, Luna C, Zurita J, et al. Characterization and clinical impact of bloodstream infection caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in seven latin american countries. *PLoS One.* 2016; 11:e0154092.
14. International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock, 2016. Disponível em: <http://www.survivingsepsis.org/Guidelines/Pages/default.aspx>.
15. Van Duin et al. Colistin Versus Ceftazidime-Avibactam in the Treatment of Infections Due to Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis.* 2018; 66:163-171.
16. Tumbarello et al. Efficacy of Ceftazidime-Avibactam Salvage Therapy in Patients With Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 2019; 68:355-364.
17. Shields RK, Clancy CJ, Press EG, et al. Aminoglycosides for treatment of bacteremia due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60:3187-3192.
18. Medeiros GS, Rigatto MH, Falci DR, Zavascki AP. Combination therapy with polymyxin B for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2019; 53(2):152-157.
19. Gutierrez BG, Salamanca E, Cueto M, Hsueh P, Viale P, Pardo JRP. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017; 17:726-34.
20. Freire MP, Garcia DO, Cury AP, Francisco GR, et al. The role of therapy with aminoglycoside in the outcomes of kidney transplant recipients infected with polymyxin and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38(4):755-765.
21. Tavares W. Aminociclítóis aminoglicosídeos. In: Tavares W, ed. *Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfecciosos*. São Paulo: Atheneu; 2001. p.573-626.
22. Castanheira M, Deshpande LM, Wootley LN, Serio AW, Krause KM, Flamm RK. Activity of plazomicin compared with other aminoglycosides against isolates from European and adjacent countries, including *Enterobacteriaceae* molecularly characterized for aminoglycoside modifying enzymes and other resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73(12):3346-3354.



23. Avent ML, Rogers BA, Cheng AC, et al. Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Intern Med J.* 2011; 41:441-449.
24. De Montmollin E, Bouadma L, Gault N, et al. Predictors of insufficient amikacin peak concentration in critically ill patients receiving a 25 mg/kg total body weight regimen. *Intensive Care Med.* 2014; 40:998-1005.
25. Castanheira M, Davis AP, Mendes RE, Serio AW, Krause KM, Flamm RK. *In vitro* activity of plazomicin against gram-negative and gram-positive isolates collected from United States hospitals and comparative activity of aminoglycosides against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and isolates carrying carbapenemase genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018; 62:e00313-18.
26. Shortridge D, Castanheira M, Pfaller MA, et al. Ceftolozane-tazobactam activity against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from U.S. hospitals: report from the PACTS antimicrobial surveillance program, 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61:e00465-17.
27. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016; 6(6):a027029.
28. Zavascki AP, Klee BO, Bulitta JB. Aminoglycosides against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the critically ill: the pitfalls of aminoglycoside susceptibility. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017; 15:519-526.
29. Neuner EA, Gallagher JC. Pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations in the treatment of critically ill patients infected with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Virulence.* 2016; 0(0):1-13.
30. Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ, Jenkins SG, Calfee DP. Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(12):5893-9.
31. Abboud CS, Bergamasco MD, De Sousa EE, De Cássia Zandonadi E, Cortez D. Successful use of gentamicin as an antibiotic prophylaxis regimen to reduce the rate of healthcare-associated infections after renal transplantation. *Brazilian J Infect Dis* 2013; 17:254-255.
32. Paquette F, Jean AB, Brunette V, Ammann H, Lavergne V, Pichette V, et al. Acute Kidney Injury and Renal Recovery with the Use of Aminoglycosides: A Large Retrospective Study. *Nephron.* 2015 ;131:153-160.
33. Ong LZ, Tambyah PA, Lum LH, et al. Aminoglycoside-associated acute kidney injury in elderly patients with and without shock. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71(11):3250-3257.

34. Roger C, Nucci B, Molinari N, et al. Standard dosing of amikacin and gentamicin in critically ill patients results in variable and subtherapeutic concentrations. *Int J Antimicrob Agents*. 2015; 46:21-27.

## 7. ARTIGO

### Original Article

**Impact of minimum inhibitory concentration of amikacin on the treatment of Carbapenem-resistant Enterobacteriales infections.**

**Running title: Carbapenem-resistant Enterobacteriales and amikacin.**

Diógenes Rodrigues<sup>a</sup>, Giulia Soska Baldissera<sup>g</sup>, Douglas Mathos<sup>c</sup>, Aline Sartori<sup>g</sup>, Alexandre P. Zavascki<sup>a,d,e,f</sup> and Maria Helena Rigatto<sup>a,b,e,g</sup>

<sup>a</sup> *Medical Sciences Post-Graduation Program, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.*

<sup>b</sup> *Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da PUCRS, Brazil.*

<sup>c</sup> *Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.*

<sup>d</sup> *Department of Internal Medicine, Medical School, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.*

<sup>e</sup> *Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.*

<sup>f</sup> *Infectious Diseases Service, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil.*

<sup>g</sup> *Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Medical School, Brazil.*

# Corresponding Author: Maria Helena Rigatto. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre, 90.035-903, Brazil. Phone/fax: +55 (51) 33598152, e-mail: [mrigatto@hcpa.edu.br](mailto:mrigatto@hcpa.edu.br)

## Abstract

**Objectives:** The objective of this study was to evaluate amikacin minimum inhibitory concentration (MIC) and determine its impact on mortality of patients treated with this drug for Carbapenem-resistant Enterobacteriales (CRE) infections.

**Methods:** We conducted a retrospective cohort of patients >18 years old, with positive cultures for CRE in two tertiary care hospitals in Porto Alegre, Brazil. Amikacin susceptibility tests were performed by broth microdilution technique. Our primary outcome was 30-day mortality. Secondary outcomes were nephrotoxicity and biological clearance. Nephrotoxicity was assessed by RIFLE score. A Cox regression analysis was performed to evaluate risk factors for mortality.

**Results:** We included 86 patients for analysis. Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) was the resistance mechanism identified in 82 (95.3%) and New-Dehli Metallobetalactamase (NDM) in 4 (4.7%) samples. Amikacin MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> were range 1 µg/mL and 4 µg/mL, respectively. Sixty-one patients (72.1%) were treated with combination therapy with susceptible polymyxins. Twenty-nine (33.7%) patients died in 30-days. MIC values did not influence on mortality (P=0.18). Final factors in Cox regression model were age (P=0.04) and vasopressor use (P=0.01). Thirty-three (37.2%) patients developed acute kidney injury (AKI) during amikacin therapy by RIFLE criteria. Risk factors for AKI were: higher baseline estimated glomerular filtration rate (eGFR) (P<0.01) and days of amikacin use (P=0.04). All patients that developed renal injury or failure were receiving polymyxins. Bacterial clearance occurred in 18 (60%) of 30 patients who collected subsequent cultures in the first 14 days of therapy. Two (16.6%) of the 12 persistently positive cultures changed the susceptibility profile to amikacin, as they changed from susceptible to intermediate during therapy.

**Conclusion:** At low MIC values, no specific dose adjustments seem necessary, specially when this drug is combined to other *in vitro* active antibiotics. Nephrotoxicity was related to days of antibiotic use but not to total daily dose and it should be monitored, especially in long-course therapies.

**Key Words:** Amikacin, MIC, CRE and mortality.

## **Introduction**

Infections by Carbapenem-resistant Enterobacteriales (CRE) are an increasing global threat, due to the few therapeutic options against these bacteria (1). Combination therapy with susceptible antibiotics has shown clinical benefit in many studies (2-4). Amikacin is an old drug that gained importance in this scenario because it retains in vitro activity for most CRE isolates and can be synergic to other classes of antibiotics such as polymyxins (1).

Concerns about the use of amikacin are: difficulty to achieve Pharmacokinetic (PK) /Pharmacodynamic (PD) target with usual doses and nephrotoxicity (5). The ratio of maximum serum concentration (C<sub>max</sub>)/ MIC is the best PK/PD target for aminoglycosides (5). Optimal antibacterial activity is achieved with a C<sub>max</sub> / MIC ratio between 8 and 10 (6). However, at commonly recommended doses (15mg/kg/day) this therapeutic target is difficult to achieve in bacteria with amikacin near or at the breakpoint of 16 mg/L (CLSI) and 8 mg/L (EUCAST), while increasing the dose may be prohibitive due to nephrotoxicity (7). Moreover, amikacin MIC is not routinely performed for CRE isolates in many microbiology laboratories.

Our hypothesis was that the higher the MIC value for amikacin, the worse the outcomes. The purpose of this study was to determine amikacin MICs values and to understand the influence of these results on the clinical outcome of patients with CREs infections.

## **Materials and Methods**

### *Study design, settings and participants*

We conducted a retrospective cohort study from January 2018 to June 2019, in two tertiary-care hospitals in Porto Alegre, Brazil with 833 and 674 beds each.

### *Samples and eligibility criteria*

Bacterial samples were obtained from clinical samples isolated from patients. Patients with cultures that tested positive for CRE were evaluated for inclusion and exclusion criteria.

### *Inclusion criteria*

We included patients  $\geq 18$  years old receiving intravenous amikacin treatment for CRE infection according to medical record review.

### *Exclusion criteria*

Surveillance swab samples and patients with lower urinary tract infections.

### *Bacterial identification*

Routine samples were identified by biochemical tests or by Vitek<sup>®</sup> (bioMérieux) automated system. The samples of interest for the research were separated and subcultured in MacConkey culture mediums. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) identification was done by phenotypic tests (8) or molecular test (9). When Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) test was positive in phenotypic tests, samples were sent for confirmatory by multiplex real-time polymerase chain reaction (PCR).

### *Amikacin susceptibility testing*

Amikacin (Sigma-Aldrich, USA) susceptibility tests were performed by broth microdilution technique. The broth microdilution technique was evaluated in a 96-well microdilution plate, where 50  $\mu\text{L}$  of bacterial suspension adjusted to  $1.5 \times 10^8$  CFU / mL and 50  $\mu\text{L}$  of amikacin antibiotic were pipetted at the different concentrations tested. American Type Culture Collection (ATCC) strain was used for control. MICs results were interpreted after 18-24 hours incubation at 37°C (10). Polymyxin MICs were routinely done at the local microbiology laboratory of each institution by microdilution technique or Etest<sup>®</sup> (bioMérieux).

### *Variables and Definitions*

Our primary outcome was 30-day mortality. Secondary outcomes were nephrotoxicity and biological clearance. Nephrotoxicity was assessed by RIFLE score (11). We classified as Acute Kidney Injury (AKI) only patients that lost renal function during amikacin treatment and did not spontaneously recover it before the end of

therapy, to avoid misclassification due to transitory variations of estimated glomerular filtration rate (eGFR) values.

Variables potentially related to clinical and microbiological outcomes were assessed: demographic variables (age, gender, weight), comorbidities (underlying diseases of patients and Charlson comorbidity score (12), site of infection (respiratory, abdominal, urinary and bloodstream material), severity (Intensive Care Unit (ICU) admission and vasopressor use), use of combination therapy with *in vitro* susceptibility or resistance, therapy duration and antimicrobial dose (average daily dose of amikacin used in mg / kg / day and total dose / day). For analysis amikacin for the eGFR we created an amikacin dose index: (daily dose/weight (kg)/ eGFR) x100. In an hypothetical patient receiving 15 mg/kg/day of amikacin with an eGFR of 100 ml/min the index value would be 15 .

#### *Statistical analysis*

All statistical analyses were performed using SPSS for Windows, Version 18.0. The assessment of patients' baseline characteristics was performed by calculating the median and interquartile range(IQR) for ordinal or non-normally distributed variables, mean and standard deviation (SD) for continuous variables of normal distribution and total and percentage value for categorical variables. All tests were two-tailed and P value  $\leq 0.05$  was considered statistically significant. A Cox regression analysis was performed for mortality. Variables with P <0.2 in the univariate analysis were included in forward-stepwise model and retained if P <0.05. A subgroup analysis was done patients receiving amikacin monotherapy.

#### *Ethical approval*

The research complied with the recommendations of Resolution No. 196 of 10/10/96 - National Health Council for Scientific Research in Human Beings. The project was carried out after its approval by the institution's Research Ethics Committee number 2.687.149 and 2.476.428.

## Results

A total of 188 patients had CRE isolates recovered from routine cultures. One hundred and sixty-nine (89.9%) of these samples had *in vitro* susceptibility to amikacin, 4 (2.1%) were intermediate and 15 (8%) were resistant. One-hundred and two patients were excluded for not receiving amikacin therapy, 23 patients for low urinary tract infection, and 3 for being < 18 years old. We included 86 patients for analysis.

*K. pneumoniae* was isolated from in 85 patients. KPC and NDM were the resistance mechanisms identified in 82 (95.3%) and 4 (4.7%) samples, respectively. The MIC for amikacin ranged from 0.125 to 64 µg/mL. Distribution of MIC values are shown in figure 1. The MIC at which 50% and 90% of the isolates were inhibited was 1 µg/mL and 4 µg/mL, respectively.

Sixty-one patients (72.1%) were treated with combination therapy, with at least two *in vitro* susceptible antibiotics. All the susceptible combination therapies included polymyxins (33 with colistin and 28 with polymyxin B). In 25 (29%) patients, amikacin was the only *in vitro* susceptible drug prescribed. Infections with polymyxin resistant strains occurred in 11 (12.8%) patients with MIC ranging from 4 to 32 µg/mL. Nine of these patients received combination therapy with polymyxin despite *in vitro* resistance.

Twenty-nine (33.7%) patients died in 30-days, in a median time of 16 (5-27) days after bacterial recovery. Amikacin MIC did not significantly impact on patients mortality, P=0.18. Amikacin dose index remained stable across different MIC (P=0.51). Eleven of the 13 (84.6%) patients with amikacin MIC  $\geq$  4 µg/mL received active combination therapy. Patients characteristics and their impact in 30-day mortality are described in table 1. Risk factors for mortality that remained in the final Cox regression model were: age (years) adjusted Hazard Ratio (aHR) 1.03, 95% Confidence Interval (CI) 1.3-5.7, P=0.03 and use of vasoactive drugs aHR 2.75, 95%CI 1.3-5.7, P<0.01.

Thirty-three (38.4%) patients developed AKI during amikacin therapy by RIFLE criteria (Risk 17, Injury 11, Failure 5). Risk factors for AKI in univariate analysis were: days of amikacin use (P=0.04) and higher baseline eGFR (P<0.01). The



median number of days (percentile 25- percentile 75) of amikacin use in patients who developed AKI were 10 (5 - 16) versus 7 (4-11) days in those who did not. Higher eGFR positively correlated to longer courses of amikacin (P=0.03). Amikacin index was higher in patients with lower eGFR (P=0.02), as shown in figure 2. Figure 3 shows the RIFLE score of patients according to total number of days receiving amikacin therapy. The rate of AKI development among survivors and non-survivors during amikacin treatment is shown in figure 4. All of the 16 (18.6%) patients who developed renal injury or failure received combination with polymyxin, P=0.03.

Thirty (34.9%) of 86 patients collected subsequent cultures in the first 14 days after bacteria recovery. Twelve of these 30 (40%) patients remained with positive cultures for the same bacteria despite antimicrobial therapy. Among the twelve patients, 2 (16.6%) samples changed the susceptibility profile to amikacin, as they changed from susceptible to intermediate during therapy.

We performed a subgroup analysis for the 25 patients that received amikacin as the only *in vitro* susceptible drug. Higher mortality was related to ICU admission (P=0.02) and vasopressor use (P=0.03) at the beginning of therapy. None of the patients with urinary source infections died compared to 35.5% of the patients with other primary sites (P=0.06). Patients who received antibiotic combination with an *in vitro* resistant polymyxin had higher mortality (66.7 % vs 33.3%), P=0.06.

## Discussion

In this cohort study, we evaluated risk factors for 30-day mortality and AKI development among 86 patients who received amikacin to treat CRE infections. The main findings of our study are: a) Amikacin MIC did not impact on 30 day mortality, while traditional clinical factors such as vasopressor use and age did; b) Nephrotoxicity was related to days of amikacin use and higher baseline eGFR, but not to amikacin daily dose index; c) Combination with polymyxins was an independent risk factor for renal injury and failure; d) Amikacin monotherapy had better clinical results in urinary source infections.

Aminoglycosides (AG) have regained attention worldwide due to the maintenance of high susceptibility rates in CRE infections, and its potential

synergistic effect with other antimicrobial agents (13, 14). In accordance to data, the majority (89.9%) of CRE isolates recovered from routine cultures in our study were susceptible to amikacin, however only 86 (45.7%) were treated with this drug and therefore included for analysis.

Our study had an overall mortality of 33.7% of the patients, lower when compared to other CRE-related cohorts (3, 15). This could be explained by the lower severity of disease of patients included or even to the fact that all patients received amikacin. According to the study by Freire et al., higher clinical success was achieved in patients who received combination therapy with aminoglycosides for CRE infections (78.9% versus 37.0%,  $P < 0.01$ ) (16). Also, Medeiros et al. found that combination therapy with two *in vitro* active agents, mostly polymyxin B plus amikacin, showed a survival benefit when compared to other regimens, the mortality was (42.5% vs 57.5%  $P = 0.03$ ) (3).

Despite the favorable results described in patients treated with AG for CRE, the narrow therapeutic window of AG is still a major concern when using this class of antibiotics. It is difficult to achieve AG PK/PD target with regular recommended doses (especially in isolates with MICs at the upper limit of susceptibility), while increasing total dose may be prohibitive due to nephrotoxicity (7, 5). In our cohort, most isolates presented low amikacin MICs: MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of 1 µg/mL and 4 µg/mL, respectively. Amikacin dose index remained stable across different MICs, leading to lower proportional exposure of this drug at higher MICs. This could be previously expected because physicians did not have routine access to MIC values, in order to make any dose adjustments. Nevertheless, no impact of MIC values or dose index was found on 30-day mortality, possibly because within the low range of MIC values of this study the bacteria recovered were effectively treated with the prescribed doses of amikacin. In fact, in previous Monte-Carlo simulations, CRE infections with amikacin MIC 16 µg/mL were the ones to show the worse results compared to samples with lower MIC, regarding achievement of adequate concentration above the MIC target (7). Moreover, the use of susceptible combination therapy for most patients (particularly in those with infections presenting higher CRE amikacin MICs) might have hidden the potential impact of eventual under target doses on mortality. Another explanation would be the ability of AG to be synergistic to other antibiotics on

bacterial killing. Permeabilizing the outer membrane likely enhances the target site penetration of other antibiotic in Gram-negative bacteria, and by reducing protein synthesis (for example, reducing KPC enzyme production) (7).

Sixty-one (72.1%) of the patients received combination therapy, mostly with polymyxins. Although polymyxin combination was significantly related to higher mortality in univariate analysis, it lost significance when controlled for vasopressor use. This finding indicates that it was preferred for patients with more severe disease and amikacin was not used as mainstay treatment but as an adjunctive therapy in these cases. The prescription bias of combination therapy to severely ill patients in this cohort unables the analysis of its potential benefit, as previously shown in other observational studies (13, 3). Traditional clinical risk factors for mortality, such as age and vasopressor use, were variables that remained significant in our multivariate analysis.

Thirty-three (38.4%) patients of our cohort developed AKI. Opposed to what could be expected, a higher daily dose index of amikacin did not impact on nephrotoxicity rates. Total number days of amikacin use was a significant factor for AKI. This finding suggests that cumulative dose plays a more important role on toxicity than the average daily dose. A higher baseline eGFR was also related to higher nephrotoxicity. Previous studies have shown that amikacin reabsorption in renal tubules is a main step on kidney injury mechanism of this drug (14, 17, 18). One hypothesis is that the higher the GFR, more absorption occurs in renal tubules leading to more proportional kidney damage. Also the fact that patients with better baseline renal function received more total days of amikacin therapy could be a confounder in this analysis. Renal injury and failure occurred only in patients who used polymyxin combination, perhaps due to the sum of toxicity of these drugs or because those were more severe patients.

Only 34.9% of the patients had subsequent cultures collected and could be evaluated for bacterial clearance, which occurred in 60% of these patients. Two (16.7%) of 12 patients changed amikacin susceptibility profiles during therapy. In a previous study with kidney transplant patients, aminoglycoside resistance was developed over time in more than 65% of the analyzed strains (16). Although our

study had a low rate of resistance development during therapy, this should be closely monitored, following the results of the cultures subsequently collected.

The subgroup analysis of patients treated with amikacin as the only *in vitro* susceptible therapy showed better results in urinary tract infections. This is in accordance with previous literature (19). Combination with *in vitro* resistant polymyxin showed no clinical benefit.

Limitations of this study were the relative small number of patients included and also the low variability of MICs, which limits the validity of the conclusions to similar epidemiological scenarios. In addition, serum amikacin level was not measured to calculate the final exposure of these patients to the drug. However, it has the strength of focusing specifically on the role of amikacin for the treatment of CRE and bringing important insights about nephrotoxicity issues related to this drug.

In conclusion, amikacin can be an important therapeutic option for CRE infections. At low MIC values, no specific dose adjustments seem necessary, specially when this drug is combined to other *in vitro* active antibiotics. Nephrotoxicity was related to days of antibiotic use and it should be monitored, especially in long-course therapies.

## References

1. Bassetti M, Peghin M, Pecori D. The management of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Curr Opin Infect Dis*. 2016; 29:583-594.
2. Gutierrez BG, Salamanca E, Cueto M, Hsueh P, Viale P, Pardo JRP. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17: 726-34.
3. Medeiros GS, Rigatto MH, Falci DR, Zavascki AP. Combination therapy with polymyxin B for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2019; 53(2):152-157.
4. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012; 55:943-50.
5. Neuner EA, Gallagher JC. Pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations in the treatment of critically III patients infected with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Virulence*. 2016; 0(0):1-13.
6. De Montmollin E, Bouadma L, Gault N, et al. Predictors of insufficient amikacin peak concentration in critically ill patients receiving a 25 mg/kg total body weight regimen. *Intensive Care Med*. 2014; 40:998-1005.
7. Zavascki AP, Klee BO, Bulitta JB. Aminoglycosides against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the critically ill: the pitfalls of aminoglycoside susceptibility, *Expert Review of Anti-infective Therapy*. Published online: 17 Apr 2017.
8. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(2):477-9.
9. Weiss D, Engelmann I, Brauna SD, Monecke S, Ehrlich R. A multiplex real-time PCR for the direct, fast, economic and simultaneous detection of the carbapenemase genes blaKPC, blaNDM, blaVIM and blaOXA48. *Journal of Microbiological Methods*. 2017; 142:20-26.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Six Informational Supplement M100S; CLSI, Wayne, PA, USA, 2018.
11. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Metha RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure- definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second international Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004; 8:R204-12.

12. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation, *J Chronic Dis.* 1987; 40(5):373-383.
13. Shields RK, Clancy CJ, Press EG, et al. Aminoglycosides for treatment of bacteremia due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60:3187-3192.
14. Ong LZ, Tambyah PA, Lum LH, et al. Aminoglycoside-associated acute kidney injury in elderly patients with and without shock. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Nov;71(11):3250-3257.
15. De Oliveira MS, de Assis DB, Freire MP, et al. Treatment of KPC-producing *Enterobacteriaceae*: suboptimal efficacy of polymyxins. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21:179.e1-179.e7.
16. Freire MP, Garcia DO, Cury AP, Francisco GR, Santos NF, Spadão F, et al. The role of therapy with aminoglycoside in the outcomes of kidney transplant recipients infected with polymyxin and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38(4):755-765.
17. Paquette F, Jean AB, Brunette V, Ammann H, Lavergne V, Pichette V, et al. Acute Kidney Injury and Renal Recovery with the Use of Aminoglycosides: A Large Retrospective Study. *Nephron* 2015; 131:153-160.
18. Swan SK. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Semin Nephrol.* 1997; 17(1):27-33.
19. Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ, Jenkins SG, Calfee DP. Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(12):5893-9.

**Table 1. Characteristics Patients and Univariate Analysis of Risk Factors for 30-day Mortality.**

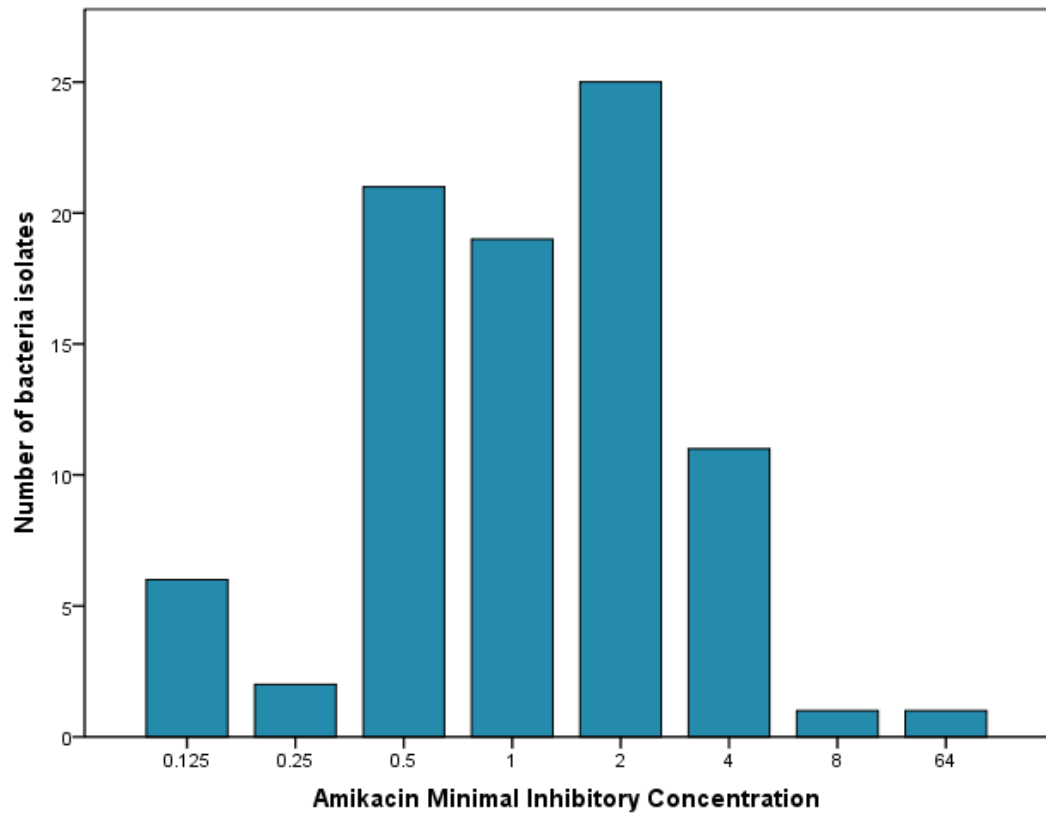
Variable	Total N=86	30-day Mortality		P value
		Yes, N=29	No, N=57	
<b>Demographics</b>				
Male Gender	54 (62.8)	19(65.5)	35(61.4)	0.82
Age (years)	59.9±15.1	64.5±15.0	57.5±14.7	0.04
Weight(kg)	69.9±13.6	69±14.0	70.3±13.6	0.69
<b>Comorbidities</b>				
Cardiovascular Disease	45(52.3)	21(72.4)	24(42.1)	0.01
Chronic Renal Disease	17(19.8)	10(34.5)	7(12.3)	0.02
Baseline estimated GFR	61 (31-97.8)	61 (27.5-74.5)	61 (41.5-108.5)	0.18
CNS	19(22.1)	7(24.1)	12(21.2)	0.79
Diabetes	28(32.6)	11(37.9)	17(29.8)	0.47
Digestive tract	24(27.9)	7(24.1)	17(29.8)	0.62
Chronic liver disease	9(10.5)	3(10.3)	6(10.5)	1.00
HIV	2(2.3)	1(3.4)	1(1.8)	1.00
Cancer	27(31.4)	8(27.6)	19(33.3)	0.63
Pulmonary	26(30.2)	11(37.9)	15(26.3)	0.32
Charlson	4(2-5)	4(3-6)	4(2-5)	0.14
<b>Disease Severity</b>				
ICU admission	38(44.2)	17(58.6)	21(36.8)	0.07
Vasoactive drug	25(29.1)	14(48.3)	11(19.3)	0.01
<b>Infection Site</b>				
Pulmonary	20(23.3)	6(20.7)	14(24.6)	0.79
Abdominal	14(16.3)	2(6.9)	12(21.1)	0.13
Upper Urinary tract	24(27.9)	8(27.6)	16(28.1)	1.00
Skin and soft tissue	3(3.5)	1(3.4)	2(3.5)	1.00
Blood	19(22.1)	9(31.0)	10(17.5)	0.18
<b>Bacterial isolates</b>				
Time from admission to bacterial isolation	15(4-26)	16(5-27)	14(2.5-26)	0.55
Polymicrobial Infections	26(30.2)	8(27.6)	18(31.6)	0.80
Polymyxin resistance	10(11.6)	4(13.8)	6(10.5)	0.73
Amikacin MIC	1(0.5-2)	1(0.5-2)	1(0.5-2)	0.18
<b>Therapy</b>				
Amikacin dose (mg/kg/dia)	13.4±5.4	13.6±6.1	13.3±5.1	0.82
Dose index (mg/kg daily dose/eGFR)	22 (13-35)	26 (17.5-36.5)	21 (10.5-34)	0.09
Appropriate dose	60 (77.9)	23 (85.2)	37(74.0)	0.39
Time from bacterial isolation to start susceptible therapy (days)	3(2-4)	3(2-4)	3(2-4)	0.73
Susceptible Combination therapy	61 (70.9)	23(79.3)	38 (66.7)	0.35
Antibiotic combination				
Polymyxin	69(80.2)	27(93.1)	42(73.7)	0.04
Meropenem	50 (58.1)	17(58.6)	33(57.9)	0.99

Tigecycline	2 (2.3)	1(3.4)	1(1.8)	0.99
Total time of amikacin therapy (days)	8 (5-12.5)	8 (6.25-10.5)	9 (4-13)	0.77
Development of AKI	33 (38.4)	11 (37.9)	22 (38.6)	0.99
Risk	17 (9.8)	5 (17.2)	12 (21.1)	
Injury	11 (12.8)	5 (17.2)	6 (10.5)	
Failure	5 (5.8)	1 (3.4)	4 (7.0)	

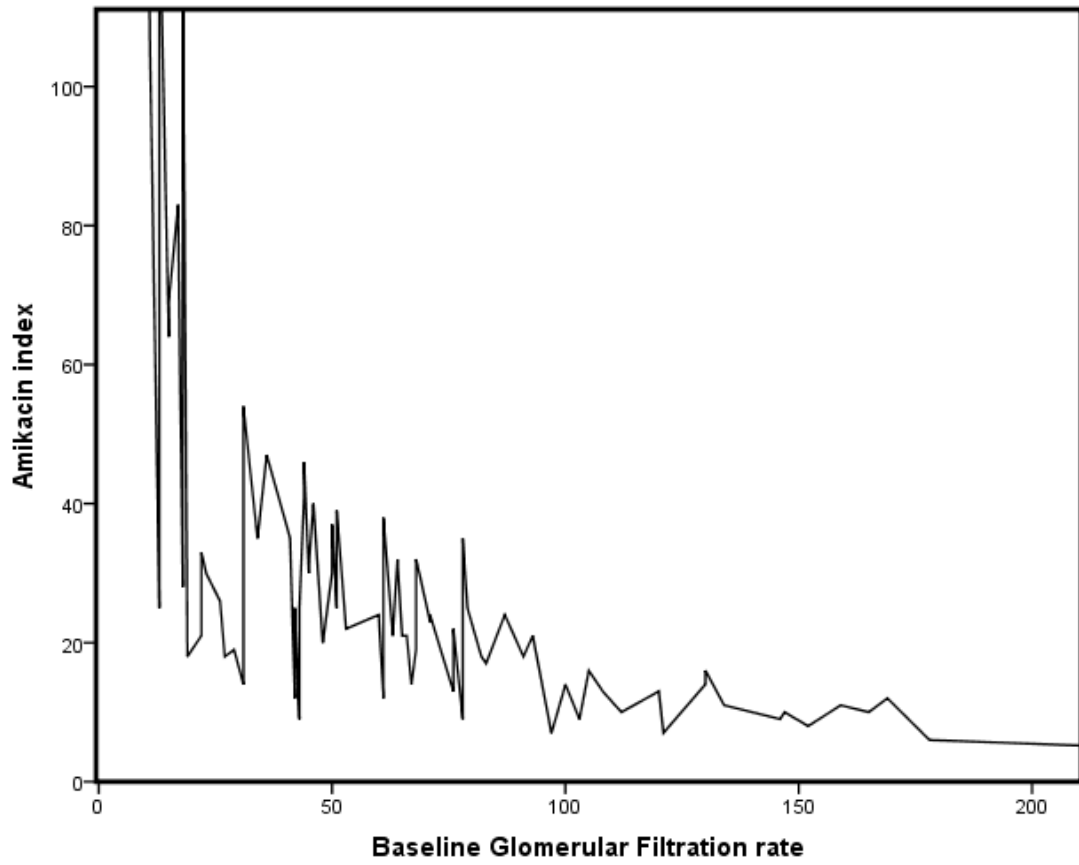
CNS, Central Nervous System; HIV, Human immunodeficiency virus ; MIC, Minimal Inhibitory Concentration; eGFR, estimated Glomerular Filtration Rate

Results are presented as: mean± standard deviation, median (interquartile range) or absolute value (percentage)

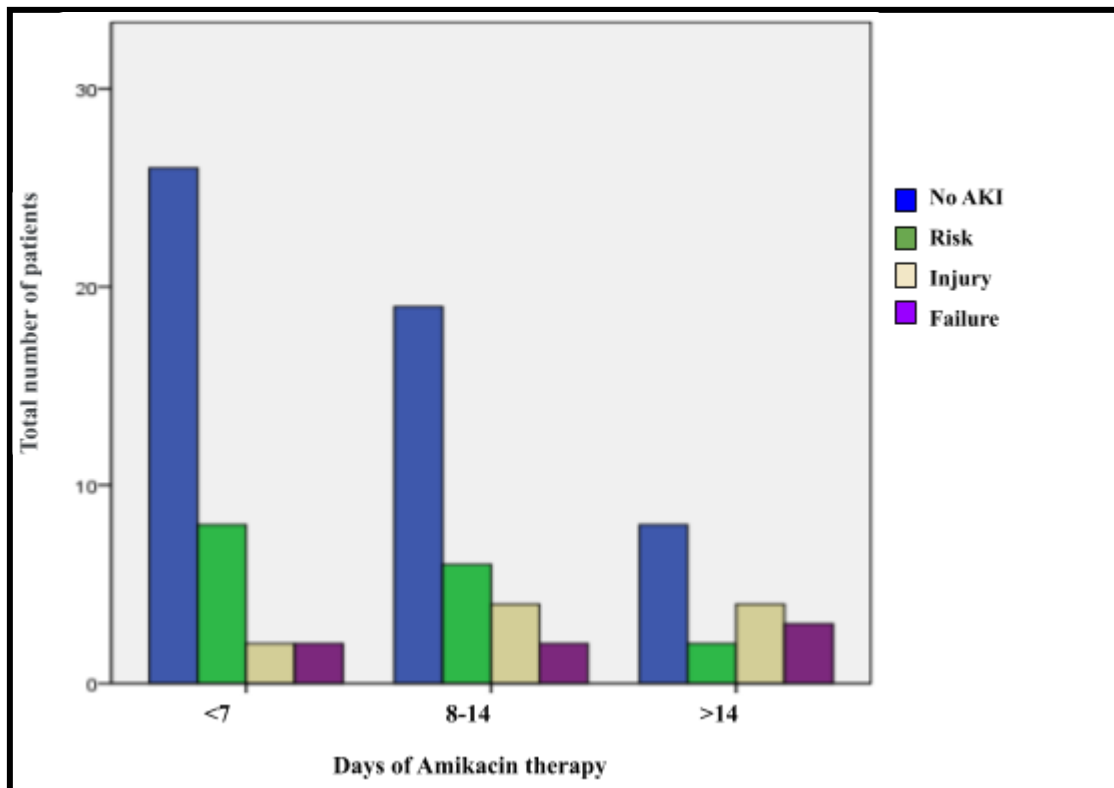




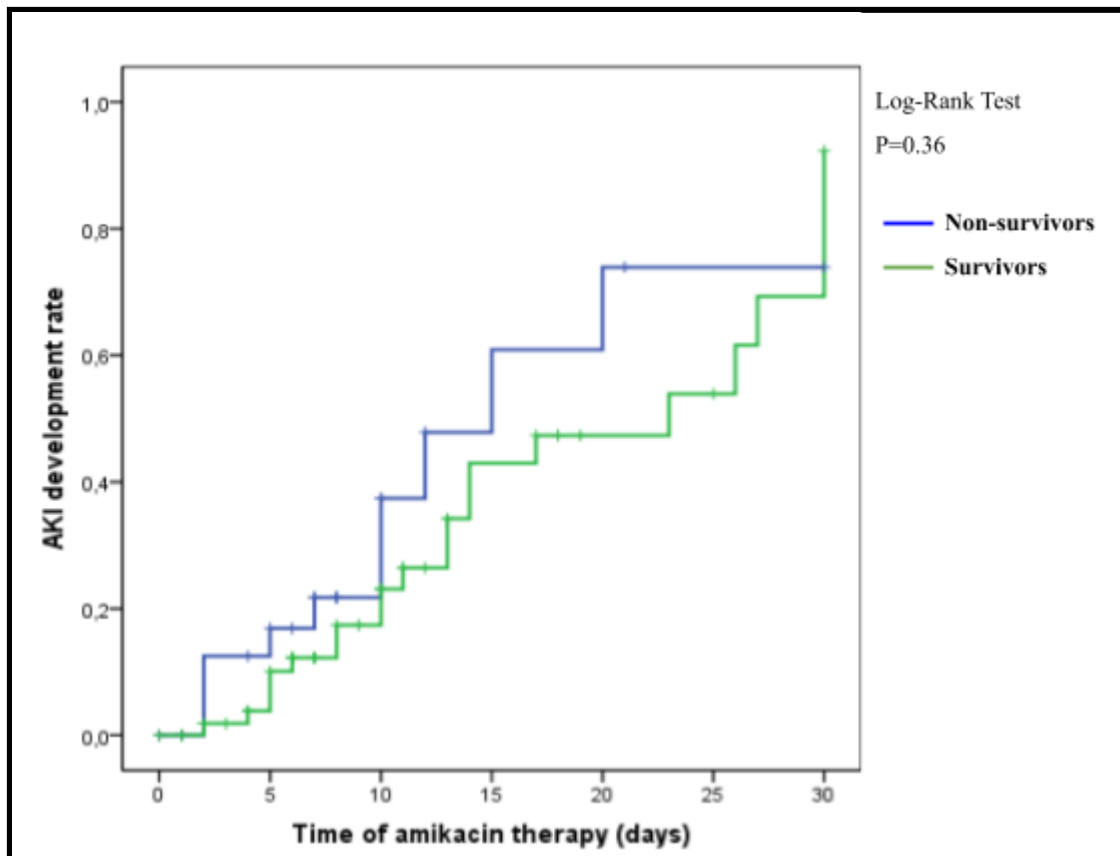
**Figure 1. Amikacin Minimal Inhibitory Concentration (MIC) distribution among clinical isolates of Carbapenem-resistant Enterobacteriales (CRE).**



**Figure 2. Variation of amikacin index according to the estimated Baseline Glomerular Filtration Rate, P= 0.02.**



**Figure 3. RIFLE score in patients receiving Amikacin for the treatment of Carbapenem-resistant Enterobacteriales infections.**



**Figure 4. Development of acute kidney injury (AKI) during amikacin therapy among survivors and non-survivors of Carbapenem-resistant Enterobacteriales infections.**

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo determinou a CIM de amicacina nos pacientes tratados com esta droga em infecções por ERC e avaliou o desfecho clínico dos pacientes atendidos em duas instituições de saúde de Porto Alegre. Dada a importância do assunto, torna-se necessário conhecer a distribuição das CIMs, principalmente pela nefrotoxicidade influenciada pela TFG e pela duração do uso de amicacina. A prescrição de amicacina é um desafio na prática clínica, principalmente devido à dificuldade de atingir o alvo terapêutico nas infecções com CIMs mais altas ou no limite máximo de sensibilidade ( $CIM \leq 16 \mu\text{g} / \text{mL}$ ). CIMs baixas e a terapia combinada parece não ter impacto na mortalidade dos pacientes em 30 dias.

## **9. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Publicações de dados clínicos dos aminoglicosídeos utilizados como base contra isolados de ERC são escassos, principalmente em pacientes críticos. É importante reavaliar a prática atual nos laboratórios de microbiologia, incluindo na rotina laboratorial a determinação da concentração inibitória mínima para amicacina em ERC para auxiliar os clínicos na seleção da melhor terapia antimicrobiana. Com a consolidação deste trabalho, é possível gerar resultados relevantes e de extrema importância no desfecho clínico e aplicabilidade clínica em pacientes com infecções por ERC, que poderão ser apresentados em Congressos, Reuniões Científicas e gerar publicações de alto impacto.

## 10. ANEXOS

### Questionário de pesquisa

Título: Impacto da concentração inibitória mínima de amicacina no tratamento de infecções por Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos.

1) Nome: \_\_\_\_\_ Sexo ( M ) ( F )

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Hospital: \_\_\_\_\_ Registro de Prontuário: \_\_\_\_\_

Leito: \_\_\_\_\_

Data da Internação Hospitalar: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Desfecho hospitalar: Alta ( ) Óbito ( ) Data: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

2) Peso: \_\_\_\_\_

3) Sítio do material microbiológico: Respiratório ( ) Abdominal ( ) Urinário ( )

( ) Corrente sanguínea Outro(s) \_\_\_\_\_

4) Medicamentos utilizados no tratamento:

---

---

---

5) Qual germe isolado? ( ) *Klebsiella pneumoniae* ( ) *Escherichia coli*

( ) Outro \_\_\_\_\_

⇒ Perfil de sensibilidade:

Amicacina: ( ) sensível ( ) intermediário ( ) resistente CIM: \_\_\_\_\_ mg/L

Ertapenem: ( ) sensível ( ) intermediário ( ) resistente CIM: \_\_\_\_\_ mg/L

Imipenem: ( ) sensível ( ) intermediário ( ) resistente CIM: \_\_\_\_\_ mg/L





➤ Tigeciclina ( ) início \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ fim \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Dosagem: \_\_\_\_\_

8) Estava internado na UTI no dia que iniciou tratamento com amicacina?

Sim ( ) Não ( )

9) Ventilação mecânica no dia em que iniciou tratamento com amicacina?

Sim ( ) Não ( )

10) Doença(s) de base: cardio-vascular ( ) pulmonar ( ) SNC ( ) hepatopatia ( )  
insuficiência renal crônica ( ) aparelho digestivo ( ) tecido conjuntivo ( ) DM ( )  
neoplasia maligna ( ) doença linfoproliferativa ( ) HIV/AIDS ( )

11) Escore de Charlson (início da amicacina): \_\_\_\_\_