



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES
TRATADOS COM POLIMIXINA B**

ISABEL CRISTINA MORESCO

**CASCAVEL - PR
2018**

ISABEL CRISTINA MORESCO

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES
TRATADOS COM POLIMIXINA B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, área de concentração Fármacos e Medicamentos, como requisito à obtenção do título de mestre em ciências farmacêuticas.

Orientadora Profa. Dra. Andréia Cristina Sanches Conegero

CASCADEL - PR

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Moresco, Isabel Cristina

Fatores de risco associados à nefrotoxicidade em pacientes tratados com polimixina B / Isabel Cristina Moresco; orientador(a), Andréia Cristina Conegero Sanches, 2018.

46 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. Polimixina B. 2. Nefrotoxicidade. 3. RIFLE. 4. Estudo observacional. I. Conegero Sanches, Andréia Cristina. II. Título.

ISABEL CRISTINA MORESCO

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES
TRATADOS COM POLIMIXINA B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: fármacos e medicamentos.

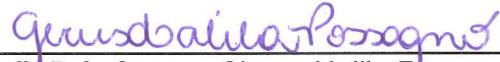
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Andréia Cristina Conegero Sanches

BANCA EXAMINADORA:

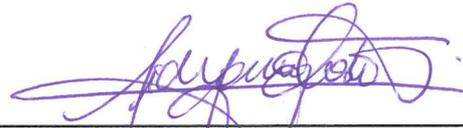


Prof^ª. Dr^ª. Andréia Cristina Conegero
Sanches

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE
Orientadora



Prof^ª. Dr^ª. Gerusa Clazer Halila Possagno
Universidade Estadual de Ponta Grossa
UEPG



Prof^ª. Dr^ª. Lidiane Regina Gomes Castor
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE

Cascavel - PR
2018

BIOGRAFIA RESUMIDA

Isabel Cristina Moresco, natural de Medianeira, Paraná, Brasil, nascida no dia 30 de maio de 1992, formou-se em Farmácia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, campus de Cascavel, em dezembro de 2015. Ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas, no ano de 2016. Desenvolve projeto de dissertação junto à linha Fármacos e Medicamentos, orientada pela Profa. Dra. Andréia Cristina Sanches Conegero.

*A Deus
A minha família
Ao Projeto Ser*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida, por todas as bênçãos concedidas, pela sua bondade, generosidade e amor incondicional.

À toda minha família, especialmente à minha mãe, meu exemplo de mulher e de mãe, por acreditar e torcer por mim. Ao meu pai (*in memoriam*) e à minha avó, Iride, pelas orações.

Ao meu namorado, Guilherme, por estar ao meu lado e me apoiar nessa fase, ao nosso amor e companheirismo.

Às minhas amigas Jéssica e Karen pela amizade, torcida e incentivo nas minhas conquistas mais importantes. Às minhas amigas e colegas de laboratório, Ana Flávia e Karine, pelo apoio nesta pesquisa.

À equipe do projeto Ser, à minha psicóloga Melina Oliveira Pietracatella e a todos meus colegas de meditação.

Aos meus mestres, em especial ao professor Eduardo Borges de Melo, pela oportunidade de ingressar no programa de pós-graduação e à professora Andréia Cristina Sanches Conegero, por me orientar e acreditar no meu trabalho.

Ao Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP) e ao Serviço de Arquivo Médico e Estatística, à Universidade Estadual do Oeste do Paraná e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES).

A toda equipe do serviço de Farmácia Clínica e aos residentes de farmácia hospitalar 2016-2017 do HUOP, em especial à minha amiga Carine pela motivação e incentivo.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES TRATADOS COM POLIMIXINA B

RESUMO: Nos últimos 20 anos, com o surgimento de bactérias gram-negativas multirresistentes, as polimixinas, que tinham caído em desuso pela elevada toxicidade, voltaram a ser utilizadas como uma alternativa para tratamento dessas infecções. Esse grupo de antibiótico é ativo contra a maioria das enterobactérias e das bactérias gram-negativas não fermentadoras, em infecções oculares, do trato urinário, das meninges e da corrente sanguínea. A dose recomendada de polimixina B (PMB), em pacientes com função renal normal, é de 1,5 a 2,5 mg Kg⁻¹ dia⁻¹ e a dose pode ser dividida em duas vezes. Para os pacientes com alteração da função renal, recomenda-se ajustar a dose de acordo com a depuração de creatinina. Como a nefrotoxicidade é o maior limitante do uso dessa classe de antibióticos, um estudo observacional retrospectivo foi realizado com o objetivo de identificar os possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de injúria renal aguda (IRA) em pacientes que utilizaram o antibiótico PMB. Foram coletadas as informações necessárias para realizar o estudo em prontuários, prescrições médicas e resultados de exames laboratoriais dos pacientes que utilizaram PMB em um período de 5 anos em um hospital brasileiro. Os critérios de inclusão para o estudo foram: pacientes maiores de 18 anos que utilizaram PMB por via endovenosa por mais de 72 horas. Para classificar os níveis de IRA, a creatinina basal foi calculada pela média entre os cinco últimos exames de creatinina sérica antes da primeira dose do antibiótico. Esse valor calculado e o maior nível de creatinina sérica durante o tratamento foram usados para identificar e classificar o dano renal segundo os critérios da taxa de filtração glomerular de RIFLE (Risk, Injury and Failure and Loss, and End-stage renal disease). Foram inclusos no estudo 120 pacientes, a maioria do sexo masculino (89; 74,2%) com média de idade de 50 anos. As comorbidades pré-existentes presentes com maior frequência foram hipertensão arterial sistêmica (50; 41,7%), diabetes *mellitus* (21; 17,5%) nefropatias (14; 11,7%) e obesidade (13; 10,8%). A principal infecção tratada foi pneumonia (35,8%) e o agente infeccioso mais identificado foi o *Acinetobacter baumannii* (67,9%). Os tratamentos com a PMB foram realizados durante 13 dias e a dose média diária de 191,5 mg. A alta incidência de mortalidade da população estudada (46,7%) pode estar relacionada ao estado clínico crítico dos pacientes, pois, em algum momento do internamento, 111 pacientes (92,5%) precisaram de cuidados intensivos. Na população estudada para avaliar os fatores de risco, 12 pacientes (13,5%) apresentam risco, 22 (25,0%) injúria, 30 (34,1%) falência renal, segundo os critérios de RIFLE. Além disso, no grupo que os pacientes desenvolveram IRA, 51,9% foram a óbito, enquanto que no grupo que não apresentou foram apenas 12,5%. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos que desenvolveram, ou não, IRA, para as seguintes variáveis: tempo de tratamento superior a 10 dias, dose acumulada de PMB, hipoalbuminemia e uso concomitante de furosemida. Porém, as variáveis que permaneceram no modelo final de regressão logística multivariável foram o tempo de tratamento superior a 10 dias e a hipoalbuminemia. Vários fatores inerentes ao paciente e à droga estão relacionados à IRA e estratégias devem ser criadas com o intuito de minimizar esses efeitos. Destacam-se a monitorização da função renal em todos os pacientes, principalmente os de risco, e o acompanhamento da infecção para diminuir o tempo de tratamento.

PALAVRAS-CHAVE: Estudo observacional, Injúria renal aguda, IRA, Reação adversa, RAM, RIFLE.

RISK FACTORS ASSOCIATED WITH NEPHROTOXICITY IN PATIENTS TREATED WITH POLYMYXIN B

ABSTRACT: In the last 20 years, with the emergence of multiresistant gram-negative bacteria, polymyxins, which had fallen into disuse due to their high toxicity, were once again used as an alternative for the treatment of these infections. This antibiotic group is active against most enterobacteria and non-fermenting gram-negative bacteria, ocular, urinary tract, meninges, and bloodstream infections. The recommended dose of polymyxin B (PMB) in patients with normal renal function is 1.5 to 2.5 mg.kg⁻¹.day⁻¹ and the dose can be divided twice. For patients with impaired renal function, it is recommended to adjust the dose according to creatinine clearance. Because nephrotoxicity is the major limiting factor in the use of this class of antibiotics, a retrospective observational study was conducted to identify possible risk factors for the development of acute renal injury (ARF) in patients using the antibiotic PMB. The necessary information was collected to perform the study in medical records, medical prescriptions and results of laboratory tests from the patients who used PMB in a period of 5 years in a Brazilian hospital. Inclusion criteria for the study were: patients over 18 years of age who used intravenous PMB for more than 72 hours. To classify ARI levels, baseline creatinine was calculated by the average of the last five serum creatinine tests before the first dose of the antibiotic. This calculated value and the highest level of serum creatinine during treatment were used to identify and classify renal damage according to the criteria of the RIFLE (Risk, Injury and Failure and Loss and End-stage renal disease) filtration rate. The study included 120 patients, most of them male (89; 74.2%) with an average age of 50 years. The most frequent pre-existing comorbidities were systemic hypertension (50; 41.7%), diabetes mellitus (21; 17.5%), nephropathies (14; 11.7%) and obesity (13; 10.8%). The main infection was pneumonia (35.8%) and the most frequently identified infectious agent was *Acinetobacter baumannii* (67.9%). PMB treatments were performed for 13 days and the average daily dose was 191.5 mg. The high incidence of mortality in the studied population (46.7%) may be related to the critical clinical status of the patients, because at some point of hospitalization, 111 patients (92.5%) needed intensive care. In the population studied to evaluate risk factors, 12 patients (13.5%) presented risk, 22 (25.0%) injury, 30 (34.1%) renal failure, according to RIFLE criteria. In addition, in the group that patients developed ARF, 51.9% died, whereas in the group that did not present, only 12.5% died. There was a statistically significant difference between the groups that developed or not ARF, for the following variables: treatment time greater than 10 days, accumulated PMB dose, hypoalbuminemia and concomitant use of furosemide. However, the variables that remained in the final multivariate logistic regression model were treatment time greater than 10 days and hypoalbuminemia. Several factors inherent to the patient and the drug are related to ARF and strategies should be created in order to minimize these effects. The monitoring of renal function in all patients, especially those at risk, and the follow-up of the infection to reduce the time of treatment are highlighted.

KEYWORDS: Observational study, Acute kidney injury, AKI, Adverse reaction, ADR, RIFLE.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 POLIMIXINAS.....	14
3.2 NEFROTOXICIDADE.....	16
3.3 RIFLE.....	18
3.4 ESTUDOS OBSERVACIONAIS.....	19
4 CAPÍTULO 1 - FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES TRATADOS COM POLIMIXINA B..	20
5 CONCLUSÕES GERAIS DA DISSERTAÇÃO	34
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
7 REFERÊNCIAS	36
7.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	36
7.2 ARTIGO.....	37
ANEXOS	41
ANEXO I – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CIENTÍFICA INTERNACIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS.....	41

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Tabela 1	Classificação para injúria renal aguda segundo os critérios de RIFLE	31
Tabela 2	Caracterização dos pacientes incluídos no estudo.....	32
Tabela 3	Comparação entre os grupos com e sem IRA.....	33
Tabela 4	Modelo de regressão multivariável dos fatores associados ao desenvolvimento e injúria renal aguda em pacientes tratados com polimixina B.....	33

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1 Estrutura química da colistina..... 15

Figura 2 Estrutura química da PMB..... 15

ARTIGO

Figura 1 Fluxograma dos pacientes incluídos e excluídos do estudo..... 31

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AINE	Antiinflamatórios não esteroidais
DP	Desvio padrão
ESBL	Betalactamase de espectro estendido
HM	Hemodiálise
HUOP	Hospital Universitário do Oeste do Paraná
IC	Intervalo de confiança
IRA	Injúria renal
Kg	Quilograma
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemases
Mg	Miligrama
MI	Mililitros
MR	Multirresistente
PAV	Pneumonia associada a ventilação mecânica
PMB	Polimixina B
PMX	Polimixinas
RAM	Reação adversa a medicamento
RAMs	Reações adversas a medicamentos
RIFLE	Risk, Injury and Failure and Loss, and End-stage renal disease
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
STROBE	Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology
UI	Unidades Internacionais
UTI	Unidade de terapia intensiva
VM	Ventilação mecânica

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos proporcionam à sociedade atual uma vida mais longa e de qualidade, diminuindo a necessidade de outros cuidados de saúde, como procedimentos invasivos e mais onerosos. Contudo, têm efeitos indesejados ou nocivos quando ocorrem as reações adversas a medicamentos. Além do dano à saúde do paciente, essas reações têm impacto significativo nos gastos com a saúde.

As polimixinas (PMX, de ora em diante), que são antibióticos polipeptídios catiônicos, foram descobertas no ano 1947, mas tiveram seu uso interrompido na década de 70 por apresentarem alta toxicidade. Todavia, com o surgimento de bactérias gram-negativas multirresistentes aliadas à falta de novas alternativas terapêuticas, as PMX voltaram a ser utilizadas na prática clínica.

A nefrotoxicidade é o maior limitante do uso dessa classe de antibióticos e está relacionada à posologia utilizada (dose, frequência e tempo de tratamento). O uso concomitante com outras drogas nefrotóxicas e algumas características do paciente também podem estar envolvidas na manifestação da nefrotoxicidade.

Devido à gravidade e a incidência da nefrotoxicidade causada pelas PMX, estudos que auxiliem na tomada de decisão clínica dos profissionais da saúde para minimizar os efeitos tóxicos e aumentar a eficácia do tratamento farmacoterapêutico são importantes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar os possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotocidade em pacientes que utilizaram o antibiótico sulfato de polimixina B.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o perfil do uso do antibiótico sulfato de polimixina B no Hospital Universitário do Oeste do Paraná;
- Verificar a incidência de nefrotoxicidade nos pacientes incluídos no estudo;
- Realizar um estudo observacional para identificar os possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade.

3 FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 POLIMIXINAS

As PMX foram descobertas em 1947 por pesquisadores norte-americanos e ingleses e começou a ser comercializada na década de 60. Porém, devido à alta toxicidade, foram substituídos por antibióticos mais seguros, como os aminoglicosídeos, as quinolonas e os beta-lactâmicos (JUSTO; BOSSO, 2014; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Nos últimos 20 anos, com surgimento de bactérias gram-negativas multirresistentes, como as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiela pneumoniae*, as PMX voltaram a ser utilizadas como a última alternativa para tratamento dessas infecções (PIKE; SALTIEL, 2014; JORGE et al., 2017).

Atualmente existem dois medicamentos representantes dessa classe de antibiótico, o sulfato de polimixina B, também conhecido como Polimixina B (doravante PMB) ou Aerosporin, sintetizadas por cepas de *Bacillus polymyxa*, e a Polimixina E também chamada de Colistina, produzida pelo *Bacillus colistinus* (MENDES; BURDMANN, 2009).

As PMX são polipeptídeos catiônicos cíclicos caracterizados por um anel heptapeptídeo ligados ao ácido graxo ligado por uma ligação amida. A diferença na estrutura química das PMX é a presença de aminoácidos diferentes ligados na posição 6, a colistina apresenta a D-leucina (Figura 1) enquanto que a PMB possui a D-fenilalanina (Figura 2). A PMB é administrada como um antibiótico ativo, a colistina é um pró-fármaco (DAILY MED, 2013; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

O mecanismo de ação das PMX é decorrente da sua interação com o lipopolissacarídeo da membrana externa das bactérias gram-negativas. Essa interação desloca os íons cálcio e magnésio, que agem como estabilizadores de membrana, ocasionando o aumento da permeabilidade da membrana e rápida perda do conteúdo celular, levando a morte da bactéria (DAILY MED, 2013; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

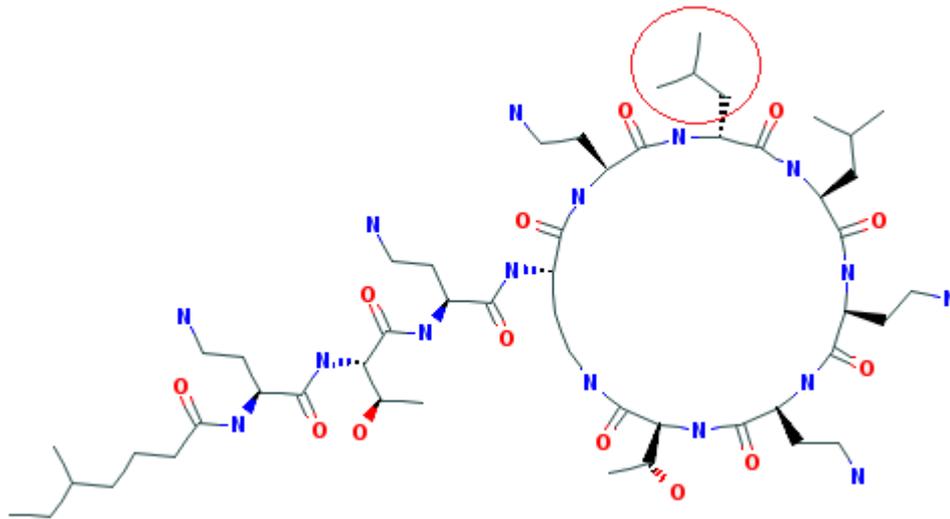


Figura 1 Estrutura química da colistina.
Fonte: PubChem Substance Database.

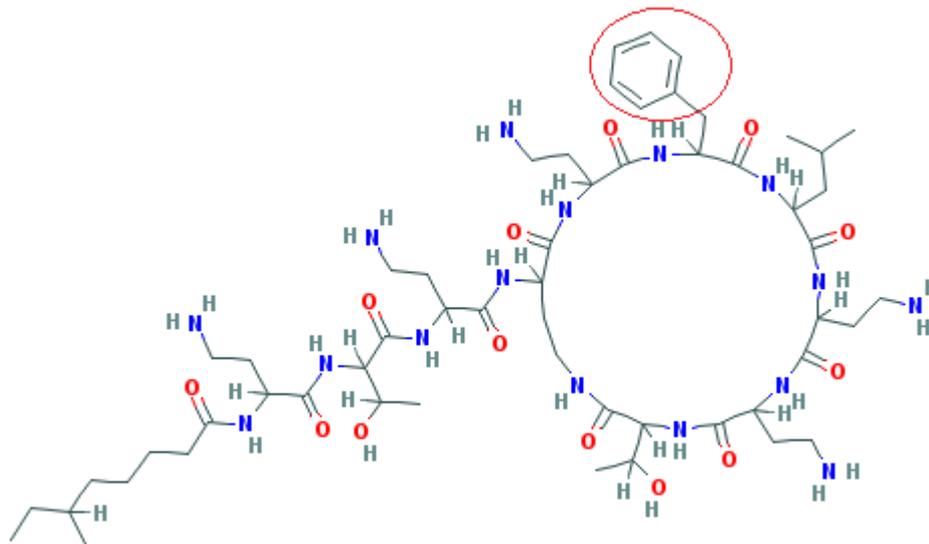


Figura 2 Estrutura química da polimixina B.
Fonte: PubChem Substance Database.

Sendo assim, o especto de ação das PMX é estreito, não são ativas contra bactérias gram-positivas, bactérias anaeróbias e fungos. Algumas espécies de bactérias são naturalmente resistentes às PMX, como *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mallei*, *Burkholderia cepacia*, *Chromobacterium* spp., *Edwardsiella* spp., *Brucella*, *Legionella*, *Campylobacter* e *Vibrio cholerae* (DAILY MED, 2013; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

As PMX são ativas contra a maioria das enterobactérias (*Escherichia coli*,

Enterobacter spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp. e *Shigella* spp) e as bactérias gram-negativas não fermentadoras (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Stenotrophomonas maltophilia*). Além disso, demonstrou atividade contra *Haemophilus influenzae*, especificamente nas infecções das meninges (GALES et al., 2001; ZAVASCKI et al., 2007; DAILY MED, 2013).

A PMB tem ação nas infecções oculares, do trato urinário, das meninges e na corrente sanguínea. A dose recomendada em pacientes com função renal normal, é de 1,5 a 2,5 mg Kg⁻¹ dia⁻¹, sendo que 1 mg de sulfato de PMB corresponde a 10.000 UI (unidades internacionais), e a dose pode ser dividida em duas vezes. Para tratamento de infecção hospitalar ou pneumonia associada à ventilação mecânica, a dose pode chegar a 3 mg Kg⁻¹ dia⁻¹ (MENDES; BURDMANN, 2009; DAILY MED, 2013; KALIL et al., 2016).

Nos pacientes com alteração da função renal, recomenda-se administrar dose de 2,5 mg Kg⁻¹ no primeiro dia, corrigindo as doses seguintes de acordo com a depuração de creatinina. Quando a depuração de creatinina está entre 30 e 80 mL/min, recomenda-se administrar 1,0 a 1,5 mg Kg⁻¹ dia⁻¹, com depuração de creatinina abaixo desses valores, administra-se 1,0 a 1,5 mg Kg⁻¹ a cada dois a três dias, e nos pacientes anúricos administra-se 1,0 mg Kg⁻¹ a cada cinco a sete dias (MENDES; BURDMANN, 2009).

As reações adversas às PMX mais comuns são nefrotoxicidade, neurotoxicidade e reação alérgicas (*rash* e urticária). A neurotoxicidade pode se manifestar com sinais e sintomas como irritabilidade, fraqueza, tontura, ataxia, sonolência, parestesias periorais e/ou periféricas, desfocagem da visão e geralmente estão acompanhadas de nefrotoxicidade e de altas concentrações do fármaco livre na corrente sanguínea. A nefrotoxicidade é o maior limitante do uso dessa classe de antibióticos (KELESIDIS; FALAGAS, 2005; DAILY MED, 2013; JUSTO; BOSSO, 2014).

3.2 NEFROTOXICIDADE

A reação adversa a medicamento (RAM) pode ser definida como uma reação desagradável ou nociva (sinais e/ou sintomas), resultante de uma intervenção relacionada a um produto medicinal que prevê risco se há continuidade em sua administração. Tal situação justifica a busca de medidas de prevenção, ou de

tratamento específico, ou de alteração da posologia, ou a retirada do produto do mercado (EDWARDS; ARONSON, 2000; ARONSON, 2013).

Embora, raramente, a RAM possa causar mortes ou morbidades graves, é estimado que 2 milhões de pacientes tenham uma reação adversa por ano e que seja a quarta principal causa de morte nos Estados Unidos, com 100.000 mortes anualmente (GIACOMINI et al., 2007; MDS MANUAL, 2018). Números semelhantes foram estimados para outros países ocidentais, onde, ao longo dos últimos anos, foi observado um aumento no número de mortes induzidas por medicamentos (WU et al., 2010; BOUVY; BRUIN; KOOPMANSCHAP, 2015).

Segundo a revisão sistemática de estudos observacionais realizada por Bouvy, Bruin e Koopmanschap (2015), na União Europeia, as RAMs são responsáveis por cerca de 3,6% de todas as admissões nos hospitais. Dos pacientes hospitalizados, 10% têm pelo menos uma reação adversa durante a internação e as RAMs graves são a causa da morte de até 0,5% dos pacientes hospitalizados.

Somando a isso, o impacto sobre os custos com a saúde é significativo, a União Europeia gasta pelo menos 63,2 bilhões de euros anualmente com as RAMs (RIZZI, 2015).

A nefrotoxicidade das PMX pode ser explicada pelas propriedades hidrofóbicas, também responsáveis pela ação terapêutica, dos ácidos graxos presentes na cadeia terminal. As PMX desestabilizam as células tubulares renais facilitando o fluxo de cátions, ânions e água que aumentam a permeabilidade da membrana e levam à morte celular (PIKE; SALTIEL, 2014, POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

A incidência de insuficiência renal aguda (IRA, de ora em diante) varia entre 34,5 e 46,1% e a falência renal pode chegar a 14,6% (DUBROVSKAYA et al., 2015; RIGATTO et al., 2015; CRASS; RUTTER; BURGESS, 2017).

Os fatores que podem levar à IRA ainda não estão claros, porém alguns estudos mostram que a idade, a posologia (dose, frequência e tempo de tratamento), combinação com determinadas drogas (furosemida, vancomicina, aminoglicosídeos, vasopressores, contrastes, etc.) e características do paciente (idade, peso, comorbidades, e disfunção renal pré-existente) podem aumentar a probabilidade do desenvolvimento das reações adversas renais (KELESIDIS; FALAGAS, 2015; JUSTO; BOSSO, 2014; DUBROVSKAYA et al., 2015; RIGATTO et

al., 2015; CRASS; RUTTER; BURGESS, 2017)

Para prevenir os efeitos nefrotóxicos da PMB é recomendado determinar a função renal basal antes do início da terapia e que seja monitorada durante esse período. Também pode-se evitar o tratamento simultâneo ou sequencial com drogas nefrotóxicas e reduzir a dosagem para pacientes com dano (DAILY MED, 2013).

3.3 RIFLE

A IRA é caracterizada por elevação dos níveis de ureia e creatinina séricas e redução do *clearance* da creatinina, além de hematúria, proteinúria, cilindrúria e oligúria (FALAGAS; KASIAKOU, 2006). Estudos em modelo animal comprovam que as alterações de creatinina plasmáticas só ocorrem quando há dano histopatológico, sendo um bom marcador de lesão renal (CRUZ; RICCI; RONCO, 2009).

É difícil determinar a verdadeira incidência de nefrotoxicidade associada ao uso de PMX, pois há uma grande variedade de definições clínicas de nefrotoxicidade adotadas pelos estudos. Recentemente os autores começaram a utilizar os critérios de risco (risco de disfunção), injúria (lesão renal), falência da função renal, perda da função renal e estágio final da doença renal, denominado de RIFLE (*Risk, Injury and Failure and Loss, and End-stage renal disease*) (BELLOMO et al., 2004; JUSTO; BOSSO, 2014).

Os critérios de RIFLE são definições consensuais criados por um grupo de nefrologistas (*Acute Dialysis Quality Initiative*), em 2004, com o objetivo de uniformizar a definição da insuficiência renal aguda. O RIFLE considera as alterações da creatinina plasmáticas, o volume da diurese e a taxa de filtração glomerular ao longo do tratamento (BELLOMO et al., 2004; GHLISSI et al., 2013).

As três primeiras classes referentes aos graus de gravidade da disfunção renal estabelecidos por RIFLE são avaliadas por mudanças relativas no valor do nível sérico da creatinina ou na taxa de filtração glomerular a partir de um valor basal e na redução da medida do fluxo urinário calculado por quilo de peso em um tempo específico. Já os dois últimos critérios são mais específicos, possuem caráter evolutivo e são definidos pela duração da perda da função renal. A gravidade da lesão renal aguda é determinada pelo parâmetro mais grave (BELLOMO et al., 2004).

No estudo realizado por Dubrovskaya et al. (2015) 5,8% (n=192), os pacientes

tratados com PMB apresentaram algum nível de dano renal segundo os critérios de RIFLE. Sendo que 19,3% foram inclusos no grupo de risco, 12,0% de injúria e 14,6% de falência renal. Desses pacientes, 3 precisaram de hemodiálise.

3.4 ESTUDOS OBSERVACIONAIS

Os estudos observacionais têm como objetivo avaliar se existe associação entre um determinado fator e um desfecho sem realizar algum tipo de tratamento ou intervenção. São utilizados para relacionar fatores de riscos e doenças. As principais vantagens dos estudos observacionais retrospectivos são a coleta de dados na evolução dos eventos, examinar resultados múltiplos para um determinado fator de exposição, cálculo de taxas como incidência e risco relativo é excelente método para evidenciar efeitos adversos raros ou tardios a medicamentos. Já as desvantagens são o menor controle sobre as variáveis e sensibilidade ao viés de informações (SONG; CHUNG, 2011).

Muitos estudos epidemiológicos publicados não apresentam informações essenciais descritas de forma clara e adequada. Buscando identificar a falta de clareza na descrição desses estudos, várias ferramentas foram criadas para recomendar quais são os itens essenciais que devem conter em cada tipo de desenho de estudo. No caso dos estudos observacionais, um grupo de pesquisadores desenvolveu a iniciativa STROBE – *Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology* (Aprimorando a Apresentação de Resultados de Estudos Observacionais em Epidemiologia) (MALTA et al., 2010).

O objetivo da iniciativa STROBE é oferecer uma orientação sobre como relatar os estudos observacionais de forma mais clara e adequada, mostrando os itens essenciais em cada item do artigo científico (título, resumo, introdução, justificativa, objetivos, métodos, resultados e discussão) (MALTA et al., 2010).

4 CAPÍTULO 1

FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À NEFROTOXICIDADE EM PACIENTES TRATADOS COM POLIMIXINA B¹

Isabel Cristina Moresco¹, Karine Silva dos Santos¹, Ana Flávia Redolfi Oliota¹,
Fabíola Giordani², Andréria Cristina Conegero Sanches¹

¹Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil

²Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil

Correspondente:

Isabel Cristina Moresco

Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas (CCMF)

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

85819-110

Cascavel, Brasil

E-mail: isabel.moresco@unioeste.br

Fone: +55 45 32207242

¹ Artigo redigido de acordo com as normas da revista Internacional Journal of Antimicrobial Agents – QUALIS/CAPES A1.

HIGHLIGHTS

- Os tratamentos com a polimixina B foram realizados, em média, durante 13 dias com dose média diária de $191 \pm 57,4$ mg.
- Dos pacientes incluídos no estudo, 66 (55,0%) desenvolveram injúria renal aguda.
- Quando os pacientes foram separados entre grupos que desenvolveram, ou não, IRA, apresentou diferença significativa o tempo de tratamento e a hipoalbuminemia.
- Da população estudada, 16,7% precisou de terapia hemodialítica e 46,7% foi a óbito.

RESUMO

As polimixinas são muito utilizadas no tratamento de infecções causadas pelas bactérias gram-negativas multirresistentes, porém, a nefrotoxicidade é um limitante do uso desses antibióticos. Um estudo observacional retrospectivo foi realizado com o objetivo de identificar os possíveis fatores de risco que podem estar associados ao desenvolvimento de injúria renal aguda (IRA) ao uso de polimixina B (PMB). Os critérios de inclusão para o estudo foram: pacientes maiores de 18 anos que utilizaram PMB por via endovenosa por mais de 72 horas. Foram incluídos 120 pacientes, a maioria do sexo masculino (74,3%) com idade média de $50 \pm 16,7$. Os pacientes permaneceram internados aproximadamente $62 \pm 41,1$ dias. A principal infecção tratada foi pneumonia (35,8%), e o agente infeccioso mais identificado foi o *Acinetobacter baumannii* (67,9%). Os tratamentos com a PMB foram realizados durante $13 \pm 11,5$ dias e a dose média diária de $191,5 \pm 57,4$ mg. A alta incidência de mortalidade da população estudada (46,7%) pode estar relacionada ao estado clínico crítico dos pacientes, pois em algum momento do internamento, 111 pacientes (92,5%) precisaram de cuidados intensivos. Na população estudada para avaliar os fatores de risco, 12 pacientes (13,5%) apresentam risco, 22 (25,0%) injúria, 30 (34,1%) falência renal, segundo os critérios de RIFLE. No estudo concluiu-se que o tempo de tratamento maior que 10 dias e a hipoalbuminemia estão relacionadas à IRA, porém, vários fatores inerentes ao paciente e à droga podem estar relacionados e mais estudos devem ser realizados para aumentar a segurança do tratamento.

Palavras chave: Estudo observacional, Nefrotoxicidade, Polimixina B, RIFLE.

1 INTRODUÇÃO

As polimixinas foram descobertas em 1947 por pesquisadores norte-americanos e ingleses e, devido à alta toxicidade, foram substituídos por antibióticos mais seguros, como as quinolonas e os beta-lactâmicos [1]. No entanto, com surgimento de bactérias gram-negativas multirresistentes, como as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*, as polimixinas voltaram a ser utilizadas como a última alternativa para tratamento dessas infecções [2,3,4].

O mecanismo de ação das polimixinas é decorrente da sua interação com o lipopolissacarídeo da membrana externa das bactérias gram-negativas. Essa interação desloca os íons cálcio e magnésio que agem como estabilizadores de membrana, ocasionando o aumento da permeabilidade da membrana e rápida perda do conteúdo celular, levando a morte da bactéria [5].

Atualmente existem dois medicamentos comercializados representantes dessa classe de antibiótico: o sulfato de polimixina B, também conhecido como Polimixina B (PMB) ou Aerosporin e a Polimixina E, também chamada de Colistina. A dose recomendada de PMB, em pacientes com função renal normal, é de 1,5 a 2,5 mg/kg/dia, sendo que 1 mg de sulfato de polimixina B corresponde à 10.000 UI. Segundo os fabricantes, em caso de paciente com a função renal comprometida, a dose deve ser ajustada segundo o *clearance* da creatinina [6,7].

Dentre as reações adversas mais comuns às polimixinas estão as reações alérgicas, a neurotoxicidade e a nefrotoxicidade – considerada o maior limitante do uso dessa classe de antibióticos [1,8].

A real incidência de que a nefrotoxicidade está associada ao uso de polimixinas é difícil de ser mensurada devido a uma variedade de definições clínicas adotadas por pesquisadores. Para solucionar esse problema, nefrologistas (*Acute Dialysis Quality Initiative*), em 2004, publicaram os critérios de RIFLE (Risk, Injury and Failure and Loss, and End-stage renal disease) na tentativa de padronizar as definições de IRA [1,9].

Os critérios de RIFLE, apresentados na Tabela 1, são separados em duas partes. A primeira é dividida em três níveis de gravidade da IRA e referem-se à diminuição na taxa de filtração glomerular e ao débito urinário. Os critérios definidos para a taxa de filtração glomerular consideram a variação do nível sérico da creatinina a partir de um valor basal, enquanto que os critérios para débito urinário estão baseados na redução da medida do fluxo urinário calculado por quilo de peso

em um tempo específico [9,10].

A segunda parte contém dois critérios com caráter evolutivo da IRA e são definidos pelo tempo. É considerado perda da função renal quando o paciente necessita de terapia de substituição renal por mais de 4 semanas, e estágio final da doença renal quando se estende por mais de 3 meses. A gravidade de IRA, segundo esse método, é determinada pelo parâmetro mais grave que as informações se enquadrarem [9].

Devido à gravidade e à incidência da nefrotoxicidade causada pelas polimixinas, estudos que auxiliem na tomada de decisão clínica dos profissionais da saúde para melhorar a qualidade do tratamento farmacoterapêutico dos pacientes são importantes. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o perfil do uso de PMB por via endovenosa em adultos e identificar quais os possíveis fatores de risco que podem estar associados ao desenvolvimento de IRA de acordo com os critérios de RIFLE nesse grupo de pacientes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo

Um estudo observacional retrospectivo foi realizado a partir de análise das prescrições médicas, prontuários e exames laboratoriais dos pacientes que utilizaram o sulfato de polimixina B por um período de 5 anos (2012-2016), em um hospital brasileiro.

Foram incluídos no estudo os pacientes com idade igual ou maior de 18 anos que receberam o sulfato de polimixina B, por via endovenosa, por um período superior a 72 horas. Os pacientes que não tinham valores de creatinina sérica antes e/ou durante o tratamento foram excluídos. Para os pacientes que realizaram a antibioticoterapia por mais de uma vez no mesmo internamento, foram utilizados os dados apenas do primeiro tratamento.

2.2 Definições e variáveis

Após a seleção dos pacientes, de acordo com os critérios pré-definidos, foram coletadas informações para a caracterização da população, tais como dados demográficos, comorbidades pré-existentes, tempo de internamento, uso concomitante de outras drogas nefrotóxicas (aminoglicosídeos, anfotericina B, anti-inflamatórios não esteroides (AINE), contrastes, drogas vasoativas, furosemida e glicopeptídeos), sítio de infecção, agente infeccioso e resistência antimicrobiana,

tempo de permanência em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), necessidade de tratamento hemodialítico, uso de ventilação mecânica (VM), dose de PMB, tempo de tratamento, exames laboratoriais de albumina sérica e creatinina sérica antes e durante o tratamento e informações referentes ao desfecho (alta hospitalar, transferência, acompanhamento ambulatorial ou óbito).

A creatinina basal foi calculada pela média entre os 5 últimos exames de creatinina sérica antes da primeira dose do antibiótico. Esse valor calculado e o maior nível de creatinina sérica durante o tratamento foram usados para identificar e classificar o dano renal segundo os critérios da taxa de filtração glomerular de RIFLE. Para complementar a classificação, foram observados os tratamentos hemodialíticos.

2.3 Estatística

As variáveis foram comparadas entre os pacientes que desenvolveram os níveis de injúria e falência renal, segundo os critérios de RIFLE, ou não. Para as variáveis contínuas, o p-valor foi calculado pelo teste T de *Student*, e as variáveis categóricas foram comparadas pelo método de Qui-quadrado ou de *Fischer*. Foi considerado estatisticamente significativo quando p-valor foi menor que 0,05. As variáveis com p-valor igual ou inferior a 0,2 foram testadas no modelo de regressão logística multivariável.

3 RESULTADOS

No total, 165 pacientes utilizaram PMB no período do estudo, porém, foram excluídos 45. Desses, 14 pacientes tinham menos de 18 anos, 7 utilizaram a polimixina B por via inalatória, 20 receberam a antibioticoterapia por um período inferior a 72 horas e 7 casos não foram possíveis classificar o dano renal, restando 120 pacientes no estudo (Figura 1).

A maioria dos pacientes do estudo foi do sexo masculino (89; 74,2%) e a média de idade é $50 \pm 16,7$ anos. As comorbidades pré-existentes presentes com maior frequência foram hipertensão arterial sistêmica (50; 41,7%), diabetes *mellitus* (21; 17,5%), nefropatias (14; 11,7%) e obesidade (13; 10,8%) (Tabela 2).

Os pacientes ficaram internados em média $62 \pm 41,1$ dias e os tratamentos com a polimixina B foram realizados, em média, durante $13 \pm 11,5$ dias com dose média de $191,5 \pm 57,4$ mg/dia e dose média acumulada de $2574 \pm 2010,6$ mg.

Apenas 66 pacientes continham o peso estimado nos prontuários e a média encontrada para esse grupo foi de $2,82 \pm 0,92$ mg/kg/dia.

As infecções tratadas com PMB foram variadas. O tratamento de pneumonia ficou em primeiro lugar (43; 35,8%), seguido por sepse (30; 25,0%), infecção da corrente sanguínea (16; 13,3%), infecção de pele e de partes moles (7; 5,8%), infecção do trato urinário (5; 6,8%), osteomielite (5; 6,8%) e outras infecções diversas (6; 5,0%). Para 6 dos pacientes (5,0%), a prescrição do antibiótico foi realizada de forma empírica.

Para cada paciente foi solicitado pelo menos uma cultura, totalizando 137 culturas. Todas as bactérias isoladas eram multirresistentes, entre elas: *Acinetobacter baumannii* (93; 67,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (16; 11,7%) e *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos (12; 8,7%), bactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (9; 6,6%) e outros quatro diferentes microorganismos (7 5,1%).

Foram encontrados relatos de prurido e *rash* cutâneo para dois pacientes e de tromboflebite e parestesia perioral para um terceiro, esses sinais e sintomas foram relacionados ao uso da polimixina B pela equipe de saúde da instituição.

Necessitaram de cuidados intensivos em leito de UTI 111 (92,5%) pacientes em média $31 \pm 21,4$ dias. Desses pacientes, 80 (66,7%) estavam sob ventilação mecânica durante o tratamento. Observou-se, ainda, que 21 (16,7%) realizaram tratamento hemodialítico durante o tratamento e nenhum paciente precisou de terapia de reposição renal por mais de 3 semanas.

Foram a óbito 56 pacientes (46,7%) e apenas um (1,4%) precisou ser acompanhado pelo ambulatório de nefrologia após a alta hospitalar.

Em relação ao desenvolvimento de IRA, segundo os critérios de RIFLE, 14 pacientes (11,7%) apresentaram risco, 26 (21,7%) injúria, 40 (33,3%) falência renal e 40 (3,33%) não apresentaram IRA.

Para buscar os fatores de risco, foram excluídos os pacientes que apresentavam elevação no nível de creatinina antes do início do tratamento. As características dos grupos com (n=52) e sem IRA (n=36) estão apresentadas na Tabela 3, sendo que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as seguintes variáveis: tempo de tratamento superior a 10 dias, dose acumulada de PMB, hipoalbuminemia (albumina sérica inferior a 3,5-4,8 g/dl) e uso concomitante de furosemida. Além disso, no grupo que os pacientes desenvolveram

IRA, 51,9% foram a óbito, enquanto que, no grupo que não apresentou, foram apenas 12,5%.

Para a análise de regressão logística multivariável (Tabela – 4), as variáveis que permaneceram no modelo final foram o tempo de tratamento superior a 10 dias e a hipoalbuminemia. A variável referente à dose acumulada não foi incluída nesta análise, pois apresentou uma colinearidade superior a 50% com o tempo de tratamento.

4 DISCUSSÃO

Assim como os resultados apresentados, outros estudos com pacientes tratados com PMB descrevem uma população com idade média acima de 50 anos e maior frequência de pacientes do sexo masculino. Entre as comorbidades presentes, destacam-se a hipertensão arterial e diabetes *mellitus* [11,12].

Todas as bactérias isoladas nas culturas encontravam-se dentro do espectro de ação das PMB. Essas bactérias estão constantemente presentes nas infecções hospitalares e o *Acinetobacter baumannii* é o agente infeccioso mais tratado no mundo [1,11,12,13].

As infecções do trato respiratório, em especial a pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), são os motivos mais comuns para o uso do antibiótico [14,15]. Como 65 pacientes (87,8%) passaram pela UTI em algum momento do internamento, é provável que parte dos 27 casos de pneumonia foram associados ao uso de ventilação mecânica.

Kubin et al. [15] encontraram a mesma média de tempo de tratamento com PMB, aproximadamente 11 dias. Já Rigatto et al. [14] e Bahlis et al. [16] observaram uma média menor, 10 e 7 dias, respectivamente. Em outros estudos, o tempo de tratamento foi maior, 14, 15, 18, 19 e 19 dias [14]. Essa variação entre a duração do tratamento, nos diferentes trabalhos avaliados, pode estar relacionada à condição geral do paciente.

Em relação à dosagem, a maioria dos estudos fornece em dose diária por quilo, porém, na instituição onde foi desenvolvido o estudo em questão não existe a rotina de registrar o peso dos pacientes e nem protocolos clínicos que padronizem o uso das polimixinas. Devido a essa dificuldade, foi calculado uma média de 2,8 mg/Kg/dia para apenas 66 pacientes. Rigatto et al. [14] observaram uma dose similar ao encontrado, 3,05 mg/Kg/dia. Outros estudos mostraram dosagens inferiores, 1,3 [16,17] e 1,8 mg/Kg/dia [15].

Segundo a diretriz da *Infectious Diseases Society of America* para o tratamento de infecção hospitalar ou PAV, a dose pode chegar a 3,0 mg/kg/dia [21]. Como os estudos são realizados em ambiente hospitalar com bactérias MR, as doses encontradas neste estudo e por Rigatto et al. [14] estão dentro do preconizado.

A dose média diária de PMB nesse estudo, 191 mg, também foi maior que as encontradas na literatura. Oliveira et al. [19] relataram que uma média de 100 mg, enquanto que Rigatto et al. [13] de 150 mg/dia.

Mesmo com essas diferenças nas dosagens, a incidência de IRA foi semelhante em todos os estudos, variando entre 36 e 60% [15-17, 19-20, 22, 24]. Rigatto et al. [14] realizaram um estudo de coorte retrospectivo com 189 pacientes e utilizaram os critérios de RIFLE para avaliar e classificar a IRA. Nesse estudo, foi categorizado como risco 92 (22,4%), injúria 45 (11,0%) e falência renal 52 (12,7%) pacientes.

Em uma pesquisa semelhante, com 410 pacientes, 46% apresentaram algum nível de dano renal, sendo 92 (48,7%) risco, 45 (23,8%) injúria e 52 (27,5%) falência [13]. Nenhum estudo que utilizou esses critérios para avaliar a nefrotoxicidade incluiu pacientes nas categorias de “perda da função renal” ou “estágio final da doença renal” [15,16,17,].

Outros estudos observaram porcentagens semelhantes às encontradas em pacientes que necessitaram de terapia de substituição renal durante o tratamento com PMB, entre 10 – 14% [16,15,18]. Essas terapias são dispendiosas e estão associadas à morbidade e mortalidade, diminuindo a qualidade de vida dos pacientes [22].

A principal reação adversa da PMB relatada é a nefrotoxicidade [11,23], porém, Sobieszczyk et al. [20] observaram que 2 (8%) pacientes apresentaram sinais e sintomas compatíveis com neurotoxicidade e Oliveira et al. [19] relacionaram *rash* cutâneo ao antibiótico em 3 (4%) casos.

A alta incidência de mortalidade da população estudada (46,7%) pode estar relacionada ao estado clínico crítico dos pacientes, pois, em algum momento do internamento, 111 pacientes (92,5%) precisaram de cuidados intensivos. Esses dados se repetem em outros estudos, variando a taxa de mortalidade entre 30 e 92% [12-16, 18, 20, 22, 26] e necessidade de internamento em UTI entre 30 e 63% dos pacientes [15,18,19,20,].

O nosso estudo demonstrou que pacientes a albumina sérica e o tempo de tratamento influenciam no desenvolvimento de IRA, pois os pacientes que usaram PMB por mais de 10 dias apresentaram IRA sete vezes mais quando comparados aos pacientes que utilizaram por um período inferior [7,15,24].

Em relação à albumina sérica, os pacientes com hipoalbuminemia desenvolveram quase cinco vezes mais IRA quando comparados ao grupo com valor sérico de creatinina maior que 3,5 mg/dL. A diminuição de albumina sérica aumenta os níveis de PMB livres no sangue, fato que aumenta o risco de reações adversas, inclusive de nefrotoxicidade [7,15,24].

Outros pesquisadores relacionaram à IRA, em pacientes tratados com PMB, ao uso concomitante de aminoglicosídeo [16,17] e de drogas vasoativas [15,18], tempo de permanência em UTI [18], e creatinina basal elevada [18], obesidade [13], dose maior que 1,5 mg/Kg/dia [18] ou maior que 250 mg/dia [17].

Existem poucos estudos que busquem os fatores de risco associados à IRA em pacientes que usaram PMB, porém, vários artigos foram publicados sobre a colistina [16]. Provavelmente devido à incidência de IRA ser estatisticamente maior entre os pacientes tratados com colistina, quando comparados com tratados com polimixina B [14,25,26], fato que não exclui a necessidade de se investigar os danos renais do antimicrobiano em questão.

As limitações do estudo foram semelhantes às de outros estudos retrospectivos, que são o menor controle sobre as variáveis a serem analisadas e sobre os vieses de informações. A falta do grupo-controle também prejudica a avaliação dos fatores de risco envolvidos, porém, é difícil conduzir um estudo randomizado com grupos de pacientes homogêneos, pois geralmente os pacientes que recebem PMB não podem ser tratados com outros antibióticos.

5 CONCLUSÕES

No total dos 120 pacientes, 80 (66,6%) se enquadraram em algum critério da classificação de RIFLE, e 66 (55%) preencheram os critérios para lesão e injúria renal. Somado a isso, 21 pacientes (16,7%) precisaram de tratamentos hemodialíticos para reverter o dano causado. Tal situação contribui para evidenciar a alta incidência de IRA e IRA dialítica em pacientes tratados com PMB.

Vários fatores relacionados ao paciente e/ou ao antibiótico podem influenciar na perda da função renal, porém, estratégias devem ser criadas com o intuito de minimizar esses efeitos. De acordo com esse estudo, além da monitorização da

função renal em todos os pacientes tratados com PMB, destaca-se o acompanhamento do valor de creatinina séria e da evolução da infecção com o intuito de diminuir o tempo de tratamento.

Para aumentar a segurança do tratamento, outros estudos utilizando os critérios de RIFLE podem esclarecer quais são os fatores de risco, além de permitir que os estudos sejam comparados por meio de revisões sistemáticas e meta-análises.

Agradecimentos

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

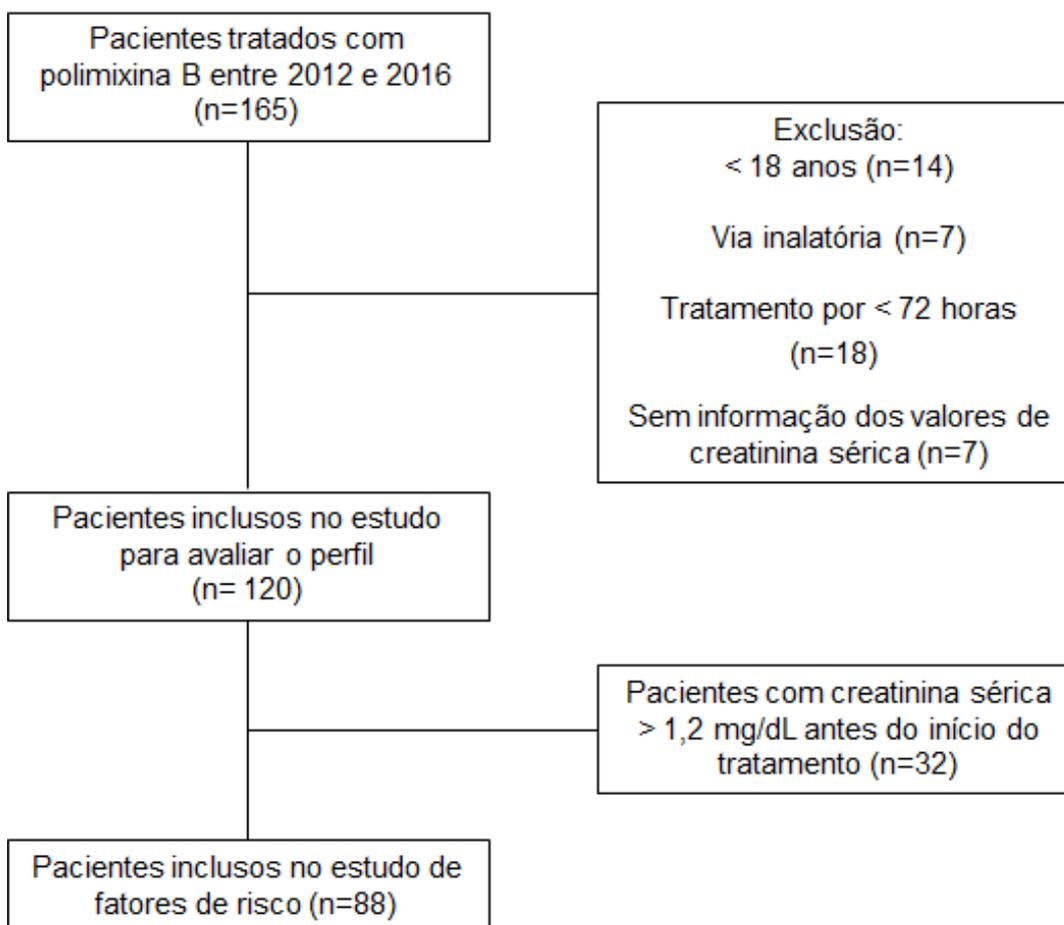
Declarações

Financiamento: sem fonte de financiamento.

Conflito de Interesses: não há conflito de interesses.

Ética: o estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, parecer nº 2.162.766.

TABELAS E FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma dos pacientes incluídos e excluídos do estudo.**Tabela 1** – Classificação para injúria renal aguda segundo os critérios de RIFLE [9]

Classificação de RIFLE	Critérios para taxa de filtração glomerular	Critérios para débito urinário
Risco	Aumento de 1,5 vezes da creatinina sérica basal	Diurese menor que 0,5 mL/Kg/h em 6 horas
Injúria	Aumento de 2,0 vezes da creatinina sérica basal	Diurese menor que 0,5 mL/Kg/h em 12 horas
Falência	Aumento de 3,0 vezes da creatinina sérica basal ou aumento de 0,5 mg/dL quando a creatinina basal foi maior que 4,0 mg/dL	Diurese menor que 0,3 mL/Kg/h em 24 horas
Perda da função renal	Necessidade de terapia de substituição renal por mais de 4 semanas	
Estágio final de doença renal	Necessidade de terapia de substituição renal por mais de 3 meses	

Tabela 2 – Caracterização dos pacientes incluídos no estudo.

Variáveis	n(%) ou média±DP
Idade (anos)	50,7±16,7
Sexo	
Feminino	31(25,8)
Masculino	89(74,2)
Comorbidades	
Hipertensão arterial	50(41,7)
Diabetes <i>mellitus</i>	21(17,5)
Doenças renais	14(11,7)
Doenças respiratórias	14(11,7)
Obesidade	13(10,8)
Tempo de internamento (dias)	62,6±41,1
Tempo de UTI (dias)	31,5±27,5
Infecção	
Pneumonia	43(35,8)
Sepse	30(25,0)
Infecção da corrente sanguínea	16(13,3)
Infecção de pele e partes moles	7(5,8)
Empírico	6(5,0)
Infecção do trato urinário	6(5,0)
Osteomielite	6(5,0)
Traquiobronquite	3(2,5)
Infecção do cateter venoso central	2(1,7)
Microorganismos	
<i>A. baumannii</i> multirresistente	93(67,9)
<i>P. aeruginosa</i> multirresistente	16(11,7)
KPC	12(8,7)
ESBL	9(6,6)
Hipoalbuminemia	2,5±0,7
Creatinina basal (mg/dl)	1,5±1,6
Tempo de Tratamento (dias)	13,4±11,5
Dose acumulada (mg)	2573,9±2010,6
Dose diária (mg/dia)	191,5±57,4
Dose por peso corporal (mg/kg/dia)	2,82±0,92
Tratamento na UTI	76(63,3)
VM	80(66,7)
HM	21(17,5)
RIFLE	
Risco	14(11,7)
Injúria	26(21,7)
Falência	40(33,3)
Óbito	56(46,7)

Os dados estão representados por n(%) ou média ± desvio padrão.

DP: desvio padrão

KPC: *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos

ESBL: bactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido

UTI: Unidade de terapia intensiva

VM: ventilação mecânica

HM: hemodiálise

RIFLE: Risk, Injury and Failure and Loss, and End-stage renal disease

Tabela 3 – Comparação entre os grupos com e sem IRA.

Variáveis	Sem IRA n=36	IRA n=52	p-valor
Idade	47 ± 16,5	53 ± 17,2	0,140
Gênero (masculino)	27	37	0,690
Tempo de Internamento (dias)	63,6 ± 48,1	56,6 ± 40,52	0,474
Tempo UTI (dias)	26,6 ± 31,7	26,6 ± 23,4	0,992
Comorbidades			
HAS	14	23	0,617
DM	4	5	0,544
Obesidade	1	6	0,137
Doenças Respiratórias	4	4	0,425
Doenças Renais	0	5	0,066
Tratamento em UTI	19	31	0,338
Paciente em VM	24	30	0,266
Tempo de Tratamento >10 dias	13	38	0,001
Dose Acumulada (mg)	1940 ± 858,9	3120 ± 2649,3	0,004
Dose diária (mg/dia)	189,9 ± 59,2	195,1 ± 54,9	0,677
Dose (mg/Kg/dia)	3,04 ± 0,9	2,87 ± 1,0	0,570
Dose > 200 mg/dia	15	29	0,139
Creatinina Basal	0,72 ± 0,3	0,72 ± 0,3	0,974
Hipoalbuminemia	20	36	0,021
Hemodiálise	2	4	0,525
Drogas nefrotóxicas			
AINE	6	8	0,872
Aminoglicosídeo	5	7	0,954
Anfotericina B	0	1	0,591
Drogas Vasoativas	3	10	0,132
Furosemida	1	11	0,012
Glicopeptídeos	6	10	0,758

Os dados estão representados por n(%) ou média ± desvio padrão.

HAS: hipertensão arterial sistêmica

DM: diabetes *mellitus*

UTI: unidade de terapia intensiva

VM: ventilação mecânica

AINE: anti-inflamatórios não-esteroidais

Tabela 4 – Modelo de regressão multivariável dos fatores associados ao desenvolvimento e injúria renal aguda em pacientes tratados com polimixina B.

Variáveis	OR(IC) não ajustado	OR(IC) ajustado	OR(IC) modelo final
Idade	1,02 (0,99-1,05)	1,02 (0,98-1,06)	
Obesidade	4,56 (0,52-39,67)	6,19 (0,347-110,36)	
Hipoalbuminemia	3,60 (1,17-11,06)	5,91 (1,41-24,80)	4,93 (1,31-18,54)
Dose > 200 mg/dia	1,76 (0,747-4,169)	1,37 (0,42-121,78)	
Tempo de tratamento > 10 dias	4,80 (1,92-12,00)	10,13 (2,76-37,13)	7,01 (2,22-22,08)
Furosemida	9,39 (1,15-76,39)	7,01 (0,40-121,78)	
Drogas vasoativas	2,62 (0,67-10,29)	2,47 (0,31-19,73)	

OR: Odds ratio

IC: intervalo de confiança

5 CONCLUSÕES GERAIS DA DISSERTAÇÃO

O estudo observacional retrospectivo se mostrou eficaz na detecção dos fatores de risco relacionados à IRA nos pacientes tratados com PMB, além disso, colaborou para evidenciar a alta incidência de IRA e a gravidade dos casos, incentivando novos estudos para a obtenção de informações mais precisas sobre os fatores de risco.

Os critérios de RIFLE podem e devem ser utilizados em qualquer estudo que avalie a IRA com o intuito de padronizar os resultados e assim permitir que trabalhos com evidências mais fortes, como revisões sistemáticas e meta-análises, possam ser realizadas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a dificuldade de realizar um estudo randomizado com a população que utiliza PMB, uma vez que tratam de infecções resistentes aos demais antibióticos e, conseqüentemente, impede que outros antibióticos sejam usados em um possível grupo controle, o estudo observacional se mostrou efetivo para identificar os fatores de risco associados à nefrotoxicidade.

As principais limitações encontradas foram a falta de registros de informações pela equipe multidisciplinar e os horários que a SAME reserva aos estudos. Contudo, os objetivos do trabalho foram atingidos e possibilitou que estratégias sejam tomadas para minimizar os danos causados pelas PMB. Podemos destacar o acompanhamento da creatinina e da albumina sérica e do tempo necessário para a cura da infecção.

Outros dados passíveis de análises foram obtidos na coleta de dados e trabalhos que auxiliem na escolha da melhor estratégia terapêutica serão apresentados em trabalhos futuros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

ARONSON, J. K. Implications for drug development, clinical trials, pharmacovigilance, biomarkers, and monitoring. **Drug Safety**, v. 36, n. 3, p. 147-153, mar. 2013.

BELLOMO, R. et al. 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). **Critical Care**, v. 8, n. 4, p. 204-212, ago. 2004.

BOUVY, J. C.; BRUIN, M. L. D.; KOOPMANSCHAP M. A. Epidemiology of adverse drug reactions in Europe: a review of recente observational studies. **Drug Safety**, v. 38, n. 5, p. 437-453, maio 2015.

CRASS, R. L.; RUTTER, W. C.; BURGESS, D. R. Nephrotoxicity in patients with or without cystic fibrosis treated with polymyxin B compared to colistin. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 61, n. 4, p. e02316-e02329, mar. 2017.

CRUZ, D. N.; RICCI, Z.; RONCO, C. Clinical review: RIFLE and AKIN – time for reappraisal. **Critical Care**, v. 13, n. 3, p. 211, jun. 2009.

DAILY MED. **Product Information**: POLYMYXIN B injection powder, polymyxin b sulfate injection powder. Schaumburg: Sagent Pharmaceuticals, 2013.

DUBROVSKAYA, Y. et al. Risk factors for nephrotoxicity onset associated with polymyxin B therapy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 6, p. 1903-1907, 2015.

EDWARDS, R.; ARANSON J. K. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. **The Lancet**, v. 356, n. 9237, p. 1255-1259, out. 2000.

FALAGAS, M. E.; KASIAKOU, S. K. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. **Critical Care**, v. 10, n. 1, p. 20-27, fev. 2006.

GALES, A. C. et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 15, p. 46-55, maio 2001.

GHLISSI, Z. et al. Evaluation of colistin nephrotoxicity administered at diferente doses in the rat model. **Renal Failure**, v. 35, n. 8, p. 1130-1135, set. 2013.

GIACOMINI, K. M. et al. When good drugs go bad. **Nature**, v. 446, n. 7139, p. 975-977, abr. 2007.

JORGE, P. et al. A network perspective on antimicrobial peptide combination

therapies: the potential of colistin, polymyxin B and nisin. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 6, p. 668-676, jun. 2017.

JUSTO, J. A.; BOSSO, J. A. Adverse reactions associated with systemic polymyxin therapy. **Pharmacotherapy**, v. 35, n. 1, p. 28-33, jan. 2014.

KALIL, A. C. et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 5, p. e61-e111, 2016.

KELESIDIS, T.; FALAGAS, M. The safety of polymyxin antibiotics. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 14, n. 11, p. 1687-1701, dez. 2015.

MALTA, M. et al. Iniciativa STROBE: subsídios para a comunicação de estudos observacionais. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 3, p. 559-565, 2010.

MENDES, C. A.; BURDMANN, E. A. Polimixinas – revisão em ênfase na sua nefrotoxicidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 752-759, jul. 2009.

MSD MANUAL. **Adverse Drug Reactions**. 2018. Disponível em: <<http://www.msmanuals.com/professional/clinical-pharmacology/adverse-drug-reactions/adverse-drug-reactions#v6530861>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2018.

PIKE, M.; SALTIEL, E. Colistin and polymyxin induced nephrotoxicity: focus on literatura utilizing the RIFLE classification scheme of acute kidney injury. **Journal of Pharmacy Practice**, v. 27, n. 6, p. 554-561, dez. 2014.

POIREL, L.; JAYOL, A.; NORDMANN, P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 557-596, abr. 2017.

RIGATTO, M. H. et al. Risk factors for acute kidney injury (AKI) in patients treated with polymyxin B and influence of AKI on mortality: a multicentre prospective cohort study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 5, p. 1552-1557, jan. 2015.

RIZZI, M. The complex case for another hard look – transnational pharmaceutical regulation and the pedagogical role of courts. 2015. 260 f. Tese (Doutorado em Direito) – European University Institute, Florenca. 2015.

SONG, J. W.; CHUNG, K. C. Observational studies: Cohort and case-control studies. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 126, n. 6, p. 2234-2242, dez. 2011.

WU, T. et al. Ten-year trends in hospital admissions for adverse drug reactions in England 1999-2009. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 103, p. 239-250, 2010.

ZAVASCKI, A. P. et al. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. **Antimicrob Chemother**, v. 60, n. 6, p. 1206-15, 2007.

7.2 ARTIGO

- [1] Justo JA, Bosso JA. Adverse reactions associated with systemic polymyxin therapy. *Pharmacotherapy* 2014; 35: 28-33.
- [2] Pike M, Saltiel E. Colistin and polymyxin induced nephrotoxicity: focus on literatura utilizing the RIFLE classification scheme of acute kidney injury. *J Pharm Pract* 2014; 27: 554-61.
- [3] Jorge P, Pérez-Pérez M, Rodrigues GP, Pereira MO, Lourenço A. A network perspective on antimicrobial peptide combination therapies: the potential of colistin, polymyxin B and nisin. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 46: 668-76.
- [4] Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care* 2016; 10: 20-7.
- [5] Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin Microbiol Rev* 2017; 30: 557-96.
- [6] Mendes CAC, Burdmann EA. Polimixinas – revisão em ênfase na sua nefrotoxicidade. *Rev Ass Med Bras* 2009; 55: 752-9.
- [7] Daily Med. Product Information: POLYMYXIN B injection powder, polymyxin b sulfate injection powder. Schaumburg: Sagent Pharmaceuticals; 2013.
- [8] Kelesidis T, Falagas M. The safety os polymyxin antibiotics. *Expert Opin Drug Saf* 2015; 14: 1687-701.
- [9] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Metha RL, Palevsky, P. 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). *Crit Care* 2004; 8: 204-12.
- [10] Ghilissi Z, Hakim A, Ayadi FM, Zeghal K, Rebai T, Sahnoum, Z. Evaluation of colistin nephrotoxicity administered at diferente doses in the rat model. *Ren Fail* 2013; 35: 1130-5.
- [11] Crusio R, Rao S, Changawala N, Paul V, Tiu C, Ginkel JV, et al. Epidemiology and outcome of infections with carbapenem-resistant Gram-negative bactéria treated with polymyxin B-based combination therapy. *Scand J Infect Dis* 2014; 46: 1-8.
- [12] Oliota AFR, Reis CB, Silva EAA, Sanches, ACC. Perfil de Utilização e Segurança no Uso do Antimicrobiano Polimixina B em um hospital público. *Boletim Informativo Geum* 2016; 7: 56-62.
- [13] Rigatto MH, Behle TF, Falci DR, Freitas T, Lopes NT, Nunes M, Costa LW, 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; 70: 1552-7.

- [14] Rigatto MH, Oliveira MS, Perdigão-Neto LV, Levin AS, Carrilho CM, Tanita MT, et al. Multicenter Prospective Cohort Study of Renal Failure in Patients Treated with Colistin versus Polymyxin B. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 2443-9.
- [15] 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: 80-7.
- [16] Bahlis LF, Diogo LP, Lemos D, Klaus D. Fatores de risco associados à lesão renal aguda em pacientes tratados com polimixina B em um hospital terciário. *J Bras Nefrol* 2015; 37: 446-50.
- [17] Nelson BC, Eiras DP, Gomez-Simmonds A, Loo AS, Satlin MJ, Jenkins SG, et al. Clinical outcomes associated with polymyxin B dose in patients with bloodstream infections due to carbapenem-resistant Gram-negative rods. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 7000-6.
- [18] Osorio J, Barreto J, Samboni CF, Cándelo LA, Álvarez LC, Benavidez S, et al. Risk factors for acute kidney injury in patients treated with polymyxin B experience from 139 cases at a tertiary university hospital in Colombia. *Rev Chilena Infectol* 2017; 34: 7-13.
- [19] Oliveira MS, Prado GV, Costa SF, Grinbaum RS, Levin AS. Ampicillin/sulbactam compared with polymyxins for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 1369-75.
- [20] Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM, Pancholi P, Della-Latta P, Hammer SM, et al. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 54: 566-9.
- [21] Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al: Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016; 63: e61-e111.
- [22] Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ, et al. Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 5893-9.
- [23] Sekhri K, Nandha R, Mandal A, Bhasin D, Singh H. Parenteral polymyxins: assessing efficacy and safety in critically ill patients with renal dysfunction. *Indian J Pharmacol* 2013; 45: 608-11.
- [24] Kim W, Moon J, Huh JW, Choi S, Lim C, Koh Y, et al. Comparable Efficacy of Tigecycline versus Colistin Therapy for Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Pneumonia in Critically Ill Patients. *PLoS ONE* 2016; 11: 1-11.
- [25] 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: 1300-3.

[26] Crass RL, Rutter WC, Burgess DR, Martin CA, Burgess DS. Nephrotoxicity in Patients with or without Cystic Fibrosis Treated with Polymyxin B Compared to Colistin. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: e2316-29.

ANEXOS

ANEXO I – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CIENTÍFICA INTERNACIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS

Estrutura do artigo

Subdivisão - seções numeradas

Divida seu artigo em seções claramente definidas e numeradas. As subseções devem ser numeradas como 1.1 (em seguida, 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (o resumo não está incluído na numeração da seção). Use esta numeração também para referência cruzada interna: não se refira apenas ao 'texto'. Qualquer subseção pode receber um breve título. Cada título deve aparecer em sua própria linha separada.

Introdução

Indique os objetivos do trabalho e forneça um contexto adequado, evitando uma pesquisa bibliográfica detalhada ou um resumo dos resultados.

Material e métodos

Fornecer detalhes suficientes para permitir que o trabalho seja reproduzido por um pesquisador independente. Os métodos já publicados devem ser resumidos e indicados por uma referência. Se estiver citando diretamente de um método publicado anteriormente, use aspas e cite também a origem. Quaisquer modificações nos métodos existentes também devem ser descritas.

Resultados Os resultados devem ser claros e concisos.

Discussão

Isso deve explorar o significado dos resultados do trabalho, não repeti-los. Uma seção combinada de Resultados e Discussão é frequentemente apropriada. Evite citações extensas e discussão de literatura publicada.

Conclusões

As principais conclusões do estudo podem ser apresentadas em uma breve seção de Conclusões, que pode ser independente ou formar uma subseção de uma seção Discussão ou Resultados e Discussão.

Apêndices

Se houver mais de um apêndice, eles devem ser identificados como A, B, etc. Fórmulas e equações nos apêndices devem receber numeração separada: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc .; em um apêndice subsequente, a Eq. (B.1) e assim por diante. Similarmente para tabelas e figuras: Tabela A.1; Fig. A.1, etc.

Informações essenciais da página de título

• ***Título.*** Conciso e informativo. Títulos são frequentemente usados em sistemas de recuperação de informações. Evite abreviações e fórmulas sempre que possível.

- **Nomes e afiliações dos autores.** Por favor, indique claramente o (s) nome (s) e nome (s) de família de cada autor e verifique se todos os nomes estão escritos com precisão. Você pode adicionar seu nome entre parênteses em seu próprio script por trás da transliteração em inglês. Apresente os endereços de afiliação dos autores (onde o trabalho real foi feito) abaixo dos nomes. Indique todas as afiliações com uma letra em sobrescrito minúscula imediatamente após o nome do autor e em frente ao endereço apropriado. Forneça o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se disponível, o endereço de e-mail de cada autor.
- **Autor correspondente.** Indique claramente quem irá lidar com correspondência em todas as fases de arbitragem e publicação, também pós-publicação. Esta responsabilidade inclui responder a quaisquer consultas futuras sobre Metodologia e Materiais. **Assegure-se de que o endereço de e-mail seja fornecido e que os detalhes de contato sejam mantidos atualizados pelo autor correspondente.**
- **Endereço presente / permanente.** Se um autor se mudou desde que o trabalho descrito no artigo foi feito, ou estava em visita no momento, um "endereço atual" (ou "endereço permanente") pode ser indicado como uma nota de rodapé para o nome desse autor. O endereço no qual o autor realmente fez o trabalho deve ser mantido como o endereço principal de afiliação. Números árabes sobrescritos são usados para tais notas de rodapé.

Resumo

Um **resumo** conciso e factual é necessário (comprimento máximo de 250 palavras). O resumo deve indicar brevemente o objetivo da pesquisa, os principais resultados e principais conclusões. Um resumo é frequentemente apresentado em separado do artigo, por isso deve ser capaz de ficar sozinho. Não cite referências no resumo. Abreviações não-padrão ou incomuns devem ser evitadas em abstrato, mas se essenciais devem ser definidas em sua primeira menção no próprio resumo.

Destaques

Destaques são obrigatórios para este periódico. Eles consistem em uma pequena coleção de pontos que transmitem os principais resultados do artigo e devem ser enviados em um arquivo editável separado no sistema de submissão on-line. Por favor, use 'Destaques' no nome do arquivo e inclua de 3 a 5 marcadores (máximo de 85 caracteres, incluindo espaços, por ponto de marcador). Você pode ver os [Destaques do exemplo](#) em nosso site de informações.

Palavras-chave

Imediatamente após o resumo, forneça no máximo 6 palavras-chave, usando ortografia britânica e evitando termos gerais e plurais e vários conceitos (evite, por exemplo, 'e', 'de'). Seja poupado com abreviaturas: apenas as abreviaturas firmemente estabelecidas no campo podem ser elegíveis. Essas palavras-chave serão usadas para propósitos de indexação.

Abreviações

Defina abreviações que não são padrão neste campo em uma nota de rodapé a ser colocada na primeira página do artigo. Tais abreviaturas que são inevitáveis no abstrato devem ser definidas em sua primeira menção, assim como na nota de rodapé. Assegure a consistência das abreviaturas ao longo do artigo.

Agradecimentos

Agrupe os agradecimentos em uma seção separada no final do artigo antes das referências e, portanto, não os inclua na página de título, como uma nota de rodapé no título ou de outra forma. Liste aqui as pessoas que forneceram ajuda durante a pesquisa (por exemplo, fornecendo ajuda no idioma, escrevendo ajuda ou revisando o artigo, etc.).

Notas de

rodapé devem ser usadas com moderação. Numere-os consecutivamente ao longo do artigo. Muitos processadores de texto podem criar notas de rodapé no texto e esse recurso pode ser usado. Caso contrário, indique a posição das notas de rodapé no texto e liste as notas de rodapé separadamente no final do artigo. Não inclua notas de rodapé na lista de referência.

Legendas das figuras

Assegure-se de que cada ilustração tenha uma legenda. Forneça legendas separadamente, não anexadas à figura. Uma legenda deve conter um breve título (**não** na própria figura) e uma descrição da ilustração. Mantenha o texto nas próprias ilustrações no mínimo, mas explique todos os símbolos e abreviações usadas.

Tabelas

Por favor, envie tabelas como texto editável e não como imagens. As tabelas devem ser enviadas separadamente e não devem ser incluídas como parte do texto do manuscrito. Numere as tabelas consecutivamente de acordo com sua aparência no texto e coloque quaisquer notas de tabela abaixo do corpo da tabela. Seja poupado no uso de tabelas e garanta que os dados apresentados neles não dupliquem os resultados descritos em outra parte do artigo. Por favor, evite usar regras verticais e sombreamento nas células da tabela.

Referências

Citação no texto

Certifique-se de que todas as referências citadas no texto também estejam presentes na lista de referências (e vice-versa). Quaisquer referências citadas no resumo devem ser dadas na íntegra. Resultados não publicados e comunicações pessoais não são recomendados na lista de referências, mas podem ser mencionados no texto. Se essas referências forem incluídas na lista de referências, elas devem seguir o estilo de referência padrão da revista e incluir uma substituição da data de publicação por "Resultados não publicados" ou "Comunicação pessoal". A citação de uma referência como 'in press' implica que o item foi aceito para publicação.

Estilo de referência

Texto: Indica referências por número (s) entre colchetes em linha com o texto. Os autores reais podem ser referidos, mas o (s) número (s) de referência deve (m) sempre ser dado (s).

Lista: Numere as referências (números entre colchetes) na lista na ordem em que aparecem no texto.

Exemplos:

Referência a uma publicação de um periódico:
 [1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. A arte de escrever um artigo científico. *J Sci Commun* 2010; 163: 51-9.

Referência a um livro:

[2] Strunk Jr W, White EB. Os elementos de estilo. 4^a ed. Nova Iorque: Longman; 2000.

Referência a um capítulo de um livro editado: [3] Mettam GR, Adams LB. Como preparar uma versão eletrônica do seu artigo. Em: Jones BS, Smith RZ, editores. *Introdução à era eletrônica*, Nova York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Referência para um site: [4] Cancer Research UK. Relatórios de estatísticas de câncer para o Reino Unido, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [acessado em 13 de março de 2003].

Referência a um conjunto de dados: [dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Dados de mortalidade para a doença de murchar japonesa e composições florestais circundantes, *Mendeley Data*, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Anote a forma abreviada do último número de página. por exemplo, 51-9, e que, para mais de 6 autores, os 6 primeiros devem ser listados, seguidos de "et al." Para mais detalhes, você será encaminhado para 'Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas' (*J Am Med Assoc* 1997; 277: 927–34) (veja também Exemplos de Referências Formatadas).