UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

KAREN PRADO HERZER MATTOS

HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA E DESFECHOS CLÍNICOS RELACIONADOS AO USO INTRAVENOSO DA POLIMIXINA B

SKIN HYPERPIGMENTATION AND CLINICAL OUTCOMES ASSOCIATED WITH THE INTRAVENOUS POLYMYXIN B USE

CAMPINAS
2018

KAREN PRADO HERZER MATTOS

HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA E DESFECHOS CLÍNICOS RELACIONADOS AO USO INTRAVENOSO DA POLIMIXINA B

SKIN HYPERPIGMENTATION AND CLINICAL OUTCOMES ASSOCIATED WITH THE INTRAVENOUS POLYMYXIN B USE

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas na Área de Concentração Pesquisa Clínica

Thesis presented to the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas being part of the required requirements for obtaining the title of Doctor in Medical Sciences in Clinical Research area.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. PATRICIA MORIEL

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
KAREN PRADO HERZER MATTOS, E ORIENTADA
PELA PROFA. DRA. PATRICIA MORIEL

CAMPINAS
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES, 01-P-3368/2017

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

M436h

Mattos, Karen Prado Herzer, 1985-
Hiperpigmentação cutânea e desfechos clínicos relacionados com o uso intravenoso da polimixina B / Karen Prado Herzer Mattos. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Patricia Moriel.
Coorientador: Maria Letícia Cintra.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Polimixina B. 2. Hiperpigmentação cutânea. 3. Nefrotoxicidade. 4. Reações adversas. I. Moriel, Patricia, 1972-. II. Cintra, Maria Letícia, 1951-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Skin hyperpigmentation and clinical outcomes associated with the intravenous polymyxin B use
Palavras-chave em inglês:
Polymyxin B
Skin hyperpigmentation
Nephrotocixity
Adverse reactions
Área de concentração: Pesquisa Clínica
Titulação: Doutora em Ciências Médicas
Banca examinadora:
Patricia Moriel [Orientador]
Marcelo Lancellotti
Fernando de Sá Del Fiol
Patrícia de Carvalho Mastroianni
Marília Berlofa Visacri
Data de defesa: 14-12-2018
Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

FOLHA DE APROVAÇÃO

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

KAREN PARDO HERZER MATTOS

ORIENTADOR: Patricia Moriel

CO-ORIENTADOR: Maria Letícia Cintra

MEMBROS:

1. PROFa. DRa. Patricia Moriel

2. PROF. DR. Marcelo Lancellotti

3. PROF. DR. Fernando de Sá Del Fiol

4. PROFa. DRa. Patricia de Carvalho Mastroianni

5. PROFa. DRa. Marília Berlofa Visacri

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 14/12/2018

EPÍGRAFRE

“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então, com todo o coração, dedicar-se a ele. ”

(Buda)

AGRADECIMENTOS

Chego ao fim desta longa etapa. Quatro anos que passaram cheios de novas e boas experiências. Chegar até aqui, não foi só um desafio, como também uma sequência de aprendizados e conquistas em todos os âmbitos da minha vida. Nunca imaginei que um curso de doutorado, e em especifico este projeto, pudessem ter o poder para transformar tão profundamente a minha vida, abrindo portas e oportunidades antes inimagináveis. Devo tudo isto aos meus pais, ao apoio e à força que sempre destinaram a mim. Ao meu noivo Marco, por desde o início estar ao meu lado acompanhando cada fase deste projeto e sempre acreditando e ressaltando o meu potencial como farmacêutica e pesquisadora. A toda a minha família e amigos, que sempre me acompanharam, apesar das longas ausências e silêncios, mas ainda assim nunca deixei de os sentir presentes. A todos os alunos de pós-graduação pela parceria e partilha fundamental de conhecimentos. As alunas de iniciação científica Thaís Rodrigues e Isabela Gouvêa que participaram de forma ativa em diversos aspectos do trabalho sempre com ideias novas e disposição para ajudar no que fosse necessário. Ao Dr. Leonardo D´Ávila Ferreira, ao Dr. Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho e ao Dr. Carlos Emílio Levy, sem os quais este projeto não chegaria tão longe. Aos profissionais do Hospital de Clinicas da Unicamp, que compreenderam desde o início a importância e o impacto do trabalho, e me encorajaram a prosseguir tendo em foco a qualidade de vida dos pacientes e os benefícios que este trabalho traria para suas vidas. Agradeço de forma imensurável, a todos os pacientes que participaram deste estudo assim como seus familiares, pela confiança que depositaram em mim, e muitos deles mesmo sem poder se comunicar, transmitiam um olhar de gratidão e esperança que foi, durante muitos meses, a minha principal motivação. Deixo registrado também o meu profundo agradecimento à Profa. Dra. Maria Letícia Cintra, pela parceria, paciência e empenho em contribuir com a partilha de seus conhecimentos na área da anatomia patológica, sem os quais o estudo não teria alcançado tal nível de notoriedade. E por fim, e não menos importante, devo um especial agradecimento à Profa. Dra. Patricia Moriel, pela oportunidade de iniciação na carreira acadêmica, pela parceria de longos anos de trabalho juntas, por todos os conhecimentos partilhados, pela disponibilidade, ajuda e apoio que fizerem possível a realização deste sonho.

RESUMO

Nos últimos anos a utilização da polimixina B no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas apresentou considerável crescimento apesar de sua elevada e já conhecida toxicidade. Nefrotoxicidade e neurotoxicidade são reações adversas frequentemente associadas a este fármaco atualmente utilizado como um dos últimos recursos para o manejo de cepas multirresistentes que já não respondem aos demais tratamentos antimicrobianos disponíveis na prática clínica. Com a maior frequência no uso da polimixina B, uma nova reação adversa denominada como hiperpigmentação cutânea (HC) passou a ser observada dentre os pacientes em tratamento intravenoso com o antimicrobiano, e desta forma, associada a ele. Apesar do número crescente de relatos de pacientes acometidos pela reação pigmentar, pouco ainda é conhecido sobre a sua etiopatogenia, seus fatores associados e a existência de possível tratamento. Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar duas reações adversas associadas ao uso intravenoso da polimixina B (HC e nefrotoxicidade), no sentido de conhecer sua incidência e o mecanismo de ação pelo qual se manifestam, além de verificar se há correlação entre os dois desfechos clínicos. Trata-se de um estudo prospectivo realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas com o acompanhamento contínuo de pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B. O impacto da utilização do fármaco na função renal foi avaliado por meio da taxa de filtração glomerular calculada em função da concentração sérica de creatinina. Já a hiperpigmentação cutânea foi avaliada por meio de escala colorimétrica, registros fotográficos, análises dermatoscópicas, histológicas e imunoistoquímicas. Os achados de tais análises suportam a HC como sendo um processo inflamatório com subsequente ativação dos melanócitos decorrente do uso intravenoso da polimixina B. A reação pigmentar foi observada em 8,0% dos pacientes estudados e se manifesta logo nos primeiros dias de tratamento com maior incidência em pacientes melanodérmicos (p=0,0002). Outros fatores como incidência de luz, interações medicamentosas, sítio de infecção, microrganismo tratado, doenças de base, sexo e idade não exercem influência sobre o desenvolvimento da reação. A nefrotoxicidade foi registrada em 40,5% da população e não parece estar associada com a HC. Outros desfechos clínicos do tratamento com a polimixina B também foram registrados. Importantes avanços foram obtidos com o presente estudo no sentido de quantificar, avaliar e divulgar os aspectos que tangem

o desenvolvimento da HC. Desta forma, suportado por análises histopatológicas, o provável mecanismo pelo qual a HC se manifesta foi então proposto e poderá auxiliar não só no tratamento da reação pigmentar, mas também na sua prevenção.

Palavras – chave: Polimixina B; Hiperpigmentação Cutânea; Nefrotoxicidade; Reações Adversas.

ABSTRACT

In recent years, the use of polymyxin B for the treatment of infections caused by Gram-negative bacteria has shown considerable growth despite its high and already known toxicity. Nephrotoxicity and neurotoxicity are frequent adverse reactions associated with this drug currently used as one of the last resources for the management of multidrug-resistant strains that no longer respond to other antimicrobial treatments available in clinical practice. Thus, with the increased frequency of use of polymyxin B, a new adverse reaction called skin hyperpigmentation (SH) has been observed among patients with antimicrobial intravenous treatment, and thus associated with it. Despite the increasing number of reports of patients affected by the pigmentary reaction, little is known about its aetiology, its associated factors, its aetiology, and the possibility of treatment. In this sense, the present study aimed to evaluate the adverse reactions associated with the intravenous use of polymyxin B (SH and nephrotoxicity) in order to gain knowledge regarding its incidence, aetiopathogeny and mechanism by which the SH manifested itself, in addition to verifying if there is a correlation between the two outcomes. This prospective study was carried out at the Hospital de Clínicas of the State University of Campinas with continuous follow-up of patients undergoing intravenous treatment with polymyxin B. The impact of drug use on renal function was assessed by calculating glomerular filtration rate through the measurement of daily serum creatinine concentrations. SH was evaluated by colourimetric scale, photographic records, dermatoscopic, histological and immunohistochemical analyzes. Findings obtained from such analyzes support SH as an inflammatory process with subsequent activation of melanocytes due to the intravenous use of polymyxin B. SH was observed in 8.0% of the study population with onset on the first days of treatment with greater incidence in melanodermic patients (p=0,0002). Other factors such as light incidence, drug-drug interactions, site of infection, microorganism involved, underlying diseases, sex and age did not influence the SH development. Nephrotoxicity was found in 40.5% of the population and does not appear to be associated with SH. Other clinical outcomes of treatment with polymyxin B have also been reported. Significant advances have been obtained with the present study in the sense of quantifying, evaluating and disseminating the aspects linked to SH development. Thus, supported by histopathological analysis, the probable mechanism

by which the SH manifests itself was then proposed and could help not only the on the treatment of the pigmentation reaction but also on its prevention.

Keywords: Polymyxin B; Skin Hyperpigmentation; Nephrotoxicity; Adverse reactions.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estadiamento da LRA pelo critério KDIGO 45
Tabela 2. Caracterização epidemiológica da população do estudo 51
Tabela 3. Classificação de reações adversas segundo sua frequência 52
Tabela 4. Comparação geral entre grupos de pacientes HC+ e HC- 53
Tabela 5. Surgimento da HC em relação aos dias de tratamento com polimixina B 54
Tabela 6. Possíveis fatores associados ao desenvolvimento da HC 55
Tabela 7. Frequência da variação da tonalidade de pele dos pacientes HC+ na região da face segundo a escala de Felix von Luschan 55
Tabela 8. Registro da mensuração de melanina do grupo HC+ 56
Tabela 9. Fármacos potencialmente causadores de pigmentação cutânea administrados concomitantemente à polimixina B nos pacientes HC+ 57
Tabela 10. Níveis de comprometimento renal de acordo com os critérios de Magacho e KDIGO 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural da polimixina B 19
Figura 2. Classificação de LRA: RIFLE e AKIN 25
Figura 3. Associação de queratinócitos e melanócitos 30
Figura 4. Síntese da melanina 31
Figura 5. Tipos de pigmentação de pele 33
Figura 6. Escala colorimétrica de Felix von Luschan 47

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Critério de AKIN para classificação da função renal 24
Quadro 2. Fármacos frequentemente associados à nefrotoxicidade 28
Quadro 3. Principais medicamentos indutores de HC e os respectivos mecanismos de indução 35

LISTA DE ABREVIATURAS

AINES	Anti-inflamatórios não-esteroidais
AKIN	Acute Kidney Injury Network
ANVISA	Agência Nacional de Saúde
AQDI	Acute Dialysis Quality Initiative
B-MSH	Beta-Melanócito Melanocyte-Stimulating Hormone
EtBr	Brometo Etídio
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Equation
CMI	Concentração Mímina Inibitória
Cr	Creatinina
DOPA	3,4-dihidroxifenilalanina
DU	Débito Urinário
DP	Desvio Padrão
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
FM	Fontana Masson
HC	Hiperpigmentação Cutânea
HC-UNICAMP	Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas
H&E	Hematoxilina Eosina
IRA	Insuficiência Renal Aguda
IRC	Insuficiência Renal Crônica
IRCT	Insuficiência Renal Crônica Terminal
LRA	Lesão Renal Aguda
MDRD	Modification Diet in Renal Disease
MSH	Melanocyte-Stimulating Hormone
MDR	Multidrug Resistant
MR	Multirresistentes
RAM	Reação Adversa a Medicamentos
RIFLE	Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, End-stage kidney disease
SARM	*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO 16
2.0 OBJETIVOS 40
3.0 MÉTODOS 41
4.0 RESULTADOS 51
4.1 Resultados Gerais 51
4.2. Artigos Científicos 59
4.2.1 Artigo 1 59
4.2.2 Artigo 2 60
4.2.3. Artigo 3 61
4.2.4. Artigo 4. 62
5.0 DISCUSSÃO GERAL 63
6.0 CONCLUSÃO 77
7.0 ESTÁGIO NO EXTERIOR (MOBILIDADE ACADÊMICA) 79
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 82
9.0 ANEXOS 95

1.0 INTRODUÇÃO

1.1. Antimicrobianos

O uso de antimicrobianos proporcionou enormes mudanças para o mundo em que vivemos especialmente no que se refere ao aumento da nossa expectativa de vida (1). Por outro lado, a disseminação de seu uso fez com que as bactérias desenvolvessem defesas relativas aos agentes antimicrobianos e, como consequência, o aparecimento da resistência bacteriana. A aplicabilidade e eficácia dos antimicrobianos disponíveis no mercado vêm a cada ano tornando-se mais limitadas. Tal realidade está relacionada ao uso indiscriminado desta classe de medicamentos que se traduz no aumento da exposição das bactérias aos mesmos e, por consequência, no aumento da pressão seletiva (2).

A resistência se desenvolve como uma consequência natural da habilidade da população bacteriana para se adaptar ao nosso arsenal antimicrobiano, e este não é um fenômeno novo (3, 4). A atual realidade que enfrentamos com relação à resistência bacteriana reflete a rápida expansão, diversificação e extensão de uma vasta gama de determinantes de resistência sobre a pressão seletiva do amplo uso dos antimicrobianos. Relatos de bactérias com fenótipos multirresistentes (MRs) estão cada vez mais frequentes (5).

Neste sentido, a resistência bacteriana aos antimicrobianos evoluiu para uma consolidada crise global na área médica que, quando associada ao escasso desenvolvimento de novos antimicrobianos, origina a já designada " tempestade perfeita" – *" the perfect storm"* (6 - 8).

No caso de bactérias Gram-negativas resistentes a múltiplos fármacos, estas são capazes de causar infecções de difícil tratativa (9). Inúmeros hospitais em todo o mundo têm enfrentado surtos infecciosos causados por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* resistentes a todos os antimicrobianos atualmente disponíveis. Infelizmente, para as bactérias Gram-negativas nenhuma nova classe de antimicrobianos foi introduzida na clínica nos últimos dez anos (8).

Este conjunto de fatores levou microbiologistas e médicos a aventurarem-se na utilização de um antigo recurso previamente arquivado. Foi então retomado o interesse na utilização sistêmica das polimixinas vistas como um dos

raros recursos disponíveis para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas MRs (8,10,11).

Essa necessidade exigiu esforços de colaboração internacional, o que ficou evidente com a conferência da ESCMID (*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), realizada em Viena em 2014, sobre o renascimento de antimicrobianos antigos (12, 13).

As polimixinas são uma classe de antimicrobianos que foram revividos nos últimos anos (12). O ressurgimento das polimixinas e sua crescente utilização nas infecções por bactéria Gram-negativas foram de tal forma significativos, que o emprego desta classe de antimicrobianos foi identificado e percebido em consenso para otimização do uso clínico de polimixinas conhecido como "*The Polymyxin Consensus Prato*" realizado em Prato, na Itália em 2013 (14, 15).

Nesta 1ª Conferência Internacional sobre polimixinas na Itália, participantes discutiram um conjunto de objetivos-chave delineados para explorar os fatores que afetam o uso de polimixinas, identificar as lacunas no conhecimento e definir prioridades para pesquisas futuras. Os participantes identificaram vários fatores que afetam o uso ótimo das polimixinas, incluindo: confusão causada por diferentes convenções utilizadas para descrever as doses; ausência de padrões farmacopêicos apropriados para as polimixinas; informações desatualizadas; além de incertezas sobre os testes de suscetibilidade e pontos de viragem ("*break-points").* Áreas definidas com alta prioridade para pesquisa incluíram: melhor definição da eficácia da terapia combinada em comparação com monoterapia por meio de ensaios controlados aleatórios bem desenhados; avaliação dos méritos relativos da colistina versus polimixina B para vários tipos de infecções; investigação sobre a farmacocinética em populações de pacientes especiais; e a definição do papel das polimixinas no tratamento de pneumonia (15).

As áreas-chave identificadas fornecem um roteiro de ação com relação ao uso contínuo das polimixinas e destinam-se a ajudar na utilização eficaz e segura destes antimicrobianos atualmente tidos como último recurso (15).

Desta forma, as polimixinas reemergiram como uma importante linha de defesa no combate de bactérias Gram-negativas com elevado perfil de resistência denominados como *"superbugs"* (6).

1.2. Polimixinas

As polimixinas são antimicrobianos peptídeos policatiônicos descobertos em 1947, isolados do *Bacillus polymyxa (Bacillaceae)* (16). Constituem um grupo de cinco substâncias intimamente relacionadas que recebem o nome de polimixinas A, B, C, D e E, sendo esta última chamada de colistina. Somente as polimixinas B e E são utilizadas clinicamente, em virtude da acentuada toxicidade das demais (17, 18).

Até a década de 1960, as polimixinas eram as opções terapêuticas usadas para infecções graves causadas por bactérias Gram-negativas. No entanto o seu uso clínico era desfavorecido em função das altas taxas de nefrotoxicidade e neurotoxicidade associadas ao seu uso prolongado. Então, a partir da década de 1970, as polimixinas passaram gradativamente a serem substituídas por cefalosporinas de amplo espectro e aminoglicosídeos que apresentavam o mesmo espectro de atividade, porém com menor toxicidade (18).

Isso porquê, na época em que as polimixinas foram descobertas, o entendimento sobre a sua farmacologia, assim como os requisitos regulatórios para aprovação de novos fármacos eram consideravelmente reduzidos em relação aos dias de hoje (15). Então, apesar das polimixinas estarem disponíveis no mercado por mais de sete décadas, suas propriedades farmacológicas, todavia carecem de maior investigação e compreensão.

Após aproximadamente 30 anos em desuso, as taxas de sensibilidade bacteriana às polimixinas despertaram novo interesse em seu emprego na prática clínica (7, 16, 18).

No entanto, a crescente utilização das polimixinas se contrapõe à carência de informações sobre, como por exemplo, dosagem e posologia adequadas. A sua utilização muitas vezes é baseada em convenções, ao invés de estar vinculada às informações fundamentadas oriundas de estudos clínicos e pré-clínicos sobre o seu perfil farmacocinético, farmacodinâmico e tóxico. O aprofundamento de informações referentes à sua utilização faz-se extremamente necessário, para a otimização de sua atividade antimicrobiana, assim como para a prevenção de reações adversas, e o controle da resistência bacteriana.

1.2.1 Polimixina B

1.2.1.1 Propriedades químicas

A polimixina B é comercializada e utilizada sob a forma de sal sulfato, sendo composta pela mistura de sulfatos ou polipeptídeos produzidos pelo crescimento de determinadas cepas de *Bacillus polymyxa, (Bacillaceae)*. Apresenta-se na forma de pó branco higroscópico solúvel ou parcialmente solúvel em água (19, 20).

A estrutura química da polimixina B é uma mistura das polimixinas B_1 e B_2 e está representada pela Figura 1. Sua fórmula estrutural consiste em um decapeptídeo, formado basicamente por um heptapeptídeo cíclico, uma cadeia lateral tripeptídica e uma cadeia de ácidos graxos. A presença de grupos tanto hidrofílicos como lipofílicos confere à molécula um caráter anfipático, essencial para seu mecanismo de ação (21).

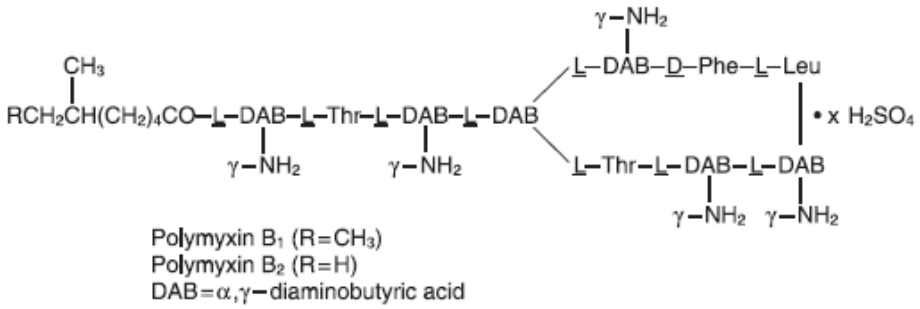


Figura 1. Fórmula estrutural da polimixina B (20)

1.2.1.2 Propriedades farmacodinâmicas

A polimixina B apresenta ação bactericida, atuando como um surfactante na parede celular das bactérias Gram-negativas. Sabe-se que esse grupo de bactérias apresentam uma parede celular de alta complexidade, composta pelo periplasma, por uma camada de peptideoglicano e uma membrana externa – a qual consiste em uma bicamada lipídica, contendo lipoproteínas e

lipopolissacarídeos (LPSs). O LPS é considerado o principal fator de virulência dessas bactérias, sendo uma endotoxina capaz de proporcionar a amplificação de reações inflamatórias. Sua estrutura consiste em um antígeno O, um núcleo e um lipídeo A (22).

Sugere-se que, em pH fisiológico, ocorra a protonação de grupos amina dos resíduos de ácido diaminobutírico (Dab) presentes na estrutura da polimixina B, conferindo uma carga positiva à molécula. Estabelece-se, então, uma atração eletrostática entre o fármaco, de caráter catiônico, e os grupos fosfato do lipídio A, de caráter aniónico. Isso gera uma desestabilização da estrutura do LPS, que acaba por causar alterações na permeabilidade da membrana externa da bactéria. Esta então se altera imediatamente em contato com o fármaco, promovendo um desequilíbrio osmótico, que culmina na lise celular (6, 20).

Em outras palavras, a polimixina B atua como surfactante agindo nas membranas celulares bacterianas, removendo moléculas de cálcio (Ca^{+2}) e magnésio (Mg^{+2}) que estabilizam a parede celular. Desta forma, promovem o aumento da permeabilidade das membranas e a liberação dos componentes celulares, levando à morte celular bacteriana (23, 24).

No que se refere ao espectro de ação, a polimixina B mostra-se eficaz frente a uma grande variedade de bacilos Gram-negativos, incluindo os mais clinicamente relevantes, como por exemplo *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase e *Acinetobacter* spp. Por outro lado, alguns patógenos Gram-negativos como *Proteus* spp., *Burkholderia cepacia, Serratia* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii* e *Edwardisiella tarda* apresentam resistência intrínseca à polimixina B e a sua utilização frente a estes microrganismos é ineficaz (25, 26).

A maioria das bactérias naturalmente resistentes à polimixina B possui LPSs modificados com L-Ara4N. Esta modificação é muito efetiva devido à natureza da alteração de cargas, que diminui a carga negativa do lipídeo A para zero. A carga positiva líquida resultante do LPS modificado, reduz a sua ligação às polimixinas, levando à resistência bacteriana (27).

1.2.1.3 Propriedades farmacocinéticas

A polimixina B é utilizada na forma de sulfato de polimixina B e pode ser administrada por via parenteral, intratecal ou em uso tópico (oftalmológico e otológico), sendo parcialmente inativada pelo soro fisiológico. Desta forma, a sua diluição é preferencialmente feita em soro glicosado 5% ou água destilada (18,19, 28).

As concentrações plasmáticas máximas, após injeção intramuscular, geralmente ocorrem dentro de 2 horas, mas são variáveis. O sulfato de polimixina B é amplamente distribuído e extensivamente ligado às membranas celulares nos tecidos, entretanto, há pouca difusão no líquido cefalorraquidiano e não atravessa a placenta (19).

A polimixina B acumula-se em vários órgãos e tecidos, tais como rim, fígado, cérebro, pulmões, coração e músculos. Cerca de 60,0% da dose é recuperada de forma inalterada na urina. A polimixina B não é removida de forma apreciável por diálise peritoneal ou hemodiálise. Desta forma, não é necessária a reposição de doses em pacientes em tratamento dialítico (19, 28, 29).

A polimixina B não é absorvida pelo trato gastrointestinal e sua excreção é lenta e basicamente urinária, por filtração glomerular (19). Repetidas administrações podem causar efeito cumulativo, o que exige a correção de sua dose em casos de pacientes com insuficiência renal. A meia-vida da polimixina B é de 6 a 7 horas e pode ser prolongada em pacientes com comprometimento da função renal. Valores de meia-vida de 2 a 3 dias foram reportados em pacientes com depuração de creatinina inferior a 10 mL/minuto (18, 19, 28).

A dosagem indicada para o uso intravenoso em adultos e crianças é de 15.000 a 25.000 UI/Kg de peso corpóreo por dia em indivíduos com função renal normal, com infusões a cada 12 horas. Esta quantidade deve ser ajustada em 15.000 UI/Kg de peso para indivíduos com comprometimento renal (29).

No que se refere às interações medicamentosas, o uso concomitante do sulfato de polimixina B com outros fármacos nefrotóxicos, particularmente bacitracina, estreptomicina, neomicina, canamicina, gentamicina, tobramicina, amicacina e cefaloridina, deve ser evitado. Além disso, não é aconselhado o uso concomitante de relaxantes musculares cumarínicos e outros fármacos

neurotóxicas (éter, tubocurarina, succinilcolina, galamina, decametano, e citrato de sódio), pois podem precipitar a depressão respiratória (19).

Por outro lado, a sinergia antimicrobiana da polimixina B tem sido relatada com outros fármacos. Um exemplo disso é a associação de inibidores de beta-lactamases com a polimixina B por meio da qual é possível obter um potencial benéfico no tratamento de infecções de difícil gestão causadas por bactérias MRs. Dentre as combinações reportadas na literatura, o uso de ampicilina/sulbactam associada à polimixina B tem sido apontado como promissor. O uso de antimicrobianos combinados é uma prática interessante pois reduz a dose utilizada para o tratamento, e teoricamente, reduz a toxicidade do fármaco (31, 32).

É importante ressaltar que a compreensão atual da farmacocinética da polimixina B baseia-se em escassos estudos farmacocinéticos com um total inferior a 100 pacientes. Estes estudos são limitados em vários aspectos, como por exemplo, no número de pacientes estudados com variação de peso corporal e nas doses de ataque administradas (33).

1.3. Reações Adversas

Nefrotoxicidade e neurotoxicidade são reações adversas bem conhecidas e frequentemente relacionadas ao uso da polimixina B. Por outro lado, a hiperpigmentação cutânea (HC) é uma reação adversa ainda pouco relatada e documentada em literatura científica apesar da crescente utilização da polimixina B no Brasil e no mundo. Neste estudo foi dada ênfase às avaliações de nefrotoxicidade e HC associadas ao uso intravenoso da polimixina B.

1.3.1. Nefrotoxicidade

A nefrotoxicidade é uma importante reação adversa da polimixina B, sendo um dos principais fatores limitantes para o uso deste antimicrobiano. O comprometimento renal observado com maior frequência durante o uso do medicamento consiste no desenvolvimento de lesão renal aguda (LRA) (34), a qual pode ser definida como uma queda rápida, acentuada e sustentada da taxa

de filtração glomerular (TFG), manifestando-se a partir da ocorrência de necrose tubular aguda, azotemia e elevação da concentração sérica de creatinina (35).

O efeito nefrotóxico causado pela polimixina B ocorre por um mecanismo semelhante ao modo pelo qual se dá o seu efeito antimicrobiano nas bactérias. Em virtude de seu caráter anfipático, a droga é capaz de interagir com fosfolipídeos da membrana celular, promovendo um aumento de sua permeabilidade, o que favorece um maior influxo de cátions, ânions e água, resultando em edema e consequente lise celular (34).

Segundo a literatura, o grau de toxicidade renal induzido pela polimixina B varia em função da sua concentração e tempo de exposição. Assim, constatou-se que seu efeito citotóxico intensifica-se de acordo com a elevação da dose do fármaco confirmando ser a toxicidade dose-dependente. Notou-se também que quanto maior o tempo de exposição à droga, maior a morte celular observada (29).

Pesquisa realizada por Lloret e colaboradores, retrata, por meio de regressão logística, o fator tempo como sendo o principal dentre os fatores de risco para a nefrotoxicidade, inclusive ainda com maior influência do que a dose utilizada. O comprometimento renal associado com o prolongamento do tratamento pode estar atrelado à sua eliminação consideravelmente lenta, havendo mais tempo para se acumular nos rins e, portanto, exercer seus efeitos tóxicos (36 - 39).

1.3.1.1 Critérios de análise de LRA

Após uma fase de uniformização na definição diagnóstica de lesão renal aguda (LRA), o conceito proposto pelo "*Acute Kidney Injury Network*" (AKIN) surge com ampla aceitação clínica que contempla pequenas elevações da concentração sérica de creatinina, elevações estas com relevância prognóstica (40). O critério AKIN para diagnóstico de LRA define como uma abrupta a redução da função renal dentro de 48 horas caracterizada pela elevação da concentração sérica de creatinina em 0,3 mg/dL ou aumento de 50% LRA em relação à creatinina basal ou redução do débito urinário (< 0,5 ml/kg/h por 6 horas consecutivas). A partir destes valores, a gravidade da LRA é categorizada (41).

No Quadro 1 estão descritos os diferentes estádios da LRA de acordo com o critério de AKIN.

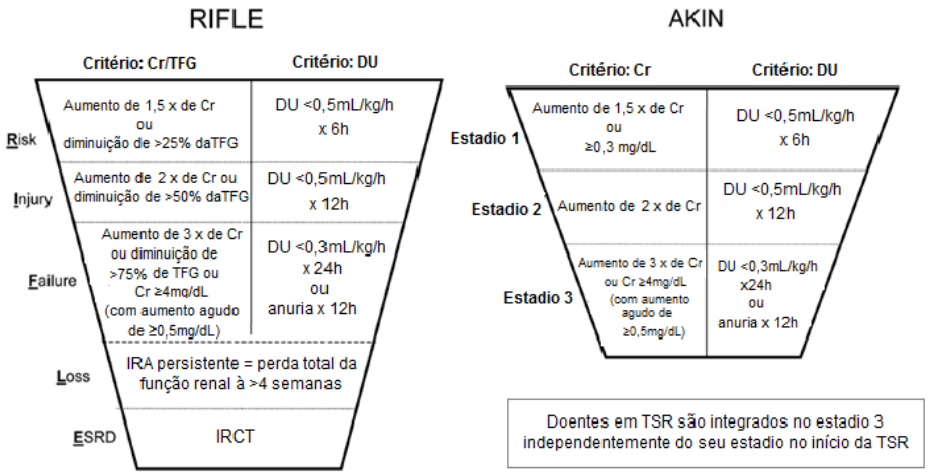
Quadro 1. Critério de AKIN para classificação da função renal (41)

Estádio	Concentração sérica de creatinina	Débito urinário
1	Aumento ≥ 0.3 mg/dL ou 1,5 a 1,5 vezes ao valor basal	< 0,5 ml/kg/h por mais de 6 horas
2	Aumento de 2 a 3 vezes ao basal	< 0,5 ml/kg/h por mais de 12 horas
3	Aumento > 3 vezes ao basal, elevação da concentração sérica de sérica ≥ 4 mg/dL	< 0,3 ml/kg/h por mais de 24 horas ou anúria por 12 horas

O grupo internacional "*Acute Dialysis Quality Initiative"* (AQDI) (42) desenvolveu os critérios RIFLE (43) para a classificação de LRA baseados na gravidade do dano renal, que compreendem três estádios: (R) Risco de disfunção renal (*Risk of renal dysfunction*), (I) Injúria renal (*Injury to the kidney*) e (F) Falência da função renal (*Failure of kidney function*), e dois desfechos: (L) Perda da função renal (*Loss of kidney function*) e (E) Estádio final da doença renal (*End-stage kidney disease*). Este sistema inclui dois parâmetros fáceis de avaliar: a elevação da concentração sérica de creatinina a partir da linha de base, e o débito urinário (DU). A classificação RIFLE abrange todo o espectro da disfunção renal aguda, com elevada sensibilidade em um extremo (R) e alta especificidade no extremo oposto (E). O estádio R tem mais falsos positivos, enquanto no estádio E os critérios de inclusão são mais rigorosos e mais específicos e, com maior probabilidade de falsos negativos (43).

A adoção de critérios mais abrangentes tem como vantagem a detecção precoce, e a aplicação de estratégias preventivas e terapêuticas para a preservação da função renal (44). A análise comparativa destas classificações foi alvo de diversas publicações sem consenso evidente. Contudo, parece consensual a existência de um aumento progressivo na mortalidade hospitalar com o agravamento do estádio em ambas as classificações, o que reforça a sua aplicabilidade na prática clínica (45, 46).

A figura 2 ilustra as diferenças entre os critérios RIFLE e AKIN considerando os níveis da concentração sérica da creatinina, taxa de filtração glomerular e débito urinário.



Legenda: Cr = Creatinina; DU = Débito urinário; IRA = Insuficiência renal aguda; IRCT= Insuficiência renal crônica terminal; TFG = Taxa de filtração glomerular.

Figura 2. Classificação de LRA: RIFLE e AKIN (46)

1.3.1.2. Avaliação da função glomerular

A avaliação da função glomerular é fundamental no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes com lesão renal. A TFG é definida como a capacidade renal de depurar uma substância a partir do sangue, e é expressa em volume de plasma que pode ser completamente depurado na unidade de tempo. A TFG diminui progressivamente ao longo do tempo na maioria das doenças renais. Nos estádios mais avançados e crônicos é um dos parâmetros utilizados para indicação da terapia renal substitutiva (47).

Inúmeras fórmulas de estimativa de TFG baseadas nos níveis da concentração sérica de creatinina já foram publicadas em literatura. Contudo, as desenvolvidas por Cockcroft-Gault (48) para o estudo *Modification Diet in Renal Disease (*MDRD) e a equação *The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Equation* (CKD-EPI) (49) são as mais amplamente utilizadas.

1.3.1.3. Biomarcadores da LRA

A LRA é uma síndrome associada a diversos fatores etiológicos e com variadas manifestações clínicas. Apesar do avanço no conhecimento epidemiológico da LRA, proporcionado pelo uso das classificações RIFLE e AKIN, muitos achados não são diretamente associados à função renal (idade, taxa de catabolismo, massa muscular e raça), e influenciam o nível dos marcadores utilizados para avaliação da função e lesão dos rins (50 - 52).

A creatinina, por exemplo, é o biomarcador mais utilizado para avaliação da função renal e o diagnóstico de LRA tem como base os seus valores séricos (52). No entanto, na LRA ocorre um estado de desequilíbrio em que os três determinantes da concentração de creatinina flutuam no soro (produção, volume de distribuição e eliminação renal), e desta forma, determinam um atraso importante na elevação da creatinina em relação à queda da TFG (53).

Dados da literatura sugerem que a concentração sérica de creatinina não é um biomarcador fidedigno para detectar a disfunção renal moderada em pacientes com LRA. Isto se deve ao fato de o benefício da terapêutica estar diretamente associado à precocidade das intervenções, e as intervenções baseadas no diagnóstico pela concentração sérica de creatinina são tardias (52).

Desta forma, o emprego de biomarcadores precoces de LRA se aplica no sentido de auxiliar na identificação da lesão antes do decréscimo na TFG detectado pela creatinina. Vários candidatos promissores para um biomarcador ideal surgiram, em sua maioria demonstrando uma capacidade de detecção de LRA em 48 horas antes da elevação da creatinina, e estão sendo testados em diferentes cenários clínicos (54 -56).

A origem estrutural do biomarcador pode ser citoplasmática, lisossômica ou membranosa, e fornece informação sobre a natureza da lesão celular. Como exemplos de biomarcadores precoces de LRA temos a cistatina C (cujo aumento está diretamente associado ao aumento da TFG e seus níveis não são significativamente afetados por idade, sexo, raça ou massa muscular), a NGAL

(que apresenta boa sensibilidade e especificidade como parâmetro de avaliação de LRA em ensaios clínicos), além da NAG e o KIM-1 (52).

Como a LRA pode ocorrer em diferentes momentos antes do aumento da concentração sérica da creatinina, a mensuração de um biomarcador previamente a lesão, ou de um biomarcador que revela aumento da sua quantidade apenas transitoriamente pode limitar sua sensibilidade (57).

Um biomarcador ideal para o diagnóstico precoce de LRA deve apresentar determinadas características e cumprir algumas funções. Como é pouco provável que um único marcador preencha todos os requisitos definidos, é aconselhável a utilização de um painel de marcadores para prever, diagnosticar e monitorizar a disfunção renal.

1.3.1.4. Fármacos nefrotóxicos

Estudos relacionam os fármacos nefrotóxicos com 19,0% a 25,0% dos casos de LRA. Porém, a aplicação de agentes potencialmente nefrotóxicos no ambiente hospitalar é inevitável (58). O tratamento clínico para infecções por bactérias Gram-negativas MRs em pacientes graves, por exemplo, contribui para um número crescente de LRAs induzidas pelo uso de fármacos como os aminoglicosídeos e a própria polimixina B (59).

Fármacos como os anti-inflamatórios não-esteroidais, os inibidores da enzima conversora de angiotensina e os antagonistas do receptor da angiotensina II afetam a perfusão renal e podem precipitar ou agravar a LRA em indivíduos suscetíveis (60). No Quadro 2 estão correlacionados os fármacos mais frequentemente associados à nefrotoxicidade e seus respectivos mecanismos de lesão renal.

Quadro 2. Fármacos frequentemente associados à nefrotoxicidade (60)

Mecanismo	Fármacos
Hemodinâmico	Agentes de contraste, inibidores de calcineurina, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES); inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAS), interleucina-2
Necrose tubular aguda (Toxinas exógenas)	Aminoglicosídeos, anfotericina, cisplatina, agentes de contraste, metoxiflurano, tetraciclinas, cefalosporinas, mitramicina, inibidores da calcineurina, pentamidina, ifosfamida, zoledronato, cidofovir, adefovir, tenofovir
Necrose tubular aguda (toxinas endógenas-rabdomiólise)	Lovastatina, etanol, barbitúricos, diazepam
Necrose tubular aguda (hemoglobina)	Quinidina, quinino, sulfonamidas, hidralazina, nitrofurantoína
Nefrite intersticial aguda	Penicilina, rifampicina, sulfonamidas, tiazidas, cimetidina, fenitoína, alopurinol, furosemida, AINES, ciprofloxacina, pentoprazol, omeprazol, atazanavir
Nefrose osmótica	Manitol, imunoglobulina, dextranos
Necrose papilar	AINES
Obstrução (preciptação intratubular)	Aciclovir, metrotexato, sulfonamidas, indinavir, ganciclovir
Obstrução (pós-renal)	Ergotamina, metildopa, hidralazina
Microangiopatia trombótica	Mitomicina, ciclosporina, gemcitabina

Legenda: AINES = Anti-inflamatórios não-esteroidais

1.3.2. Hiperpigmentação cutânea

1.3.2.1. A pele

Considerado o maior órgão do corpo humano, a pele é sede de constante renovação, uma vez que funciona como uma capa que o protege do exterior, sendo responsável pelo controle da perda dos fluidos corporais e da penetração de substâncias estranhas e nocivas para o organismo, funcionando assim como uma barreira impermeável (61).

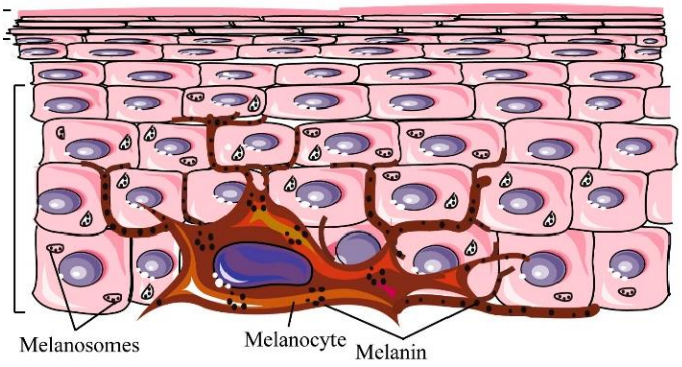
A pele é composta por três camadas distintas, a epiderme, a derme e a hipoderme. A epiderme é o estrato superior da pele, constituindo um tecido composto essencialmente por queratinócitos. A sua constituição, inclui ainda melanócitos, células que proporcionam uma proteção natural contra os raios solares sendo responsáveis pela pigmentação da pele. A derme por sua vez, é uma camada de tecido conjuntivo que inclui colágeno e fibras elásticas, é altamente vascularizada e com uma boa rede de vasos linfáticos. Ela hospeda glândulas sudoríparas e sebáceas, bem como folículos pilosos e fornece um bom suporte mecânico, compacto e flexível. A derme contém numerosas células, incluindo fibroblastos e macrófagos. Fibroblastos são responsáveis pela síntese e a renovação da matriz extracelular, enquanto macrófagos contribuem para eliminar material estranho e porções de tecido danificado por vários tipos de agentes agressores. A região mais interna da pele humana, o compartimento subcutâneo de gordura ou hipoderme, oferece proteção aos choques mecânicos, isola o corpo contra o calor externo e frio, e é ativo no metabolismo geral de energia e armazenamento. No geral, a derme e a hipoderme são as barreiras da pele mais eficazes contra estímulos nocivos, insultos traumáticos e térmicos (61 - 63).

Mesmo sem qualquer exposição solar, a pele tem pigmentação natural. A pigmentação da pele é um fator de grande relevância na procura de uma aparência saudável e consiste na combinação de vários fatores que incluem as características da epiderme, a quantidade de pigmento melânico, a vascularização e as condições das fibras elásticas (61).

A diversidade fenotípica da pigmentação não se deve tanto à variação do número de melanócitos, relativamente constante em diferentes grupos étnicos, mas a três fatores preponderantes: o tamanho e o número de melanossomos, a quantidade e o tipo de melanina (no caso da pele, eumelanina ou feomelanina), e a transferência e distribuição de melanina nos queratinócitos (61).

Os melanossomos de indivíduos de pele escura são maiores, mais numerosos e alongados quando comparados aos de indivíduos de pele clara. Isso resulta numa degradação (hidrólise) mais lenta nos queratinócitos e consequentemente, num aumento visível da pigmentação. Estas diferenças nos melanossomos estão já presentes ao nascimento e não são determinadas por fatores extrínsecos como por exemplo a radiação ultravioleta (UV) (61).

A principal função dos melanócitos é a produção de melanina. Os melanócitos da pele são circundados por queratinócitos (um melanócito é circundado por cerca de 36 queratinócitos) ao qual eles transferem seu pigmento de melanina (Figura 3). A estrutura molecular da melanina é bem adequada para a absorção de luz UV e visível e, assim, serve como proteção contra a radiação UV da luz solar. Os melanócitos também são encontrados em outros tecidos do corpo, como o sistema nervoso central e cardiovascular, e até mesmo no tecido adiposo (64).



Legenda: *Melanosomes* = Melanossomos; *Melanocyte* = Melanócitos; *Melanin* = Melanina

Figura 3. Associação de queratinócitos e melanócitos (64)

1.3.2.2. Melanina e a melanogênese

A melanina é um pigmento endógeno constituído por um polímero proteico, que tem origem na oxidação da tirosina pela enzima tirosinase. A enzima tirosinase, é uma metaloenzima, uma vez que contém cobre, responsável pela catálise da reação de oxidação de fenóis. A rota biossintética da melanina, no interior dos melanossomos, inicia-se com a tirosina, que é conhecida como a enzima chave na biossíntese da melanina (65).

Este aminoácido, que serve como substrato para a enzima tirosinase, primeiramente a oxida e converte em 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) dentro dos melanócitos presentes na camada basal da epiderme. Na sequência ocorre a desidrogenação da DOPA em dopaquinona (Figura 4). A conversão da dopaquinona em eumelanina implica uma outra série de reações de oxidações e ciclizações sucessivas que originam o indol-5-6- quinona, o percursor mais próximo deste pigmento (61).

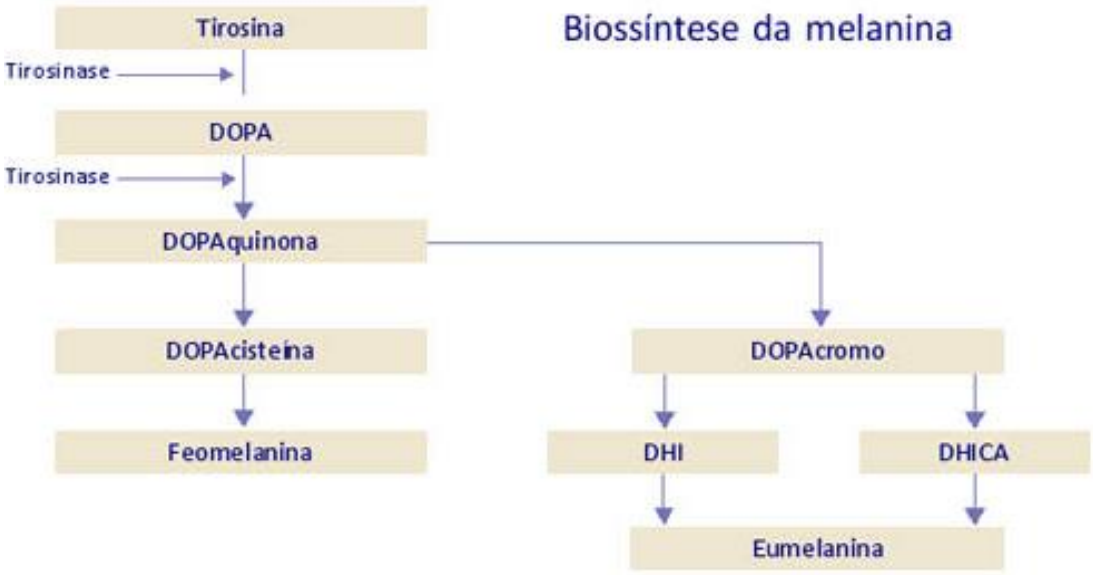


Figura 4. Síntese da melanina (66)

Os melanócitos, juntamente com os queratinócitos e as células de Langerhans formam uma unidade melanocitária, onde ocorre a melanogênese.

Esta, por sua vez, é controlada pelo hormônio melanócito-estimulante (*melanocyte-stimulating hormone* [MSH]), além do estradiol e da progesterona. A tirosina polimerizada deposita-se em vesículas conhecidas por melanossomos, que se deslocam por meio dos prolongamentos citoplasmáticas dos melanócitos, sendo transferidos para os queratinócitos através de um processo de secreção (61).

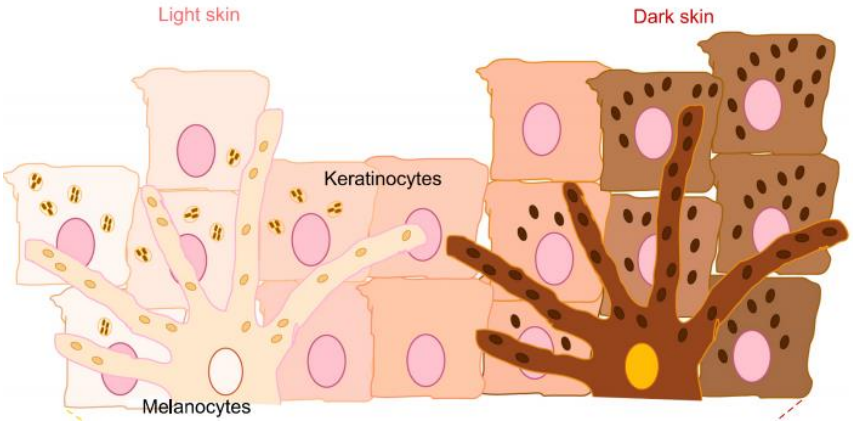
Inúmeros fatores interferem na síntese da melanina, sendo eles de natureza genética e hormonal, sendo também muito importante a ação dos raios UV (61). O aumento da produção de melanina também pode ser induzido por mediadores inflamatórios como por exemplo a histamina que, dentre outras funções, promove a atividade da enzima tirosinase que controla a produção de melanina pela oxidação de fenóis (67, 68).

Durante este processo, denominado como melanogênese, são formados dois tipos de melanina. A eumelanina e a feomelanina. A primeira, é constituída por um grupo de pigmentos de cor acastanhada ou preta, que resultam da polimerização oxidativa de compostos indólicos derivados da DOPA. São característicos de pessoas com a pele mais escura e conferem proteção UV. A segunda, corresponde a um grupo de pigmentos avermelhados ou amarelados. Estão presentes nos indivíduos de pele mais clara e com cabelo ruivo e não conferem proteção ultravioleta. A proporção destes dois tipos de melanina determina a cor natural da pele, assim como o bronzeado produzido pela exposição solar (61, 69).

A maior densidade geral de melanina resulta em pele mais escura. Na pele clara, levemente pigmentada, os melanossomos são menores, estão principalmente nos estádios de maturação I e II, e são transferidos para queratinócitos vizinhos em grupos de organelas. Nos tipos de pele mais escura, os melanossomos são maiores e mais abundantes, se encontram no estádio de maturação IV e são individualmente transferidos para células vizinhas (Figura 5) (70).

A proporção de eumelanina e feomelanina também contribui para as diferenças observadas na pigmentação da pele humana. Indivíduos com melanócitos que produzem mais feomelanina do que eumelanina tendem a ter

uma pele mais clara e mais propensa a formação de bolhas e queimaduras após exposição solar. A pele que tem maior proporção de feomelanina também produz mais espécies reativas de oxigênio, o que pode acelerar a carcinogênese, em comparação com a pele que produz eumelanina (71 -74).



Legenda: *Dark skin* = Pele escura; *Keratinocytes* = Queratinócitos; *Light skin* = Pele clara; *Melanocytes* = Melanócitos

Figura 5. Tipos de pigmentação de pele (70)

1.3.2.3 Distúrbios pigmentares

Apesar da pigmentação da pele estar principalmente relacionada à função dos melanócitos, os queratinócitos circundantes, as proteínas da matriz extracelular e os fibroblastos também contribuem ativamente para a homeostase. Muitos fatores autócrinos e parácrinos secretados, além de mecanismos de adesão celular em constituintes dérmicos e epidérmicos determinam a pigmentação cutânea e, sempre que desregulados, favorecem a ocorrência de distúrbios pigmentares (70).

O aumento da expressão de tais mediadores químicos e seus receptores específicos frequentemente induz discromias, como o melasma. Em contrapartida, um defeito em sua expressão ou liberação está relacionado com hiprocromias, como o que é visto no vitiligo (70).

Melasma, efélide (vulgarmente conhecidas como sardas), lentigo, hiperpigmentação do xeroderma pigmentoso, hiperpigmentação periorbital,

dermatite de contato pigmentada, ocronose, acantose nigricans, e hiperpigmentação pós-inflamatória são alguns exemplos de hiperpigmentação frequentemente observados na prática clínica de desordens pigmentares (75, 76).

1.3.2.4 Hiperpigmentação cutânea e a polimixina B

Medicamentos são causas comuns de hiperpigmentação cutânea. Na maioria dos pacientes esta reação se resolve lentamente após a suspensão do medicamento, porém há casos nos quais a pigmentação pode persistir por anos. Como exemplo de medicamentos associados à reação de HC pode-se citar a minociclina, um antimicrobiano que faz parte da segunda geração de tetraciclinas que, em função de seu caráter lipofílico, tende a acumular-se na pele, dentes, unhas e mucosas podendo causar diferentes tipos de hiperpigmentação de acordo com o local de pigmentação e o tipo de pigmento produzido (77, 78).

Os medicamentos mais frequentemente relacionados com reações de HC são: tetraciclinas (minociclina), amiodarona, antirretrovirais e antimaláricos. Em contrapartida, temos os antidepressivos, antifúngicos, benzodiazepínicos e contraceptivos orais dentre os potenciais causadores de HC, porém em menor frequência (79). Algumas das principais causas de HC relacionadas com medicamentos são (80 – 85):

- Deposição da droga ou de seu metabólito (ou produto de degradação) na derme e/ou epiderme**;**
- Aumento da produção de melanina, com ou sem aumento do número de melanócitos ativos;
- Alterações pós-inflamatórias na pele, induzidas pelo fármaco (aumento da produção da melanina ou derrame pigmentar para a derme);
- Produção de lipofuscina;
- Alteração da melanina (polimerização/oxidação).

No Quadro 3 estão correlacionados os principais medicamentos indutores de HC, assim como as variações de cor de cada pigmento, as diversas áreas

afetadas do corpo e os possíveis mecanismos de ação pelo qual o escurecimento da pele ocorre.

Quadro 3. Principais medicamentos indutores de HC e os respectivos mecanismos de indução (80-85)

Medicamento	Cor	Áreas afetadas	Mecanismo
Amiodarona	Cinza azulado	Face e áreas expostas ao sol	-Lipidose induzida por fotossensibilidade ao UV, vasculite leucocitoclástica - Deposição de lipofuscina na derme (pigmento castanho-dourado originado de resíduos celulares)
Antimaláricos ex: cloroquina	Preto azulada acinzentada	Face, extremidades, mucosa oral, e unhas	- Tais fármacos se ligam à melanina e as manchas formadas podem conter melanina e hemossiderina - Presença de grânulos de pigmentos intra- e extracelulares na derme (alguns em macrófagos na derme)
Fenitoína	Marrom irregular	Face, pescoço, braços e áreas expostas ao sol	- Aumento das concentrações de melanina
Tetraciclinas ex: minociclina	Preto azulada cinza azulado acastanhado	Face, perna, unha e braço	- Metabólito da droga ligado à membrana (em pele normal) - Grânulos com hemossiderina e ferritina (em pele com inflamação ou trauma prévio)

			- Deposição de melanina em área exposta ao sol
Antiretrovirais	Marrom acastanhado	Face, unhas e palma das mãos	- Aumento de melanossomos em queratinócitos da epiderme - Deposição de melanina na membrana basal da epiderme
Bleomicina	Marrom escuro	Tronco e extremidades	- Os tecidos apresentam uma enzima capaz de hidrolisar e inativar o fármaco - Pele e pulmão apresentam quantidade reduzida dessa enzima

Legenda: UV = Ultravioleta

Além dos medicamentos, outros fatores também podem levar ao desenvolvimento da HC (86), tais como:

- Fatores genéticos que promovem o desenvolvimento prematuro do melanócito;
- Disfunções endócrinas;
- Alteração dos níveis da tirosinase;
- Melanogênese pós-inflamatória;
- Deficiência de vitamina B12;
- Defeitos nos genes da melanina;
- Insuficiência renal.

O mecanismo pelo qual se desenvolve a HC induzida pela polimixina B ainda é desconhecido, entretanto um mecanismo proposto estaria associado à liberação de histamina (69). Em estudo realizado em 2003, Lassalle e colaboradores induziram a melanogênese em culturas de melanócitos humanos por meio da adição de três diferentes substâncias: hormônio estimulador de alfa

– melanócitos, óxido nitroso e histamina a fim de observar qual seria o melhor estímulo para a produção de melanina. Os autores constataram que o aumento mais significativo de produção de melanina foi observado com a adição da histamina (77).

A HC associada ao tratamento intravenoso com polimixina B é uma reação adversa não descrita em bula, com crescente incidência em pacientes tratados, em função do significativo aumento na utilização do fármaco durante os últimos anos.

No entanto, foram encontrados escassos relatos e registros em literatura biomédica que descrevam e/ou estabeleçam uma correlação entre a HC e o tratamento com polimixina B. As publicações disponíveis a este respeito classificam a HC como uma reação nova, cuja a etiopatogenia, a duração e o tratamento ainda são desconhecidos, e salientam que investigações aprofundadas a este respeito se fazem necessárias.

A partir de 2007 passaram a surgir relatos de casos nos quais a HC foi observada tanto em recém-nascidos quanto em adultos em tratamento intravenoso com a polimixina B, tanto em monoterapia quanto em associação com outros antimicrobianos (87 - 90). No entanto, nenhuma correlação entre o desfecho pigmentar e o tratamento antimicrobiano foi, de fato, estabelecida.

Em 2013, Sutiman e colaboradores conduziram um estudo clínico cujo objetivo foi a mensuração da incidência e o registro das reações adversas em pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B. Dentre os resultados verificou-se que 45,0% dos pacientes apresentaram quadro de HC, o qual se manifestou, em média, no 8º dia de tratamento. No que se refere à dosagem utilizada, os autores relatam que a média de doses utilizadas foi de 1.000.000 UI/dia por em média 8 dias (6-14 dias) (91).

Com base nos conhecimentos prévios sobre as propriedades farmacológicas da polimixina B, fica comprovado que o antimicrobiano é capaz de induzir a nefrotoxicidade com necrose tubular aguda devido ao aumento da concentração sérica de creatinina, possivelmente evoluindo para o quadro de insuficiência renal (92).

Manifestações cutâneas, tais como a hiperpigmentação, são frequentemente encontradas em pacientes portadores de insuficiência renal crônica (IRC). Nestes pacientes observa-se que a tonalidade da pele passa a adquirir a coloração marrom em áreas como face, plantas da mão, plantas dos pés e tórax (93). Em estudos com pacientes em diálise, o achado mais frequente foi a alteração na pigmentação de pele, sendo observada em 70,0% dos casos. Esta hiperpigmentação pode ser decorrente da elevação da concentração de melanina nas camadas basal da epiderme, com derrame pigmentar para a camada superficial da derme, devido ao aumento da produção do hormônio estimulador de beta – melanócitos (B-MSH) pela diminuição da função renal (94).

No ano de 2014, Speeckaert e colaboradores observaram altos níveis do B-MSH em pacientes com HC e insuficiência renal. O B-MSH se acumula no organismo devido à queda da depuração (86).

Estudo realizado em 2010 comparou as manifestações dermatológicas observadas em pacientes com distintos estádios de doença renal crônica. Dentre os resultados foi observado que 96,0% dos pacientes apresentaram ao menos uma manifestação dermatológica durante todo o período do estudo. Dentre as manifestações dermatológicas descritas, a xerose foi a mais comum (72,0%), seguida do prurido (36,0%) e infecções cutâneas (29,0%). O estudo concluiu que a frequência de manifestações dermatológicas aumentam proporcionalmente com o aumento da duração e da gravidade da doença renal (95, 96).

A HC relacionada ao uso da polimixina B necessita ser investigada para determinar se a reação pigmentar é decorrente da dose/resposta do paciente, e se há relação com a nefrotoxicidade também desenvolvida em virtude do tratamento com a polimixina B (95, 96).

Há escassa informação sobre a HC decorrente do tratamento com polimixina B. Desta forma, pacientes acometidos pela reação pigmentar cutânea muitas vezes recebem alta hospitalar sem qualquer tipo de esclarecimento sobre o que ocasionou a reação, sem orientação ou instrução de como tratar, se há tratamento para reverter o quadro e até mesmo se tal condição é definitiva ou se há regressão gradual ou total da condição. Ou seja, a HC, cuja manifestação ocorre rapidamente e de forma acentuada, é uma reação adversa da polimixina

B praticamente ignorada pelos profissionais de saúde em âmbito hospitalar vista a falta de dados sobre o assunto.

Importante considerarmos os danos psicológicos ocasionados por tal reação adversa uma vez que, sem informação e perspectiva de melhora do quadro, o convívio social do paciente é afetado de forma considerável. A HC mesmo não sendo relacionada à risco de morte, incapacitação ou prolongamento da hospitalização, deve ser tratada com muita seriedade visto que determina impactos psicológicos relevantes ao paciente e à sua família.

As equipes multiprofissionais que atuam nos cuidados de pacientes em uso intravenoso de polimixina B devem ser orientadas quanto à possibilidade de desenvolvimento da HC e estarem atentas. O reconhecimento precoce da reação, a verificação de possíveis fatores associados a ela, assim como o registro de dados que venham a, de alguma forma, cooperar na elucidação da sua etiologia e fisiopatologia são fundamentais para a busca de alternativas terapêuticas.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar as reações adversas (hiperpigmentação cutânea e nefrotoxicidade) e os desfechos clínicos apresentados por pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC/UNICAMP).

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar e quantificar as reações adversas à polimixina B (especificamente a hiperpigmentação cutânea e a nefrotoxicidade);
- Conhecer a incidência, a etiopatogenia e o mecanismo de ação pelo qual a hiperpigmentação cutânea se manifesta em pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B;
- Avaliar os possíveis fatores de risco associados à hiperpigmentação cutânea;
- Estudar a possível relação entre a hiperpigmentação cutânea e nefrotoxicidade observadas em pacientes em tratamento com polimixina B;
- Avaliar os desfechos clinicos e a evolução clínica dos pacientes em tratamento com polimixina B.

3.0 MÉTODOS

3.1. Local do Estudo

O Hospital de Clínicas da Universidade de Campinas (HC/UNICAMP) é considerado um hospital de grande porte, alta complexidade e todos os atendimentos são integralmente cobertos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O HC/UNICAMP conta com 400 leitos ativos, 38 enfermarias, 17 departamentos médicos, 22 unidades de procedimentos especializados, 16 salas cirúrgicas gerais, 8 salas cirúrgicas ambulatoriais, 8 serviços de laboratório e 5 serviços de diagnóstico. O HC/UNICAMP é uma unidade integradora da rede estadual cuja missão é oferecer assistência voltada a procedimentos de alta complexidade e de ações estratégicas.

3.2 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo e longitudinal em que os pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B foram acompanhados intensivamente e os seus dados foram coletados progressivamente.

3.3 Amostra

Por meio de consulta ao Sistema Informático de Dispensação de Medicamentos utilizado pela Farmácia Central do HC/UNICAMP, foi possível obter a média semanal de pacientes que iniciam tratamento antimicrobiano com polimixina B. Constatou-se média semanal de 6 novos tratamentos com polimixina B, desta forma, 24 pacientes em um mês e 288 em um ano. Este valor foi considerado como um tamanho amostral adequado e suficiente para o desenvolvimento da pesquisa.

Em maio de 2015, foi dado início a um estudo piloto de 6 meses, cujos dados serviram de base para o cálculo estatístico da amostragem necessária para o estudo na integra

3.3.1 Cálculo amostral para o desfecho hiperpigmentação cutânea

Os resultados preliminares, referentes aos 6 meses iniciais do estudo, foram tratados por métodos estatísticos, para se estabelecer um montante mínimo de pacientes a serem incluídos no estudo. Estes cálculos foram necessários pois não havia dados disponíveis na literatura que fornecessem base para a definição do tamanho amostral.

No período entre maio e outubro de 2015 foram incluídos 130 pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B, e a HC foi observada em 12 pacientes (9,0% da população total do estudo). Com base nestes valores, o tamanho amostral calculado (a considerar erro amostral de 0,04 e nível de significância de 0,05), foi de 196 pacientes (97).

Procedeu-se então à busca no Sistema de Dispensação de Medicamentos do HC-UNICAMP por pacientes iniciando o tratamento com polimixina B. A inclusão dos pacientes foi feita de forma consecutiva até atingir o número mínimo de 196.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo pacientes de ambos os sexos, sem restrição de idade, com prescrição médica de tratamento intravenoso com a polimixina B. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi um dos critérios imprescindíveis para a inclusão do paciente no estudo. O TCLE foi devidamente lido e explicado a cada paciente o qual voluntariamente concordou em participar do estudo. No caso de pacientes impossibilitados de responder por sua participação, o TCLE foi igualmente lido e explicado em sua totalidade para o seu responsável legal. Somente após a assinatura do TCLE, foram iniciadas as visitas beira-leito com monitoramento contínuo dos pacientes até o término do tratamento intravenoso com polimixina B.

Foram excluídos os pacientes com prescrição de tratamento com polimixina B por um período menor do que 72h.

3.5 Coleta de dados em prontuários médicos

Foi realizada a análise dos prontuários médicos e acompanhamento dos pacientes em tratamento com polimixina B, buscando obter as seguintes informações:

- Sexo;
- Idade (em anos completos);
- Dia da internação hospitalar;
- Diagnóstico da infecção;
- Histórico de doenças crônicas e/ou concomitantes;
- Manifestação de reações adversas;
- Uso prévio de antimicrobianos (até 10 dias anteriores ao diagnóstico da infecção);
- Posologia utilizada da polimixina B para o tratamento da infecção, com dose, via de administração, além das datas de início e término;
- Uso concomitante de outros medicamentos, com sua posologia especificada.

A identificação dos microrganismos e os testes de sensibilidade foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Clínica do HC-UNICAMP, de acordo com a metodologia e procedimentos estabelecidos pelo próprio setor.

3.6 Avaliação dos desfechos clínicos

Foram avaliados os seguintes desfechos clínicos decorrentes do tratamento intravenoso com polimixina B:

- Evolução Clínica, classificada como:

- Cura: resolução dos sinais e sintomas e obtenção de culturas negativas após o (s) ciclo (s) de tratamento com a polimixina B;

- Resposta Indeterminada: alteração do esquema terapêutico antimicrobiano até 72 horas após o início do tratamento ou ausência de exames de culturas microbiológicas impossibilitando a avaliação da eficácia terapêutica;

- Falha Clínica: persistência dos sinais e sintomas, e/ou substituição da polimixina B por outro antimicrobiano em função de resistência bacteriana intrínseca ou adquirida, e/ou isolamento do mesmo agente patológico até10 dias após o término do tratamento.

- Óbito: duas classificações distintas:

- Mortalidade durante o tratamento: morte registrada antes mesmo do final do (s) ciclo (s) de tratamento com polimixina B; cuja causa estava provavelmente associada com o quadro infeccioso.

- Mortalidade em 30 dias: morte registrada em até 30 dias após o início do tratamento, não necessariamente associada ao quadro infeccioso, podendo estar relacionada às outras comorbidades apresentadas pelo paciente.

- Tratamento Empírico Inadequado: casos para os quais a polimixina B foi prescrita de forma empírica e, após a obtenção dos resultados das culturas microbiológicas, não foi isolado nenhum agente patológico (culturas negativas).

3.7 Caracterização da nefrotoxicidade

A análise inicial da função renal da população do estudo foi baseada na TFG em função da concentração sérica de creatinina referente ao dia anterior ao início da terapia antimicrobiana com polimixina B. Por meio da calculadora

eletrônica *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Calculator* (98) foi aplicada a equação CKD-EPI para o cálculo da TFG (49).

Em um segundo momento, as TFGs dos pacientes foram classificadas segundo o proposto por Magacho *et al.,* (99) que subdivide os estádios de função renal entre 1 e 5 (onde o estádio 1 corresponde aos pacientes com taxas de filtração glomerular acima de 90 mL/min, e o estádio 5 corresponde as taxas inferiores a 15 mL/min) (Anexo 2).

Após a classificação inicial, a função renal foi avaliada pelo monitoramento dos níveis da concentração sérica de creatinina. Foi então utilizado o critério KDIGO (Tabela 1) para a classificação da LRA visto que tal critério é bastante análogo à classificação RIFLE e AKIN, no entanto fornece uma boa correlação com outras eventuais comorbidades apresentadas pelos pacientes, tais como doenças cardiovasculares (100).

Ambas as classificações são fundamentadas em critérios baseados no fluxo urinário e na concentração sérica de creatinina, e utilizadas para identificação do estádio de comprometimento da função renal.

Tabela 1. Estadiamento da LRA pelo critério KDIGO (100)

Estádio	Concentração sérica de creatinina
1	1,5 – 1,9 x valor basal ou aumento de ≥0,3mg/dl (≥ 26µmol/l)
2	2,0-2,9 x valor basal
3	3,0 x valor basal ou aumento de ≥4,0mg/dl (≥ 353,6µmol/l) ou início de tratamento de diálise renal ou em pacientes < 18 anos, redução da TFG < 35ml/mim por 1,73m^2

Legenda:TFG= Taxa de filtração glomerular

Foram considerados com LRA os pacientes com aumento a partir de 0,3 mg/dL sobre o valor basal da concentração sérica de creatinina no dia que antecedeu o início do tratamento com a polimixina B. Foi adotado apenas o critério creatinina para estratificação dos pacientes por considerar-se o fluxo urinário uma variável dinâmica e que sofre influência de um grande número de fatores clínicos.

3.7.1 Pacientes elegíveis para avaliação da nefrotoxicidade

Pacientes em tratamento dialítico antes e/ou durante o tratamento com a polimixina B não foram avaliados com relação a nefrotoxicidade do fármaco, já que a taxa da concentração sérica de creatinina é reajustada e corrigida pelo procedimento dialítico, dificultando o monitoramento da função renal.

Neste sentido, os pacientes elegíveis para a avaliação da função renal foram somente aqueles que não necessitaram de hemodiálise.

3.8 Caracterização da reação de hiperpigmentação cutânea

O acompanhamento contínuo dos pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B possibilitou a identificação precoce da alteração da tonalidade da cor da pele. A pesquisadora avaliou, de forma metódica e regular, o surgimento, a progressão do quadro, e os possíveis fatores associados a ele.

Para pacientes acometidos com a HC foi realizado o registro das seguintes informações:

- Local de início da hiperpigmentação (primeiros indícios da manifestação da reação pigmentar)
- Áreas afetadas (face, membros superiores, tronco, membros inferiores, etc);
- Sequência temporal entre início do tratamento e a manifestação dos sinais;
- Tipo de luz incidente no paciente (luz solar, luz artificial, direta ou indireta);

- Posologia pormenorizada do tratamento com polimixina B;
- Registro e avaliação de toda a prescrição médica;
- Toda e qualquer narrativa feita pelo paciente acerca de suas percepções sobre a HC, e do tratamento com a polimixina B em geral.

3.8.1 Registro fotográfico e escala colorimétrica

A classificação e avaliação da progressão da HC foram conduzidas com o auxílio de instrumentos de mensuração visual. Foi obtida documentação fotográfica da face, tronco e membros superiores. As imagens foram captadas sempre com a mesma câmera, sempre no mesmo modo de captura

A tonalidade da pele dos pacientes no decorrer do tratamento foi estimada pela escala de classificação Felix von Luschan. Este método visa classificar as cores da pele e consiste de 36 ladrilhos de vidro fosco com escalas diferentes, que são comparadas com a cor da pele nas áreas não afetadas (Figura 6) (101).

Visando padronizar o grau de concordância entre as observações, reduzir a variabilidade dos resultados e o erro intra- e inter observador, e minimizar possíveis tendências, as leituras de um mesmo paciente foram realizadas por 3 diferentes observadores (investigadora principal, um médico dermatologista e uma médica patologista clínica) e os valores foram então registrados em consenso.

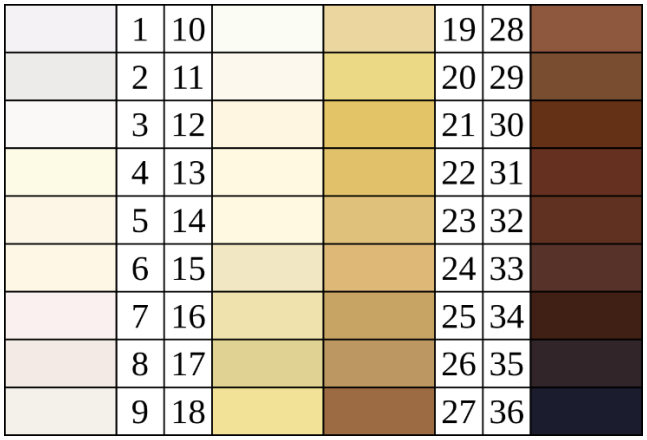


Figura 6. Escala colorimétrica de Felix von Luschan (101)

Para a classificação do tipo de pele de cada paciente, foi utilizada uma correlação entre a escala de Felix von Luschan (escore indicado entre parênteses), com a escala de fototipos de Fitzpatrick conforme descrito a seguir (102):

- Fototipo I (escore 1-6)
- Fototipo II (escore 7 -13)
- Fototipo III (escore 14-20)
- Fototipo IV (escore 21-27)
- Fototipo V (escore 28-34)
- Fototipo VI (escore 35-36)

Foram considerados caucasianos os pacientes com cor de pele classificada entre 1 a 20, de acordo com a tabela de Fitzpatrick e os demais receberam a classificação de malanodérmicos (escore entre 21 e 36) (102).

3.8.2. Dermatoscopia

A dermatoscopia consiste de uma técnica *in vivo*, não invasiva, para o estudo da pigmentação da epiderme e derme, superior à avaliação a olho nu. Ela é realizada por meio de um aparelho conhecido como dermatoscópio, desenvolvido para diagnóstico precoce das alterações da pigmentação de lesões cutâneas. Emprega-se uma lupa que amplia 10 vezes as estruturas selecionadas, o que facilita exames visuais muito precisos.

Um médico dermatologista da instituição, com grande experiência na técnica, capturou as imagens tanto das áreas afetadas pela hiperpigmentação quanto da pele adjacente não comprometida, para avaliar as diferenças.

3.8.3 Mensuração da melanina - Dermacatch®

Também foi empregada outra ferramenta para mensurar, de forma objetiva, as alterações na quantidade de melanina da pele dos pacientes, o colorímetro Dermacatch®.

O Dermacatch® (produzido por Colourix, Neuchatel, na Suíça) é uma técnica não invasiva, que utiliza a refletância do espectro visível, quantificando a melanina de forma precisa, além de permitir a distinção entre melanina e eritema. O espectro visível de refletância do colorímetro é feito de um diodo emissor no espectro visível total. O fotodetector mede globalmente luz a refletida para calcular eritema, bem como valores de melanina. A área medida cobre um disco de 5,5 mm de diâmetro, ou seja, 24 mm^2 (103).

Os resultados fornecidos por este equipamento não são afetados pela luminosidade ou temperatura local. Para realização de tal mensuração, basta posicionar o colorímetro sobre a pele do paciente, sendo então uma técnica não invasiva. A análise foi feita tanto na face quanto em outras partes do corpo do paciente como ombro e tórax – regiões não usualmente afetadas pela reação pigmentar em estudo, sendo utilizadas como controle.

3.8.4 Biópsia de pele

Para um melhor delineamento das alterações histológicas atreladas à HC decorrente do uso intravenoso a polimixina B, foram coletadas biópsias da pele comprimetida e da pele sã, dos pacientes que apresentaram a reação pigmentar.

O procedimento foi realizado por médicos dermatologistas vinculados ao serviço, conforme a técnica descrita a seguir:

- Desinfecção da superfície da pele com solução de iodo (tintura de iodo 1% a 2% ou PVPI a 10%), removida com álcool 70% para evitar queimadura ou reação alérgica;

- Aplicação de anestesia local com ou sem vasoconstritor;

- Coleta da amostra por punção cutânea, empregando *punch* de 3 mm a 4 mm de tecido, abrangendo a derme e hipoderme;

- Armazenamento do material em formol tamponado por 12 horas;

- Os espécimes foram processados no Laboratório de Anatomia Patológica do HC/UNICAMP. Os cortes foram corados pelos métodos de rotina hematoxilina

eosina (H&E) e Fontana Masson (FM). Também foram tratados por técnicas de imunoistoquímica com o uso de anticorpos para CD1a e IL-6.

3.9 Análise dos resultados

Os dados coletados no decorrer do projeto foram tabulados em um banco de dados por meio do programa Excel Microsoft Office. A análise descritiva foi apresentada por meio de tabelas de frequências para variáveis categóricas e numéricas.

No que se refere à metodologia estatística, foi realizada análise exploratória de dados por medidas resumo (média, desvio padrão, mínimo, máximo, frequência e porcentagem). A relação da HC com as demais variáveis foi avaliada pelos testes Qui-quadrado, exato de Fisher ou Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% (p <0,05) (104, 105). Tais análises foram realizadas pelo Serviço de Estatística da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

4.0 RESULTADOS

4.1 Resultados Gerais

Os resultados obtidos no presente estudo serão apresentados sobre a forma de artigo científico. Entretanto, no intuito de sumariar os achados do estudo, uma descrição sucinta dos principais resultados é fornecida a seguir.

O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. O *n* mínimo para calculado para este trabalho foi de 196 pacientes, no entanto, foram incluídos 247 pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B os quais evidentemente também cumpriram os demais critérios de inclusão do estudo, e para os quais foram obtidas as assinaturas dos respectivos TCLEs.

Os 247 pacientes incluídos no estudo estavam alocados nas diversas unidades de internação do hospital em tratamento com a polimixina B em função de infecções causadas por bactérias Gram-negativas MRs, ou suspeitas de infecções causadas pelas mesmas. Na tabela 2 estão apresentados os dados epidemiológicos da população do estudo.

Tabela 2. Caracterização epidemiológica da população do estudo

Total de pacientes (n, %)	247 (100,0)
Idade média (± DP) anos	53,7 ± 16,2
Sexo (n, %)	
Homem	156 (63,1)
Mulher	91 (36,8)
Idade (M±DP) (anos)	
Homem	53,9 ± 16,7
Mulher	53,3 ± 15,8
Etnia (n, %)	

Caucasiano	152 (61,5)
Negro	22 (8,9)
Pardo	69 (27,9)
Indígena	3 (1,2)
Asiático	1 (0,4)

Legenda: DP = Desvio Padrão; n = número absoluto de pacientes

4.1.1 Hiperpigmentação cutânea e fatores associados

A HC foi observada em 20 dos 247 pacientes, o que traduz a sua ocorrência em 8,1% da população do estudo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), este percentual permite que a HC seja classificada como “comum” (106). Na Tabela 3 a seguir estão descritas as classificações das reações adversas com seus respectivos percentuais.

Tabela 3. Classificação de reações adversas segundo sua frequência (106)

Classificação	Frequência da Reação
Muito comum	>10,0%
Comum	>1,0% e <10,0%
Incomum	>0,1% e <1,0%
Rara	>0,01% e <0,1%
Muito rara	<0,01%

As principais características dos pacientes que manifestaram (HC+) e não manifestaram (HC-) a reação pigmentar são confrontadas na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação geral entre grupos de pacientes HC+ e HC-

	HC+	HC-	Total
Total de pacientes (n, %)	**20 (8,1)**	**227 (91,9)**	**247 (100,0)**
Idade média (± DP) (anos)	51 ± 15,1	53,9 ± 16,4	53,7 ± 16,2
Duração do tratamento (dias)	9 ± 3	9 ± 4	9 ± 4
Dose diária (milhões UI)	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,2
Sexo (n, %)			
Masculino	15 (9,6)	141 (90,3)	156 (63,2)
Feminino	5 (5,5)	86 (94,5)	91 (36,8)
Etnia (n, %)			
Caucasiano	4 (2,6)	148 (97,4)	152 (61,5)
Pardos	10 (14,5)	59 (85,5)	69 (27,9)
Negros	5 (22,7)	17 (77,3)	22 (8,9)
Indígena	1 (33,3)	2 (66,6)	3 (1,2)
Asiático	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (0,4)
Amostras biológicas (n,%)	**30 (9,0)**	**302 (91,0)**	**332 (100,0)***
Hemocultura	10 (8,1)	113 (91,9)	123 (37,0)
Urocultura	9 (8,2)	100 (91,8)	109 (32,8)
Secreção traqueal	5 (26,3)	14 (73,7)	19 (5,7)
Outros	6 (7,4)	75 (92,6)	81 (24,4)
Patógeno isolado (n,%)			
Acinetobacter baumannii	6 (14,6)	35 (85,4)	41 (12,3)
Klebsiella pneumoniae KPC	8 (12,0)	59 (88,0)	67 (20,2)
Klebsiella pneumoniae ESBL+	2 (15,4)	11 (84,6)	13 (3,9)
Pseudomonas aerugiosa	3 (25,0)	9 (75,0)	12 (3,6)
Pseudomonas aeruginosa não mucoide	3 (10,7)	29 (89,3)	28 (8,4)
Outros **	5 (4,7)	101 (95,3)	106 (31,9)
Amostras negativas***	3 (4,6)	62 (95,4)	65 (19,6)

Legenda: DP = Desvio Padrão; n = número absoluto de pacientes. HC+ = Pacientes com hiperpigmentação cutânea; HC- = pacientes sem hiperpigmentação cutânea; *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase*; Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido; * o número total de amostras biológicas assim como o de patógenos isolados são superiores ao número total de pacientes visto que, por vezes, foram solicitados mais de um exame de cultura microbiológica por paciente; ** Outros = também engloba bactérias Gram-positivas; *** Amostras negativas = nenhum patógeno foi encontrado

Números extraídos das análises do grupo HC+ demostram que o tempo médio para a manifestação da HC foi de 6,7 dias, a média de duração do tratamento destes pacientes foi de 9 dias, com dose média acumulada de polimixina B de 1.665.000UI até o surgimento da reação. Na Tabela 5 a seguir estão apresentados os percentuais de frequência de surgimento da HC em relação aos dias de tratamento com a polimixina B.

Tabela 5. Surgimento da HC em relação aos dias de tratamento com polimixina B

Dia do tratamento	Frequência HC n (%)
4º	5 (25,0)
7º	13 (65,0)
10º	1 (5,0)
13º	1 (5,0)

Legenda: n = número absoluto de pacientes; HC = Hiperpigmentação cutânea

Ao longo dos 15 meses de coleta de dados foram identificados possíveis fatores associados à HC tais como idade, sexo, tipo de luz incidente sobre o paciente (natural ou artificial, direta ou indireta), dose diária, duração do tratamento, etnia e associação com a nefrotoxicidade. Além das constatações clínicas sobre os fatores que poderiam influenciar, reforçar ou antecipar o aparecimento da HC, foram realizadas análises estatísticas considerando a possível atuação de cada um destes fatores nos grupos de pacientes desenvolveram (HC+) e não desenvolveram (HC-) pela reação pigmentar. Na tabela 6 estão elencados os possíveis fatores associados e os respectivos valores de *p* obtidos.

Tabela 6. Possíveis fatores associados ao desenvolvimento da HC

Fator associado	Valor de *p*
Sexo	0,2521
Idade	0,3329
Luz incidente	0,0895
Dose diária administrada	0,5749
Duração do tratamento	0,7128
Etnia	0,0002
Nefrotoxicidade	0,0893

Legenda: Valor de *p* calculado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$)

4.1.1.1 Quantificação da progressão da HC

A progressão da HC foi inicialmente avaliada com o auxílio da escala de Felix von Luschan (101). Sabendo que a avaliação visual poderia apresentar certa subjetividade, e que a distinção entre tonalidades próximas poderia não ser tão evidente, os pacientes foram considerados HC+ apenas a partir da constatação de variação igual ou superior a 2 tons desta escala. Ao comparar a tonalidade da pele da área da face dos pacientes HC+ antes e durante o tratamento, foi observada a variação média de 3,4 ± 1,6 tons da escala. A variação mínima observada foi de 2 tons e a máxima chegou a 8 tons, conforme ilustrado na Tabela 7.

Tabela 7. Frequência da variação da tonalidade de pele dos pacientes HC+ na região da face segundo a escala de Felix von Luschan

Variação da tonalidade	Frequência n (%)
2	5 (25)
3	10 (50)
4	2 (10)
5	1 (5)
7	1 (5)
8	1 (5)

Legenda: n = número absoluto de pacientes

O emprego do colorímetro Dermacatch® evidenciou de forma menos subjetiva as alterações na pigmentares apresentadas pelos pacientes HC+ em função do aumento da melanogênese. Em função de entraves burocráticos relacionados à importação do colorímetro, infelizmente apenas 6 pacientes HC+ puderam ser avaliados com esta tecnologia. As variações dos registros de mensuração de melanina do grupo HC+ estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Registro da mensuração de melanina do grupo HC+

# Paciente		D1	D4	D7	D5 Pós tto	D30 Pós tto	D60 Pós tto	D90 Pós tto	D120 Pós tto
206	Rosto	630	678	690	699	Óbito	-	-	-
	Tronco	612	615	612	600		-	-	-
207	Rosto	651	724	754	770	750	707	679	676
	Tronco	692	698	700	701	687	691	678	681
224	Rosto	742	817	821	807	792	801	Óbito	-
	Tronco	667	684	687	692	687	688		-
231	Rosto	641	722	731	705	661	655	Óbito	-
	Tronco	543	549	553	557	570	562		-
240	Rosto	674	717	742	Óbito	-	-	-	-
	Tronco	644	655	651		-	-	-	-
247	Rosto	712	809	810	Óbito	-	-	-	-
	Tronco	670	676	714		-	-	-	-

4.1.1.2 Análise das prescrições médicas

As prescrições médicas dos 20 pacientes HC+ foram avaliadas no intuito de verificar se outros medicamentos, já conhecidos pela capacidade de induzir alterações pigmentares, estavam sendo administrados concomitantemente à polimixina B pois estes poderiam, de certa forma, interferir no desfecho. Na Tabela 9 estão apresentados os fármacos com potencial efeito na indução de pigmentação cutânea administrados nos pacientes HC+.

Tabela 9. Fármacos potencialmente causadores de HC administrados concomitantemente à polimixina B nos pacientes HC+

Fármaco	Número de pacientes *n* (%)
Antiretroviral + fenitoína	2 (10,0%)
Amiodarona	1 (5,0%)
Fenitoína	3 (15%)

Legenda: n = número absoluto de pacientes

4.1.2 Nefrotoxicidade

A classificação inicial da TFG foi calculada pelo critério de Magacho, e assim foi possível estratificar o nível de comprometimento renal dos pacientes antes do início do tratamento com a polimixina B. Constatou-se que 103 pacientes (41,7%) apresentava TFG dentro dos parâmetros considerados normais, e desta forma, sem nenhum sinal de comprometimento renal. No entanto, o restante dos pacientes (58,3%), já apresentavam algum tipo de deficiência na TFG mesmo antes do início do tratamento em avaliação. Neste sentido, também é importante destacar que 58 pacientes (23,5%) não foram considerados nas análises relacionadas à nefrotoxidade por estarem recebendo hemodiálise prévia ao início do tratamento com a polimixina B. E assim, apenas 189 pacientes (76,5%) foram considerados elegíveis para avaliação da função renal.

A nefrotoxicidade foi registrada em 100 pacientes (40,5%) os quais foram classificados entre os estádios 1, 2 e 3 do critério KDIGO. Os valores referentes ao estadiamento segundo os critérios de Magacho e KDIGO estão representados na Tabela 10.

Observou-se que 89 pacientes (36,0%) apresentaram discreto aumento dos níveis da concentração sérica de creatinina (menos de 0,3 mg /dl), o que

não foi suficiente para a classificação de acordo com critério KDIGO. Trinta e seis pacientes (15,0%) iniciaram a terapia de substituição renal após o tratamento com polimixina B intravenosa.

Tabela 10. Níveis de comprometimento renal de acordo com os critérios de Magacho e KDIGO (99, 100)

Critério Magacho	Classificação TFG inicial (*n*, %)	Aumento Cr sérica ≤0,3mg/dl (*n*)	Estádio 1 KDIGO (*n*)	Estádio 2 KDIGO (*n*)	Estádio 3 KDIGO (*n*)	Início de hemodiálise (*n*)
1	103 (41,7)	61	13	8	9	13
2	27 (10,9)	10	9	2	2	3
3A	15 (6,1)	3	3	3	1	3
3B	24 (9,7)	6	5	0	0	10
4	39 (15,8)	6	6	0	1	5
5	39 (15,8)	3	0	0	2	2
Total	247	89	36	13	15	36

Legenda: n= número absoluto de pacientes; TFG = Taxa de filtração glomerular; Cr = Creatinina

4.2. Artigos Científicos

Os artigos aqui mencionados foram publicados em revistas científicas as quais o acesso ao conteúdo é limitado. Desta forma, a fim de atender às exigências legais das revistas listadas abaixo, os artigos provenientes dos achados deste estudo não puderam estar livremente disponibilizados neste documento.

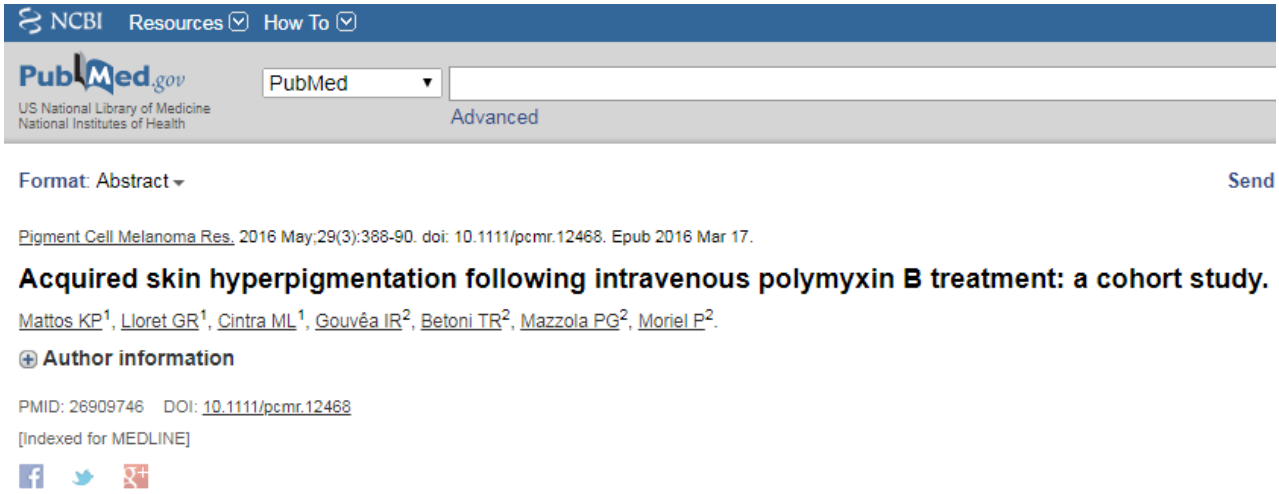
4.2.1 Artigo 1

"Acquired skin hyperpigmentation following intravenous polymyxin B treatment: a cohort study"

Pigment Cell & Melanoma Research – Fator de Impacto 5,17

2016 May;29(3):388-90. doi: 10.1111/pcmr.12468

Artigo com 5 citações



4.2.2 Artigo 2

“Skin hyperpigmentation following intravenous polymyxin B treatment associated with melanocyte activation and inflammatory process”

Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics – Fator de Impacto 1,67

2017/Out;42(5):573-578. doi: 10.1111/jcpt.12543

Artigo com 2 citações

Received: 3 March 2017 | Accepted: 3 April 2017
DOI: 10.1111/jcpt.12543

ORIGINAL ARTICLE

WILEY Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics

Skin hyperpigmentation following intravenous polymyxin B treatment associated with melanocyte activation and inflammatory process

K. P. H. Mattos MSc[1] | M. L. Cintra MD[1] | I. R. Gouvêa BPharm[2] | L. Á. Ferreira MSc[3] | P. E. N. F. Velho MD[1,3] | P. Moriel PharmD[1,2]

[1]Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, SP, Brazil
[2]Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Campinas, Campinas, SP, Brazil
[3]Dermatoscopy and melanoma Department of the Clinical Hospital of University of Campinas, Sao Paulo, SP, Brazil

Correspondence
K. P. H. Mattos, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, SP, Brazil.
Email: kakaherzer@gmail.com

Funding information
This work was supported by CAPES—Coordenação e Aperfeiçoamento Pessoal de Nivel Superior

Summary

What is known and objective: Polymyxins were widely used until the 1960s; however, they fell into disfavour owing to their toxicity. The subsequent growth of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria has led to renewed use of this class of antimicrobials in clinical practice. Acquired skin hyperpigmentation (SH) following intravenous polymyxin B treatment has been previously reported, but little is known about its pathogenesis, clinical course and treatment. To improve understanding of these issues, we conducted a prospective study of adult patients receiving intravenous polymyxin B treatment.

Methods: Patients receiving intravenous polymyxin B treatment were followed throughout the course of treatment. Clinical, dermatoscopic, histologic and immunohistochemical skin properties of patients who presented with SH were studied.

Results and discussion: Skin hyperpigmentation was noted in 8% of patients (n=20/249); however, clinical, dermatoscopic, histologic and immunohistochemical examinations were performed only in three patients for whom the consent of relatives was obtained. Histologic and immunohistochemical findings showed an abundant melanocyte-pigmented dendritic network. Langerhans cells' hyperplasia and dermal IL-6 overexpression were also found, presumably for an inflammatory process due to polymyxin B use. As polymyxin B causes the release of histamine, which is known for its melanogenic effect, it is possible that skin darkening is associated with this inflammatory mediator.

What is new: These clinical and dermatoscopic findings contribute to a better understanding of how the pigmentary reaction manifests following intravenous polymyxin B treatment.

Conclusion: We concluded that hyperpigmentation due to intravenous polymyxin B treatment is associated with an inflammatory process and subsequent melanocyte activation. Although the pigmentary disorder neither influences the outcome of the therapy nor warrants discontinuation of treatment, it nevertheless considerably affects the patient's quality of life.

KEYWORDS
immunohistochemistry, pathology, polymyxin B, side effects, skin hyperpigmentation

 © 2017 John Wiley & Sons Ltd

4.2.3. Artigo 3

“Pharmacotherapy assessment of patients with isolation precautions at a University Hospital”

American Journal of Medical Quality – Fator de Impacto 1,67

2018 Mai/Jun;33(3):334-335. doi: 10.1177/1062860617719495

4.2.4. Artigo 4.

“Polymyxin B clinical outcomes: A prospective study of patients undergoing intravenous treatment”

Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics – Fator de Impacto 1,67

2018/ Dec doi:10.1111/jcpt.12801

Received: 26 September 2018 | Revised: 11 December 2018 | Accepted: 24 December 2018

DOI: 10.1111/jcpt.12801

ORIGINAL ARTICLE

WILEY Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics

Polymyxin B clinical outcomes: A prospective study of patients undergoing intravenous treatment

Karen P. H Mattos PhD[1] | Isabela R. Gouvêa BPharm[2] | Júlia C. F. Quintanilha MSc[1] | Maria A. Cursino MSc[1] | Pedro E. N. S. Vasconcelos MSc[1] | Patricia Moriel PhD[1,2]

5.0 DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo elencou dentre os seus objetivos a avaliação das reações adversas e dos desfechos clínicos apresentados por pacientes em tratamento intravenoso com polimixina B. Além disso, foram estabelecidos objetivos específicos referentes à descrição da incidência, da etiopatogenia e do mecanismo de ação pelo qual tais reações adversas em estudo se manifestam, e uma possível correlação entre elas.

A HC chama a atenção pela sua rápida manifestação e difusão por toda a área de face, incluindo orelhas e pescoço. Nos 20 pacientes HC+ (8,0% da população do estudo), o escurecimento castanho e difuso em toda a área de cabeça e pescoço teve início em média no 3º dia de tratamento com a polimixina B, tornando-se completamente evidente no 7º dia.

A OMS define reação adversa a medicamento (RAM) como “qualquer resposta prejudicial ou indesejável e não intencional que ocorre com medicamentos em doses normalmente utilizadas no homem para profilaxia, diagnóstico, tratamento de doença ou para modificação de funções fisiológicas”. Não são consideradas reações adversas os efeitos que ocorrem depois do uso acidental ou intencional de doses maiores que as habituais (toxicidade absoluta). RAM também pode ser entendida como reação nociva e desagradável, resultante de intervenção relacionada ao uso de um medicamento, cuja identificação permite prever riscos de futura administração, bem como assegurar a prevenção e tratamento específico a uma determinada condição (107-109).

Neste contexto, a HC decorrente do tratamento intravenoso com a polimixina B enquadra-se nas definições da OMS para RAM, uma vez que sua manifestação se dá em dose terapêuticas utilizadas para o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas. Além disso, essa reação não intencional é também considerada tanto descortês para com os pacientes que a desenvolvem, visto o seu grande impacto na qualidade de vida dos mesmos.

Em paralelo, e em igual congruência com as definições da OMS referentes às frequências das RAMs, a ocorrência da HC em 8,0% da população do estudo permite que a reação pigmentar seja então classificada como “comum” (106). Entretanto, mesmo após as notificações feitas junto a Rede Sentinela da Agência

Nacional de Saúde (ANVISA), e o crescente número de publicações e relatos de casos sobre da HC, nenhuma informação a este respeito é fornecida na bula do medicamento.

Importante ressaltar as diferenças observadas entre a HC e outra RAM da polimixina B conhecida como "*flushing",* que se traduz como rubor ou vermelhidão da pele. A diferenciação é simples uma vez que, o flushing se manifesta como uma vermelhidão cutânea principalmente na área das bochechas, também estendida para as áreas do pescoço e tronco (110).

Para além de todos os questionamentos acerca da, até então desconhecida reação pigmentar, houve ponto em especial que despertou imensa curiosidade e indagação. Foi o fato de que as áreas do tronco e membros superiores, igualmente expostos à luz, terem sido poupadas e a tonalidade da pele destas regiões não apresentou qualquer tipo de alteração. Segundo Ackerman *et al.* 2005, a densidade de melanócitos no rosto é maior do que o dobro em relação ao tronco. São 2.900 por mm^2 e 1.250 por mm^2 no rosto e tronco respectivamente (111).

Neste sentido, verificou-se que os genitais também possuem alta densidade de melanócitos similar à área da face (112). Um único paciente HC + foi analisado, e o escurecimento da área pubiana também foi verificado. No entanto, por questões éticas e também relacionados à viabilidade do projeto, a análise da região dos genitais não entrou no escopo do estudo.

Outro dado que nos auxilia na compreensão da distribuição não uniforme da HC é a quantidade elevada de células sebáceas e nervos na área da face. Na face estão presentes entre 400 a 900 células por cm^2 (113, 114). Os resultados de alguns estudos mostram que há uma complexa interação entre células epiteliais e dérmicas com os melanócitos. Pode-se aventar a possibilidade de que alterações induzidas pela polimixina B nas células sebáceas induziriam a expressão de fatores pró-melanogênicos e hiperatividade dos melanocitos. A presença de terminações nervosas na epiderme pode indicar um contato íntimo entre melanócitos e proteínas neurais específicas, eventualmente atuando na indução de melanogênese (70).

Fatores possivelmente associados com o desenvolvimento HC foram avaliados tais como: idade, sexo, tipo de luz incidente sobre o paciente (natural ou artificial, direta ou indireta), dose e duração do tratamento, interação da polimixina B com outros medicamentos, local da infecção e bactéria causadora da infecção.

Verificou-se que a HC foi manifestada em maior quantidade em indivíduos do sexo masculino em relação ao sexo feminino. Essa diferença, no entanto, não foi estatisticamente significativa (p=0,2521), indicando que o sexo não é um fator associado ao aparecimento da reação pigmentar.

A duração do tratamento de ambos os grupos (HC+ e HC-) foi semelhante, não apresentando diferença significativa segundo análise estatística (p=0,7128). O mesmo se verificou com relação a dose diária administrada (p=0,5749) e a idade dos pacientes (p=0,3329). Desta forma, torna-se bastante improvável a influência destes fatores sobre a manifestação da HC.

Sugere-se então que a reação pigmentar não apresenta correlação com a dose administrada do medicamento (não sendo dose-dependente), tão pouco com o tempo de exposição ao medicamento. No sentido de melhor exemplificar tal hipótese, pode-se citar o caso de um paciente caucasiano submetido ao tratamento com a polimixina B durante 17 dias, com dose diária de 2.000.000 UI, o qual não apresentou nenhum tipo alteração pigmentar cutânea. Entretanto, em um outro caso de um paciente pardo, em tratamento com dose diária de 1.500.000 UI durante 6 dias, a HC foi bastante evidente na região da face.

Neste sentido, com relação à etnia observou-se que, dentre os 152 pacientes classificados como caucasianos, apenas 4 (2,6%) desenvolveram HC. Em contrapartida, 10 dentre os 69 pacientes pardos manifestaram a hiperpigmentação (14,5%) e, dentre os 22 pacientes classificados como negros, 5 apresentaram a reação (22,7%). Foi então constatado que os pacientes melanodérmicos (fototipos entre IV e VI) apresentaram maior probabilidade de manifestar a HC, inclusive com comprovação dos cálculos estatísticos realizados (p=0,0002).

Sabe-se que indivíduos com fototipo de pele mais escuros apresentam melanossomos maiores, mais numerosos e contendo maior quantidade de

pigmentos (115). Sendo assim, tais diferenças poderiam favorecer a ocorrência da reação HC em determinadas etnias.

A possível sinergia com outros fármacos potencialmente capazes de induzir reções cutâneas pigmentares e a polimixina B foi verificada. Ainda que 6 pacientes HC+ (30,0%) tenham sido concomitantemente tratados com medicamentos capazes de induzir alterações pigmentares (antiretrovirais, amiodarona e fenitoína), constatou-se que o perfil de hiperpigmentação observado nos pacientes HC+ do presente estudo foi bastante característico, sendo consideravelmente distinto do descrito em literatura científica. Sendo assim, considera-se improvável que a HC observada em algum dos 20 pacientes deste estudo tenha ocorrido em função do uso de outro fármaco que não a polimixina B.

Os motivos de internação dos pacientes HC+ foram diversos, tais como câncer de colón, gangrena gasosa em membro inferior, doença autoimune, cirrose hepática, isquemia cerebral, infecções pulmonares e abdominais, entre outros. Desta forma, não foram observadas evidências de que as doenças de base dos pacientes exerceram alguma influência ou tenham predisposto a ocorrência da reação cutânea.

À medida que a HC passou a ser identificada, a necessidade em compreender melhor a natureza do processo, levou-nos a buscar parcerias com as equipes dos Departamentos de Dermatologia e de Anatomia Patológica do HC\UNICAMP.

A técnica de dermatoscopia realizada por médico dermatologista, revelou na área afetada, um padrão acastanhado homogêneo difuso, sem hiperplasia dos melanócitos, sugerindo que a HC é consequência do aumento da produção de melanina e não do número de melanócitos. Adicionalmente, foram observados tons acinzentados nos óstios infundibulares. O tom cinza revela uma pigmentação melânica mais profunda, sob a junção dermo-epidérmica (derrame pigmentar para a derme). O mesmo não foi observado em outras áreas corpóreas avaliadas que não estavam afetadas pela discromia.

Desta forma, a técnica de dermatoscopia permitiu constatar que, de fato, o pigmento produzido em excesso na HC é a melanina, que a hiperpigmentação

homogênea e difusa se dá em função da produção exacerbada do pigmento em camadas mais profundas da epiderme, e que não há aumento do número de melanócitos.

No intuito de aprofundar as investigações sobre a etiopatogenia da HC, foram coletadas biópsias cutâneas, para estudar as eventuais diferenças histológicas entre as áreas da pele hiperpigmentada e as áreas não comprometidas.

A necessidade de obtenção do TCLE foi um fator limitador para a adoção deste procedimento minimamente invasivo, uma vez que, em função da elevada debilidade dos pacientes, o documento deveria ser assinado por seus familiares ou responsáveis legais. No entanto, nem todos os familiares compareciam regularmente ao hospital e/ou estavam de acordo com a realização dos procedimentos. Desta forma, tanto a dermatoscopia quanto a obtenção das biópsias de pele foram realizadas em períodos distintos para cada paciente, em função da data de assinatura do TCLE tendo em vista o cumprimento dos requisitos legais e éticos do estudo. Os procedimentos foram realizados em apenas 3 pacientes HC+. Com relação à epidemiologia destes pacientes, havia uma paciente com 44 anos e dois pacientes com 50 e 56 anos. De acordo com a escala de Felix von Luschan (101) e sua correspondência à escala de Fitzpatrick (102), nos 3 pacientes o fototipo era IV. A HC se manifestou de forma acentuada nos 3 pacientes, mas, na paciente do sexo feminino, foi ainda mais intensa. Inicialmente, foi encontrada coloração 26 na escala de Felix von Luschan, mas, posteriormente, atingiu a coloração 34 e, desta forma, passou do fototipo IV para o fototipo VI. Esta foi a variação mais marcante dentre os 20 pacientes que desenvolveram a HC.

Embora a pele hiperpigmentada não mostrasse sinais de inflamação por inspeção clínica, sob visão microscópica a derme apresentava leve a moderado infiltrado inflamatório perivascular de linfócitos e histiócitos.

Sob as colorações pelo método de FM, as áreas afetadas pela reação, quando comparadas com as áreas não afetadas, mostravam maior conteúdo de melanina no citoplasma dos queratinócitos e melanócitos, inclusive nos seus prolongamentos dendríticos. O derrame de melanina para a derme também foi

observado e não houve evidência de melanócitos hiperplásicos. Assim, os resultados histológicos e dermatoscópicos alinhavam-se e complementavam-se. Importante ressaltar que a coloração pela técnica de FM, as áreas não afetadas, também revelou, embora em quantidades significativamente menores, a presença de queratinócitos bem pigmentados, além de um leve derrame pigmentar para a derme. Este achado se justifica pelo fato de todos os 3 pacientes de quem foram coletadas as biópsias cutâneas serem melanodérmicos e, desta forma estes achados já eram esperados (115, 116).

Uma vez encontrado um infiltrado linfoistiocitário na derme das áreas afetadas, análises imunoistoquímicas complementares foram realizadas com alvo em um marcador conhecido pelo seu papel chave na pigmentação melânica (a interleucina 6 [IL-6]) e nas células apresentadoras de antígenos $CD1a^{+}$.

A IL-6 é uma citocina produzida por uma ampla gama de tipos celulares. Dependendo das células- alvo, a IL-6 exerce múltiplas funções, as quais incluem o crescimento e a diferenciação celular, expressão gênica e respostas inflamatórias (117). A avaliação imunoistoquímica da área afetada revelou expressão aumentada de IL-6 nas células inflamatórias e epiteliais, contudo o mesmo não se observou na área não afetada. Desta forma, sugere-se que a síntese de melanina é provavelmente induzida por mediadores inflamatórios (118). Choi e colaboradores demostraram que, além do efeito pró-inflamatório, a IL-6 também atua na inibição da melanogênese (119). Desta forma, pode-se aventar a possibilidade de que a intensa expressão de IL-6, tenha despertado, na epiderme, a modulação da melanogênese pelos melanócitos, que havia sido ativada pela polimixina B. De fato, a expressão de IL-6 foi consideravelmente menor no paciente #3, de quem a biópsia cutânea foi coletada mais tardiamente em relação aos demais.

Na sequência foram analisadas as células de Langerhans (células dendriticas) intra-epidérmicas e dérmicas, por meio do anticorpo anti-CD1-a. A área pigmentada mostrou hiperplasia das células de Langerhans na espessura da epiderme, epitélio infundibular e na derme. Estas células atuam na imunidade antimicrobiana, imunovigilância e patogênese de processos inflamatórios (120, 121). As células de Langerhans processam os antígenos e os apresentam para o reconhecimento das células T (122).

Estudo imunoistoquímico prévio que avaliou pacientes com HC associada ao uso da bleomicina revelou numerosas células $CD1a^{+}$, dando suporte à ideia de que, neste caso, a HC representa um efeito pós –inflamatório (119).

A polimixina B é já conhecidamente um liberador de histamina a qual possui comprovada ação melanogênica (123). É possível que também a histamina tenha desempenhado papel no desenvolvimento da reação inflamatória que culminou na HC. Em humanos a histamina é sintetizada e liberada por basofilos, mastócitos e neurônios. Seus efeitos são mediados pela ativação de 4 receptores (desde H_1 até H_4) que induzem ao desenvolvimento de reações inflamatórias (124). Yoshida e colegas descrevem ação melanogência da histamina nos melanócitos via receptor H_2, aumentando desta forma, a atividade tanto da tirosinase quanto da proteina quinase A. Ambas com papel crítico na melanogênese induzida pela histamina (68).

O acompanhamento da variação da quantidade de melanina presente na pele dos pacientes HC+, foi realizado com o auxílio do colorímetro Dermacatch®. Em função da elevada taxa de óbito registrada dentre a população do estudo, inclusive do grupo HC+, a mensuração da tonalidade da pele com o colorímetro após a finalização do tratamento foi possível em somente 3 pacientes. Desta forma, para o paciente #207 verificou-se os para a região da face os valores 770, 750, 707, 679, e 676, mensurados respectivamente 5, 30, 60, 90 e 120 dias após o tratamento. Para o paciente #224 registrou-se na região da face os valores 807, 792 e 801 mensurados respectivamente 5, 30 e 60 dias após o término do tratamento. E por fim, com relação ao paciente #231, foram detectados na área da face os valores 705, 661 e 655, sendo tais medições realizadas respectivamente 5, 30 e 60 dias após o fim do tratamento intravenoso com a polimixina B. Vale ressaltar que, segundo o fabricante do colorímetro, uma alteração de 10 pontos já pode ser considerada significativa.

Interessante observar que a HC se manifesta de forma rápida (em média 7 dias para o desenvolvimento de pigmentação bastante evidente). No entanto, a sua regressão não acompanha o mesmo padrão. Nos 3 acompanhamentos realizados após o término do tratamento, verificou-se que mesmo 60 dias após o término do tratamento a tonalidade da pele não recuperou o seu aspecto original.

Ainda é controversa a presunção de que, com o cessar do tratamento com a polimixina B, a HC seria revertida, e desta forma a cor original da pele seria recuperada. Em 2016, Zavascki e colaboradores relatam o caso de um paciente do sexo masculino em tratamento intravenoso com polimixina B por 14 dias em função de uma grave pneumonia, o qual desenvolveu HC difusa na região de cabeça e pescoço. Assim como constatado no presente estudo, a tonalidade da pele não foi restaurada ao normal mesmo 3 meses após o término do tratamento (125). Contudo, no ano anterior o mesmo autor descreve o caso de uma paciente do sexo feminino que desenvolveu HC no 5º dia de tratamento com polimixina B para tratar infecção pós-operatória, a qual desenvolveu HC difusa com manchas redondas na parte superior do corpo. Esta paciente apresentou recuperação gradual na visita de 3 meses após o término do tratamento, e a cor da pele foi restaurada completamente após 6 meses do fim do tratamento (126).

Muito ainda pode e deve ser aprofundado a respeito, no entanto, em função dos conhecimentos obtidos até o momento, é possível sugestionar que a HC observada no presente estudo se trata de uma alteração pigmentar difusa, homogênea e verdadeiramente acentuada nas áreas de face e pescoço a qual apresentou ligeiros sinais de regressão mesmo após 60 dias cessado o tratamento.

A respeito dos desfechos clínicos registrados, diversos pontos relevantes podem ser abordados. O sucesso do tratamento com a polimixina B foi obtido em 25,0% da população estudada, percentual este que ficou muito aquém do esperado. É importante observar, no entanto, que a falha do tratamento antimicrobiano pode ocorrer mesmo com tratamentos antimicrobianos adequados, e que existem outras causas, não infecciosas, além de fatores predisponentes que contribuem para o não-sucesso do tratamento, particularmente em doentes graves (127). Sugere-se que a provável razão para o baixo índice de sucesso do tratamento obtido no presente estudo esteja relacionada com o elevado número de prescrições empíricas (98,0 % dos casos).

Em função do crescente número de casos de infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes, nomeadamente a *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenamase (KPC) e, considerando que os resultados microbiológicos não estão disponíveis antes de 48 horas, no presente estudo a

terapia com a polimixina B foi predominantemente empírica, sendo guiada pela sintomatologia clínica.

No intuito de controlar de forma rápida a disseminação de um possível surto destas super-bactérias, a prescrição empírica da polimixina B tornou-se demasiadamente comum nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) e demais unidades de internação do hosptital com registros de tais patógenos. Calcula-se que 98,0% dos tratamentos com polimixina B deste estudo foram iniciados empiricamente uma vez que, a prática de utilização de swab anal para pesquisa de KPC no HC\UNICAMP foi iniciada já no fim do período de coleta de dados (segundo semestre de 2016). Tal medida tem por finalidade fornecer a identificação rápida de infecções por KPC. No entanto, o cálculo das concentrações minimas inibitórias (CMIs) ainda não é uma prática na instituição também em função das inúmeras dificuldades de se estabelecer uma metologia padrão-ouro para tal quantificação.

Considerou-se que o tratamento empírico foi prescrito inadequadamente para 65 pacientes (26,3%). Isso porquê, nenhum destes pacientes apresentou resultado positivo para suas culturas microbiológicas. A duração média e a posologia destes tratamentos empíricos foi de 9 dias e 1.650.000 UI, respectivamente. Isso significa que, 65 pacientes receberam tratamento intravenoso com polimixina B por mais de uma semana e nenhuma bactéria foi isolada em suas amostras biológicas. Entre eles, 3 pacientes desenvolveram HC, e outros 3 apresentaram comprometimento renal grave e iniciaram tratamento de diálise renal. Nenhuma morte foi registrada, entretanto, as reações adversas poderiam ter sido evitadas, uma vez que a prescrição de polimixina B foi posteriormente considerada desnecessária para aproximadamente um quarto da população do estudo.

O que ocorreu nestes casos foram tratamentos antimicrobianos empíricos prolongados sem evidência clara de infecção baseados apenas na sintomatologia clínica. Muitas doenças não infecciosas, inflamatórias, ou até mesmo síndromes neoplásicas podem apresentar sintomas e sinais que imitam doenças infeciosas. Exemplos incluem doenças ou distúrbios do tecido conjuntivo que podem apresentar febre alta; febre induzida por fármacos; febre associada a embolia pulmonar, entre outros (128). Dados publicados sugerem

que em apenas metade das vezes a infecção é a causa da febre no paciente em UTI's (129)

Sendo assim, considerando a elevada toxicidade da polimixina B, o seu uso deve ser evitado sempre que possível, e sua prescrição empírica deve seguir critérios rigorosos como a probabilidade de uma bactéria Gram-negativa MR suscetível apenas à polimixina B próxima a 50,0%, a revisão dos dados de internações prévias do paciente, assim como os resultados de culturas prévias (129 -131).

A terapia empírica apropriada é fundamental para diminuir a mortalidade associada à sepse grave e ao choque séptico (131). Por outro lado, sabe-se que a causa mais comum de falha do tratamento antimicrobiano está justamente associada ao tratamento empírico. Isso porquê, a falha do tratamento antimicrobiano empírico é geralmente relacionada à estreita cobertura antimicrobiana (127), o que se traduz como uma cobertura insuficiente dos possíveis agentes patológicos.

Estudos demonstram que uma terapia antimicrobiana inadequada está associada a desfechos negativos incluindo maior morbilidade e mortalidade, bem como um aumento duração da estadia. Portanto, uma abordagem comum é usar agentes antimicrobianos de amplo espectro como terapia empírica inicial e, uma vez disponíveis as informações sobre a cultura e suscetibilidade, um antimicrobiano de menor espectro deve ser selecionado para a continuação da terapia. Muitas vezes, no entanto, isso não ocorre; particularmente se o paciente apresentou melhora com a terapia empírica e os precritores sentem-se então desconfortáveis com a mudança de terapia face a melhora clínica (128, 132, 133).

A mortalidade foi o desfecho clínico com maior prevalência. Aproximadamente um terço da população do estudo (81 casos; [32,8%]), foi a óbito por razões variadas. A bactéria *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase foi a principal causa de infecção na população estudada, e a taxa de mortalidade associada à essas infecções foi a maior em relação aos demais agentes patológicos (18 casos).

Estudos descrevem que a taxa de mortalidade é pelo menos 15,0% maior em pacientes com infecção por *Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii* ou *Pseudomonas aeruginosa* tratados com terapia antimicrobiana empírica inedequada, quando em comparação com a taxa de mortalidade de pacientes tratados com antimicrobianos apropriados. Além disso, também deve ser enfatizado que a modificação de um regime antimicrobiano empírico inicialmente inadequado nem sempre melhora o resultado, provavelmente porque a mudança chega tarde demais para redirecionar o curso da doença (129).

A morte durante o primeiro ciclo de tratamento ocorreu em 22,2% dos casos e a mortalidade em 30 dias após o inicio do tratamento foi registrado em 26 casos (10,5%). Nelson e colaboradores relataram a ocorrência do mesmo desfecho em 37,8% dos casos tratados com polimixina B em um estudo retrospectivo (134), enquanto Rigatto e colegas relataram 42,0% em um estudo prospectivo multicêntrico (135). Essa diferença nos percentuais de incidência de morte também foi apresentada na revisão publicada por Yu e colaboradores, (136) que relatam mortalidade na faixa de 0% a 74,3% em pacientes em tratamento intravenoso com a polimixina B. É difícil determinar a causa da morte de pacientes internados em UTIs devido à co-existência de várias comorbidades. Além disso, o cenário clínico pode ser agravado pelas reações adversas atribuídas ao tratamento com polimixina B, como a nefrotoxicidade.

Não há consenso sobre a definição de falha no tratamento antimicrobiano. Geralmente é baseado em sinais clínicos, embora exames microbiológicos e outros marcadores biológicos às vezes também estejam envolvidos. Os principais fatores de risco associados ao insucesso do tratamento incluem um espectro antimicrobiano inadequado do antimicrobiano prescrito e falta ou controle insuficiente da fonte de infecção (136).

Ismail e colegas conduziram um estudo para determinar os preditores de falha do tratamento em pacientes gravemente doentes tratados com polimixina B, e descobriram que uma menor duração da terapia com polimixina B estava associada à falha do tratamento (137). No presente estudo, a falha do tratamento foi observada em 15 pacientes (6,1%). Nestes casos, notou-se que houve persistência da condição infecciosa com o mesmo agente patológico associado. Esses casos não eram necessariamente aqueles com menor duração da terapia

com polimixina B, mas estavam relacionados à resistência bacteriana à polimixina B. Em 20,0% dos casos (3/15), a bactéria causadora foi *Serratia marcescens,* que é naturalmente resistente à polimixina B. Para estes casos, constatou-se então que a a prática da terapia emprírica levou à prescrição errônea de polimixina B e, por consequência, ao aumento da prevalência de falha no tratamento. Para evitar o insucesso do tratamento antimicrobiano, os médicos geralmente tentam alcançar um equilíbrio entre o risco inerente de um agente de espectro estreito e as consequências indesejáveis associadas a uma ampla cobertura. A cobertura inadequada é provavelmente a principal causa de falha do tratamento antimicrobiano (136).

Aproximadamente 10,0% dos pacientes apresentaram resposta indeterminada ao tratamento. A resposta indeterminada incluiu os casos em que não foi possível avaliar os resultados da terapia com polimixina B devido a não realização de exames de culturas microbiológicas o que inviabiliza o acompanhamento das condições dos pacientes. Esse tipo de prática associada ao tratamento empírico é um dos principais eventos que contribuem para o aumento da resistência antimicrobiana e, consequentemente, da falha do tratamento antimicrobiano.

No decorrer do estudo foi realizada análise das prescrições médicas de 185 pacientes (75,0% da população do estudo) no intuito avaliar as potenciais interações medicamentosas (pIMs) relacionadas às terapias farmacológicas prescritas a cada um dos pacientes. Observou-se que 85,0% dos pacientes tinha em sua prescrição diária mais de 10 medicamentos por dia e, como é evidente, em 100,0% das prescrições médicas avaliadas pelo menos uma pIM foi detectada. Exatamente 560 pIMs associadas a 233 diferentes combinações de fármacos foram identificadas. O fluconazol foi associado ao maior número de pIMs classificadas como contra-indicadas e maiores, tal fato pode ser explicado pela alta frequência de prescrições do antimicrobiano para pacientes com também com infecções por *Candida albicans* (25,0% dos pacientes). Outro ponto relevante é que o fluconazol é um inibidor enzimático do sistema citocromo P450 (CYP450) das isoenzimas CYP2C8, CYP2C19 e CYP3A4, as quais são responsáveis por metabolizar vários medicamentos (138).

A avaliação das prescrições médicas dos pacientes possibilitou verificar que, além da polimixina B, outros antimicrobianos eram prescritos em associação. Aproximadamente 75,0% das prescrições avaliadas continham entre 2 a 4 agentes antimicrobianos prescritos, todos de forma empírica. Assim sendo, o argumento proposto por Granowitz e Brown (139) que combinações antimicrobianas podem reduzir o risco de patógeno desenvolver resistência antimicrobiana é apenas aplicável quando esta utilização é feita de forma embasada e verificada por culturas bacterianas positivas. Caso contrário, o risco de desenvolver resistência bacteriana aumenta significativamente.

Por fim, e não menos importante, avaliamos a nefrotoxicidade a qual é a reação adversa mais comum das polimixinas, com taxas de LRA variando de 20,0% a 60,0%, de acordo com estudos recentes publicados (135). O desenvolvimento de LRA durante o tratamento com polimixina B tem sido associado a um prognóstico ainda pior para pacientes com infecções por bactérias super-resistentes.

Apesar das desvantagens elencadas sobre o emprego dos níveis da concentração sérica de creatinina na avaliação de LRA, no presente estudo este foi o único parâmetro clínico disponível para monitorização da função renal da população do estudo. Outros possíveis biomarcadores precoces de LRA não são rotineiramente solicitados na prática clínica do HC\UNICAMP, a não ser em casos específicos nos quais a equipe da nefrologia esteja atuando, devido ao custo elevado.

Observou-se que 40,5% dos pacientes apresentaram comprometimento grave da função renal, no qual 20,0% foram classificados com uma lesão no estádio 3, e 15,0% iniciaram diálise renal. Esta é uma porcentagem substancial de pacientes com uma perda significativa na qualidade de vida resultante do tratamento com polimixina B.

A nefrotoxicidade é um fator limitante da dose da polimixina. Se a dose de polimixina B for reduzida em face do comprometimento renal agudo, a concentração plasmática de polimixina B diminuirá e potencialmente causará impacto no efeito antimicrobiano (140). Contudo, embora a nefrotoxicidade seja um potencial inconveniente, é geralmente reversível na maioria dos casos (141).

Sendo assim, apesar das avaliações e considerações feitas neste estudo acerca da HC e da nefrotoxicidade associadas ao uso intravenoso da polimixina B, tais RAMs muito provavelmente não serão contrapontos de reflexão para os prescritores frente à necessidade de tratamento de infecções graves.

6.0 CONCLUSÃO

Conclui-se que foi possível avaliar as reações adversas e os desfechos clínicos associados ao tratamento intravenoso com a polimixina B no Hospital de Clínicas da UNICAMP.

O foco principal do estudo recaiu sobre a elevada incidência do desenvolvimento da HC, em pacientes em tratamento intravenoso com a polimixina B, o que permitiu também a avaliação dos fatores de risco a ela associados. Constatou-se a ocorrência da HC em 8,1% da polulação do estudo. Dentre os diversos fatores possivelmente associados, sugere-se que a etnia age como um fator predisponente da reação. Outros fatores como luminosidade, idade, uso concomitante de outros medicamentos, dose e duração do tratamento parecem não influenciar de forma significativa a ocorrência da reação, segundo as análises estatísticas realizadas. O tempo entre o início do tratamento e a manifestação da HC foi, em média, 6,7 dias. A partir da técnica de dermatoscopia em associação com as biópsias dos tecidos hiperpigmentados ficou demostrado que o provável pigmento responsável pela HC é a melanina.

Concluí-se que a HC decorrente do tratamento intravenoso com a polimixina B está associada a um processo inflamatório e subsequente ativação dos melanócitos. Torna-se evidente a necessidade de mais estudos nesta área, visando a elucidação do mecanismo completo pelo qual a HC é desencadeada pela polimixina B. O acompanhamento de um maior número de pacientes HC+ após o tratamento seria importante, para que se comprove a reversibilidade da reação. Embora o distúrbio pigmentar não influencie o resultado da terapia e tão pouco justifique a descontinuação do tratamento, é uma reação que afeta significativamente a qualidade de vida do paciente.

Neste sentido, por tratar-se de um fármaco com elevada toxicidade, a polimixina B deve ser prescrita de forma cautelosa, levando em consideração todas a possíveis complicações clínicas atreladas a ela. Além da HC, a nefrotoxicidade compromete a função renal de mais de metade dos indivíduos tratados, com percentual importante dos pacientes com necessidade de terapia

renal substitutiva. Uma possível relação entre duas reações adversas não se verificou.

A prescrição empírica da polimixima B, muito discutida neste estudo deve ser ao máximo evitada, no intuito de minimizar erros de prescrição e, por consequência, pacientes a desenvolver reações adversas graves que poderiam ter sido evitadas. Protocolos clínicos bem deliniados podem contribuir no intuito de otimizar a terapia tonando-a mais assertiva, e desta forma estabelecer um pardrão de tratamento intravenoso com a polimixina B no qual haja um equilíbrio entre os desfechos atrelados à toxicidade do fármaco, e a evolução clínica almejada.

A baixa taxa de cura verificada neste estudo vai ao encontro com a alta taxa de mortalidade registrada. A este respeito, conclui-se que acompanhamento contínuo dos pacientes e de seus parâmetros clínicos de forma global, é fundamental para que a terapia com a polimixina B obtenha bons resultados, e que estes se sobresaiam em relação aos desfechos negativos.

7.0 ESTÁGIO NO EXTERIOR (MOBILIDADE ACADÊMICA)

Em outubro de 2016 foi iniciado estágio de 10 meses em Portugal financiado pelo Programa de Cooperação e Mobilidade Acadêmica Erasmus Mundus. Este estágio foi realizado no Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa na área de Microbiologia Clínica coordenado pelo Prof. Dr. Miguel Viveiros.

O projeto desenvolvido no período de mobilidade refere-se à epidemiologia molecular e caracterização genética de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemases oriundas de amotras biológicas de pacientes do HC/UNICAMP.

O trabalho desenvolvido teve por objetivo estudar os determinantes de resistência, as relações epidemiológicas moleculares e a atividade de efluxo de cepas de *Klebsiella pneumoniae* com perfil fenotípico de resistência aos carbapenêmicos e à polimixina B.

Foi realizado um estudo retrospectivo com 101 cepas de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de amostras clínicas do HC\UNICAMP armazenadas no Banco de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia Clínica entre os anos de 2012 e 2016. Para isso, foram utilizadas técnicas de investigação nas áreas de microbiologia, biologia molecular e epidemiologia molecular.

Foram realizadas as seguintes análises:

1) Pesquisa de genes de resistência codificantes para a produção de enzimas:

- β-lactamases de resistência às cefalosporinas de 3ª geração:

- ESBL: *bla*CTX-M
- AmpC: *bla*DHA, *bla*ALT, *bla*MIR, *bla*FOX, *bla*MOX e *bla*CIT

- β- lactamases de resistência aos carbapenêmicos (carbapenemases):

- *bla*OXA, *bla*BIC, *bla*NDM, *bla*KPC

- *bla*AIM, *bla*GIM, *bla*SIM, *bla*DIM
- *bla*IMP, *bla*VIM, *bla*SPM

- Gene *mcr* – 1 - resistência às polimixinas

2) Estudo da epidemiologia molecular por Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Para a análise da clonalidade e relação epidemiológica das cepas foi utilizado protocolo de PFGE otimizado pelo Laboratório de Resistência aos Antibióticos e Biocidas da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

3) Atividade de efluxo das cepas pelo Método de Cartwhell

O Método de Cartwhell foi a metodologia foi empregada inicialmente como forma de rastreio dos isolados com atividade diferenciada das bombas de efluxo. Em um segundo momento, e já com um número menor de isolados, a sobrexpressão das bombas de efluxo foi verificada por meio da determinação de CIM do Brometo Etídio (EtBr) por microdiluição.

4) Determinação das CMIs para a Polimixina B

A determinação das CMIs para a polimixina B é um ponto muito relevante do trabalho. A metodologia utilizada para a determinação da CIM da polimixina B foi a microdiluição em placas, com diluições seriadas do fármaco.

5) Sequenciamento completo do genoma

Após análise das informações obtidas a nível de caracterização da epidemiologia molecular, do perfil fenotípico e genótipico das cepas, além da sobreexpressão de bombas de efluxo, foram elencadas cerca de 40,0% das

cepas as quais se destacaram em termos de mecanismos de resistência para o sequenciamento completo do genoma.

6) Elaboração do artigo científico

A estrutura do artigo já foi iniciada no que se refere aos procedimentos já concluídos. Após a finalização de todos os experimentos será realizada a descrição e análise dos resultados, assim como a discussão dos mesmos.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- Piddock L. The crisis of no new antibiotics – What is the way forward? Lancet Infect Dis. 2012;12(3):249-53.

2- Reardon, S. Antibiotic use and resistance rise dramatically. Nature. 2015.

3- Russel H. Principles on Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. Mechanisms of Bacterial Resistance to Microbicides. Wiley-Blackwell. 5a Ed. 2013:108-14.

4- Bhullar K, Waglechener N, Pawlowski A, Koteve K, Banks ED, Johnston M, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. PLoS One. 2012;7(4): e34953.

5- Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. N Engl J Med. 2010;362(19):1804–3.

6- Velkov T, Roberts KD, Thompson PE, Li J. Polymyxins: a new hope in combating Gram –negative superbugs? Future Med Chem. 2016;8(10):1017-25.

7- Garg SK, Singh O, Juneja D, Tyagi N, Khurana AS, Qamra A, et al. Resurgence of polymyxin B for MDR/XDR gram-negative infections: An overview of current evidence. Crit Care Res Pract. 2017;2017.

8- Miglis C, Rhodes NJ, Avedissian SN, Kubin CJ, Yin MT, Nelson BC, et al. Population pharmacokinetics of polymyxin B in acutelly III adults patients. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(3):e01475-17.

9- Rice LB. Emerging issues in the management of infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria. Cleve Clin J Med.2007;74 (4):S12–S20.

10- Kwa AL, Tam VH, Falagas ME. Polymyxins: are view of the current status including recent developments. Ann. Acad. Med. Singapore.2008;37: 870–83.

11- Yuan Z, Tam VH. Polymyxin B: a new strategy for multidrug resistant Gram-negative organisms. Expert Opin. Invest. Drugs.2008;17:661– 8.

12- Theuretzbacher UF, Van Bambeke F, Cantón R, Giske CG, Mouton JW, Nation RL, et al. Reviving old antibiotics. J Antimicrob Chemother. 2015; 70(8):2177–81.

13- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). In: Proceedings of Conference on Reviving Old Antibiotics. Vienna, Austria, 22-24 October 2014. Disponível em: https://www.escmid.org/research_projects/escmid_conferences/past_escmid_conferences/reviving_old_antibiotics/.2014.

14- Gupta SD, Govil D, Kakar PN, Prakash O, Arora D, Das S. Colistin and polymyxin B: A re-emergence. Indian J Crit Care Med. 2009;13(2):49–53.

15- Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: The Prato polymyxin consensus. Lancet Infect Dis. 2015;15(2):225–34.

16- Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2011;66:2070-4.

17- Falagas EM, Kasiakou SK, Collistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clinical Infectious Diseases. 2005;40:1333-41.

18- Girardello R, Gales AC. Resistência às polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções terapêuticas.RECI. 2012;2(2):66-9.

19- Brayfield A (Ed), Martindale: The complete drug reference. London: Pharmaceutical Press. 38th ed. 2014:342-4.

20- Brunton L (Ed), Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill Companies, Inc. 11th ed. 2006.

21- Yu Z, Quin W, Lin J, Fang S, Qiu J. Antibacterial Mechanisms of Polymyxin and Bacterial Resistance. Biomed Res Int. 2015.

22- Heumann D, Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria. Clin Chim Acta. 2002;323(1–2):59–72.

23- Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram- negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). Clin Microbiol Infect. 2006;12(4):315-21.

24- Hermsen ED, Sullivan CJ, Rotschafer JC. Polymyxin: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical applications. Infect Dis Clin North Am. 2003;17(3):545-62.

25- Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gauber M, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012:10(8):917-34.

26- Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: Acquired and intrinsic resistance in bacteria. Front Microbiol. 2014;5(643):1–18.

27- Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev. 2003;67(4):593–656.

28- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Antimicromianos- Bases teóricas e usos clínicos. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/polimixinas.htm.

29- Neiva LBM, Fonseca CD, Watanabe M, Vattimo MFF. Polimixina B: efeito dose e tempo dependente na nefrotoxicidade in vitro. Acta Paulista de Enfermagem. 2013; 26(1); 57-62.

30- Schoepp NG, Khorosheva EM, Schlappi TS, Curtis MS, Humphries RM, Angeles L, et al. HHS Public Access. 2017;55(33):9557–61.

31- Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine. 1a Ed. Willians & Wilkins, London. 1980.

32- Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against Acinetobacter baumannii: A comparison with Etest, time-kill, and checkerboard methods. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;38(1):43–50.

33- Kubin CJ, Nelson BC, Miglis C, Cremers S, Yin T, Rhodes NJ, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B from clinical samples. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(3)1–7.

34- Mendes CAC, Burdmann EA. Polymyxins – a review focusing on their nephrotoxicity. Rev Assoc Med Bras. 2010;56(6)7:52–8.

35- Magro MCS, Vattimo MF. Avaliação da função renal: creatinina e outros biomarcadores. Rev Bras Ter intensiva. 2007;56(2):182-5.

36- Abdelraouf K, Braggs KH, Yin T, Truong LD, Hu M, Tam VH. Characterization of Polymyxin B-Induced Nephrotoxicity: Implications for Dosing Regimen Design. Antimicrobial Agentes Chemoter, 56 (9) 4625-9.

37- Lloret GR. Estudo comparativo entre a eficácia, segurança e farmacoeconomia relacionada à utilização da colistina e a polimixina B no tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes. [dissertação de mestrado]. Campinas. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas; 2014.

38- Falagas ME, Kasiakow SK. Toxicity of polymyxins: a systematic rewiew of the evidence from old and recent studies. Critical Care. 2006;10(1):R27.

39- Danner RL, Joiner KA, Rubin M, Patterson WH, Jhonson N, Ayers KM, et al. Purification, toxicity, and antiendotoxinactivity of poliymyxin B nonapeptide. Antimicrobial Agentes Chemoter.1989; 33(9):1428-34.

40- Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. J Am Soc Nephrol. 2005;16(11):3365-70.

41- Romano TG, Guimarães PF, Tierno MM. Injúria renal aguda no paciente politraumatizado. J Bras Nefrol. 2013;35(1):48-56.

42- Ronco C, Kellum JA, Mehta R. Acute dialysis quality initiative (ADQI). Contrib Nephrol. 2013;182:1-4.

43- Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, ADQI. 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(4): R204–R212.

44- Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. Critical Care. 2007;11(2):R31.

45- Bagshaw SM, George C, Bellomo R, Management AD. A comparision of the Rifle and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients, Nephrol Dial Transplant. 2008;23:1569-74.

46- Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN – time for reappraisal. Critical Care. 2009;13(3):211.

47- Bastos MG, Bastos RMR, Paula RB. Avaliação da função renal. Em Barros E, Gonçalves LF (Eds). Nefrologia no consultório. Artmed, Porto Alegre, 2007;49-67.

48- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron.1976;16(1):31-41.

49- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. Ann Intern Med. 2009;150(9):604-12.

50- Silvester W, Bellomo R, Cole L. Epidemiology, management, and outcome of severe acute renal failure of critical illness in Australia. Crit Care Med. 2001;29(10):1910-5.

51- Vincent JL. Incidence of acute renal failure in the intensive care unit. Contrib Nephrol. 2001(132):1-6.

52- Macedo E. Biomarcadores na Injuria Renal Aguda. Biomarcadores na Nefrologia. E-book Roche. 2011;2;19-32. Disponível em http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf.

53- Moran S, Myers B. Course of acute renal failure studied by a model of creatinine kinetics. Kidney Int. 1985;27(6):928-37.

54- Han WK, Waikar SS, Johnson A, Betensky RA, Dent CL, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. Kidney Int. 2008;73(7):863-9.

55- Himmelfarb J, Joannidis M, Molitoris B, Schietz M, Okusa M, Warnock D, et al. Evaluation and initial management of acute kidney injury. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3(4):962-7.

56- Bagshaw SM, Gibney RT. Conventional markers of kidney function. Crit Care Med. 2008;36(4):S152-8.

57- Malhotra R, Siew ED. Biomarkers for the early detection and prognosis of acute kidney injury. Clin J Am Soc Nephrol. 2017;12(1):149–73.

58- Pannu N, Nadim MK. An over review of drug-induced acute kidney injury. Crit Care Med.2008; 36(4):216-23.

59- Falagas EM, Michalopoulos A. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohorty study 258 patients. Int J Antimicrob Agents. 2010;35:194-9.

60- Rosner MH, Okusa MD. Drug-associated acute kidney injury in the intensive care unit. In Clinica Nephrotoxina: Renal Injury from Drugs and Chemicals. Springer; 2008.29-41.

61- Gonchoroski DD, Correa GM. Tratamento de hipercromia pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. Infarma. 2005;17(3/4):84–8.

62- Arda O, Göksügür N. Basic histological structure and functions of facial skin. Clin Dermatol. 2014;32:3–13.

63- Baroni A, Buommino E, Gregorio V De, Ruocco E, Ruocco V, Wolf R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. Clin Dermatol. 2012;30(3):257–62.

64- D'Mello SAN, Finlay GJ, Baguley BC, Askarian-Amiri ME. Signaling pathways in melanogenesis. Int J Mol Sci. 2016;17(7):1–18.

65- Zaidi KU, Ali AS, Ali SA, Naaz I. Microbial tyrosinases: Promising enzymes for pharmaceutical, food bioprocessing, and environmental industry. Biochem Res Int. 2014;2014.

66- Monteiro EO. Cor da pele e pigmentos. RBM Especial Dermatologia.2010;67. Disponível em http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4484.

67- Bushby SRM, Green AF. The release of histamine by polymyxin B and polymyxin E. Br J Pharmacol Chemother.1955;10(2):215-19.

68- Yoshida M, Takahashi Y, Inoue S. Histamine induces melanogenesis and morfologic changes by protein kinase A activation via H2 receptors in human normal melanocytes. J Invest Dermatol. 2000;114(2):334-42.

69- Ito S. A chemist's view of meganogenesis. Pigment cell res. 2003;16(3): 230-6.

70- Bastonini E, Kovacs D, Picardo M. Skin Pigmentation and Pigmentary Disorders : Focus on Epidermal / Dermal Cross-Talk. 2016;28(3):279–89.

71- Videira IF, Moura DF, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis. An Bras Dermatol. 2013;88(1):76–83.

72- Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. Nature. 2007;445(7130):843–50.

73- Anderson RR, Parrish JA. The optics of human skin. J Investi Dermatol. 1981;77(1):13–9.

74- Gupta, S. Skin colour: No hiding in the dark. Nature. 2014;515:S121–S123.

75- Que SKT, Weston G, Suchecki J, Ricketts J. Pigmentary disorders of the eyes and skin. Clin Dermatol. 2015;33(2):147–58.

76- Vashi NA, Kundu RV. Facial hyperpigmentation: Causes and treatment. Br J Dermatol. 2013;169(3):41–56.

77- Lassalle MW, Igarashi S, Sasaki M, Wakamatsu K, Ito S, Horikoshi, T. Effects of melanogenesis-inducing nitric oxide and histamine on the production of eumelanin and pheomelanin in cultured human melanocytes. Pigment Cell Res. 2003;16(1):81–4.

78- Pandya AG, Guevara IL. Disorders of hyperpigmentation. Dermatol Clin. 2000;18(1):91-8.

79- Lee A, Thomson J. Drug-induced skin reactions. Adverse Drug Reactions. 2nd ed. London, UK. Pharmaceutical Press. 2006;2:125-56.

80- Maoz, K.B., Dvash, S., Brenner, S. Amiodarone-induced skin pigmentation and multiple basal-cell carcinomas. Int J Dermatol. 2009; 15(4):319-20.

81- Puri PK, Lountzis NI, Tyler W, Ferringer T. Hydroxychloroquine-induced hyperpigmentation: the staining pattern. J Cutan Pathol. 2008;35:1134–37.

82- Robins AH. Disorders of hyperpigmentation. In: Biological perspectives on human pigmentation. New York: Cambridge University Press. 2005.1a Ed.136.

83- Argenyi ZB, Finelli L, Bergfeld WF, Tuthill RJ, McMahon JT, Ratz JL, Petroff N. Minocycline-related cutaneous hyperpigmentation as demonstrated by light microscopy, electron microscopy and X-ray energy spectroscopy. J Cutan Palhol. 1987;14;176-80.

84- Hartmann M, Enk A. Cutaneous effects of antiretroviral therapy. Dtsch Arztebl. 2007;104(16):1098–103.

85- Ibrahimi OA, Anderson R. Bleomycin-induced flagellate hyperpigmentation. N Engl J Med. 2010; 363:e36.

86- Speeckaert R, Gele MV, Speeckaert MM, Lambert J, Geel NV. The biology of hyperpigmentation syndromes. Pigment Cell Res. 2014;27(4): 512-24.

87- Gothwal S, Kailash M, Sharma SD. Polymyxin B induced generalized hyperpigmentation in neonates. Indian J Pediatr. 2015;1-2.

88- Knueppel RC, Rahimian J. Diffuse cutaneous hyperpigmentation due to tigecycline or polymyxin B. Clin Infect Dis. 2007;45,136-7.

89- Zavascki AP, Manfro RC, Maciel RA, Falci DR. Head and neck hyperpigmentation probably associated with polymyxin B therapy. Ann Pharmacother. 2015:49:1171-2.

90- Shih LK, Chan LG. Polymyxin B induced generalized skin hyperpigmentation in infants. J Pediatr Sci. 2014;6:e215.

91- Sutiman N, Tan S, Rowe E, Ho B, Ng T. Polymyxin B toxicities: critical appraisal of nephrotoxicity and novel dermatological toxicity. 2013.

92- Massey D. Commentary: clinical diagnostic use of cystatin C. J Clin Lab Anal. 2004;18:55-60.

93- Gilkes JJ, Eady RA, Rees LH, Munro DD, Moorhead JF. Plasma immunoreactivemelanotrophic hormones in patients on maintenance haemodialysis. BM.1975;1:656-7.

94- Choi HK, Thomé FS, Orlandini T, Barros E. Hiperpigmentação cutânea em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise infectados pelo vírus da hepatite C. Rev Assoc Med Bras. 2003; 49(1):24-8.

95- Khanna D, Singal A, Kalra OP. Comparison of cutaneous manifestations in chronic kidney disease with or without dialysis. Postgrad Med J 2010;86:641-7.

96- Lupi O, Rezende L, Zangrando M, Sessim M, Silveria CB, Seculpri MAS, et al. Manifestações cutâneas na doença renal crônica. An Bras Dermatol 2011;86(2):319-26.

97- Hulley SB & Cummings SR. Designing Clinical Research. Baltimore: Willimas & Wikins.1998.

98- GFR Calculator. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). 2018. Disponível em http://ckdepi.org/equations/gfr-calculator/.

99- Magacho EJC, Pereira AC, Mansur HN, Bastos MG. Nomograma para estimação da taxa de filtração glomerular baseado na fórmula CKD-EPI. J Bras Nefrol. 2012:34(3):313-5.

100- Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney inter., Suppl. 2012; 2:1–138.

101- Treesitichod A, Chansakulporn S, Wattanapan P. Correlation between skin color evaluation by color scale chart and narrowband reflectance spectrophotometer. Indian J Dermatol. 2014;59(4):339-42.

102- Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2009;75(1):93-6.

103- Baquié M, Kasraee B. Discrimination between cutaneous pigmentation and erythema: Comparison of the skin colorimeters Dermacatch and Mexameter. Ski Res Technol. 2014;20(2):218–27.

104- Conover WJ. Practical Nonparametric Statistics. 3ª ed. John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque. 1999.

105- Fleiss J L. Statistical Methods for Rates and Proportions. New York: John Wiley & Sons, 2nd ed.1981.

106– Organização Mundial da Saúde (OMS). Definições. Disponível em: http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/safety_efficacy/trainingcourses/definitions.pdf.

107- Edwards IR, Aronson JK. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. Lancet. 2000; 356(9237):1255- 59.

108- Magalhães SMS, Carvalho WS. Reações adversas a medicamentos. In: Gomes MJVM, Moreira AM. (Org.) Ciências Farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar. São Paulo: Atheneu, 2001:125-45.

109- Organização Mundial da Saúde (OMS). A importância da farmacovigilância: monitorização segura de produtos medicinais. Geneva, 2002.

110- Greaves, M.W. (1998). Flushing and flushing syndromes, rosacea and perioral dermatitis. In Textbook of Dermatology, R.H. Champion, J.L. Burton, T. Burns, and S. Breathnach, eds. (Oxford: Blackwell Scientific), 6, pp. 2099–2104.

111- Ackerman AB, Böer A, Bennin B, Gottlieb GJ. Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases. An Algorithmic Method Based on Pattern Analysis, 3rd edn. New York: Ardor Scribendi, Ltd.; 2005. Embryologic, histologic, and anatomic aspects of the nail. http://www.derm101. com.

112- Fitzpatrick TB, Szabo G. The melanocyte: cytology and cytochemistry. J Invest Dermatol. 1959;32(2):197-209.

113- Smith KR, Thiboutot DM. Thematic review series: skin lipids. sebaceous gland lipids: friend or foe? J Lipid Res. 2008;49:271-81.

114- Nolano M, Provitera V, Caporaso G, et al. Cutaneous innervation ofthe human head as assessed by skin biopsy. J Anat. 2013;222:161-9.

115- Szabo G, Gerald AB, Pathak MA, Fitzpatrick TB. Racial differences in the fate of melanosomes in human epidermis. Nature. 1969; 222:1081–2.

116– Massi G, Leboit PE. Melanocytic Hyperplasia. Histol Diagnosis Nevi Melanoma. 2004;(1):15–22.

117- Hegde S. Novel immunosuppressive properties of interleukin-6 in dendritic cells: inhibition of NF- B binding activity and CCR7 expression. FASEB J. 2004;32:1–32.

118- Davis EC, Callender VD. Postinflammatory hyperpigmentation: a reviewof the epidemiology, clinical features, and treatment options in skin of color. J Clin Aesthet Dermatol. 2010;3:20-31.

119- Choi H, Kwangmi K, Han J, Choi H, Jin SH, Lee EK, et al. Kojic acid-induced IL-6 Production in human keratinocytes plays a role in its anti-melanogenic activity in skin. J Dermatol Sci. 2012;66:207-15.

120- Miori L, Vignini M, Rabbiosi G. Flagellate dermatitis after bleomycin. A histological and immunohistochemical study. Am J Dermatopathol. 1990;12:598-602.

121– Al-Amodi O, Jodeleit H, Beigel F, Wolf E, Siebeck M, Gropp R. CD1a-Expressing Monocytes as Mediators of Inflammation in Ulcerative Colitis. Inflamm Bowel Dis. 2018;24(6):1225–36.

122– Barral DC, Brenner MB. CD1 antigen presentation: How it works. Nat Rev Immunol. 2007;7(12):929–41.

123- Keirstead ND, Wagone MP, Bentley P, Blais M, Brown C, Cheatham L, et al. Early prediction of polymyxin-induced nephrotoxicity with next-generation urinary kidney injury biomarkers. Toxicol. Sci. 2014;137:278–91.

124- Marone G, Granata F, Spadaro G, Genovese A, Triggiani M. The histamine-cytokine network in allergic inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2003;112:83-8.

125– Zavascki AP, Schuster LF, Duquia RP. Histopathological findings of pigmented lesion and recovery of natural skin colour in a patient with polymyxin B-associated diffuse hyperpigmentation. Int J Antimicrob Agents. 2016;48(5):579–80.

126- Zavascki AP, Manfro RC, Maciel RA, Falci DR. Head and neck hyperpigmentation probably associated with polymyxin B therapy. Ann Pharmacother. 2015;49(10):1171–2.

127– García MS. Early antibiotic treatment failure. Int J Antimicrob Agents 2009;34:14–9.

128– Leekha S, Terrell CL, Randall ES. General Principles of Antimicrobial Therapy. Mayo Clin Proc. 2011;86(2):156–67.

129- Falagas ME, Rafailidis PI. When to include polymyxins in the empirical antibiotic regimen in critically ill patients with fever? A decision analysis approach. Shock. 2007;27(6):605–9.

130- Kaye KS, Pogue JM, Tran TB, Roger L, Nation RL, Li J. Agents of Last Resort Polymyxin Resistance. Infect Dis Clin N Am 2016;30:391–414.

131- Campion M, Scully G. Antibiotic Use in the Intensive Care Unit: Optimization and De-Escalation. J Intensive Care Med. 2018.

132- Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. Chest. 2000;118(1):146-55.

133– Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. Chest. 1999;115(2):462-74.

134- 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.

135- 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.

136- Yu Y, Fei A, Wu Z, Gao C, Pan S. Intravenous polymyxins: Revival with puzzle. Biosic Trends 2017;11:370-82.

137- Ismail B, Shafei MN, Harun A, Ali S, Omar M, Deris ZZ. Predictors of polymyxin B treatment failure in Gram-negative healthcare-associated infections among critically ill patients. J Microbiol Immunol Infect 2017;doi: 10.1016/j.jmii.2017.03.007 [Epub ahead of print].

138- Egger SS, Méier S, Leu C, Christen S, Gratwohl A, Krähenbühl S, et al. Drug interactions and adverse events associated with antimycotic drugs used for invasive aspergillosis in hematopoietic SCT. Bone MarrowTransplant. 2010;45:1197-1203.

139- Granowitz EV, Brown RB. Antimicrobial adverse reactions and drug interactions. Crit Care Clin. 2008;24:421-42.

140- Zavascki AP, Nation RL. Nephrotoxicity of polymyxins: Is there any difference between colistimethate and polymyxin B? Antimicrob Agents Chemother 2017;61:1–10.

141- Falagas ME, Kasiakou SK: Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. Crit Care. 2006;10:R27.

9.0 ANEXOS

ANEXO 1 - CERTIFICADOS DE PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS E COLABORAÇÃO CIENTÍFICA

- Apresentação de Pôster no XVIII Congresso da Federación Farmacêutica Sudamericana e do 8º Congresso RIOPHARMA – Outubro 2015

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico **REAÇÃO DE HIPERPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA ASSOCIADA À POLIMIXINA B: RELAÇÃO COM NEFROTOXICIDADE**, autores **KAREN PRADO HERZER MATTOS (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);GUSTAVO RAFAINI LLORET(UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);ISABELA ROMÃO GOVÊA(UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);TAÍS BETONI RODRIGUES(UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);PRISCILA GAVA MAZZOLA(UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);PATRICIA MORIEL(UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS);**, foi apresentado no **XVIII Congresso da Federación Farmacéutica Sudamericana e 8° Congresso RIOPHARMA de Ciências Farmacêuticas**, com carga horária de 28 horas, que abordou como tema "A prescrição farmacêutica e os novos paradigmas da profissão" e teve como eixo central "Atuação clínica do farmacêutico", de 15 a 17 de outubro de 2015, no Centro de Convenções SulAmérica, no Rio de Janeiro.

- Parecerista no XII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP – Novembro 2015

Certificado

XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

Certificamos que **Karen Prado Herzer Mattos** participou do **XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP**, promovido pelas Pró-Reitorias de Pesquisa e de Graduação no período de 17 a 19 de novembro de 2015, no Ginásio Multidisciplinar da UNICAMP, na qualidade de Avaliador(a) de trabalhos inscritos na área de **Biológicas**.

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", novembro de 2015.

Profª Drª Glaucia Maria Pastore
Pró-Reitora de Pesquisa | Unicamp

Prof. Dr. Luis Alberto Magna
Pró-Reitor de Graduação | Unicamp

- Apresentação de Pôster na 9ª Semana de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP- Maio 2016

9ª SEMANA DE PESQUISA DA FCM
Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Certificado

Declaro que Karen Prado Herzer Mattos e , realizaram a apresentação "Reação de hiperpigmentação cutânea associada à polimixina B: relação com nefrotoxicidade", no evento 9ª Semana de Pesquisa da FCM, realizado em 17 a 19 de Maio de 2016, no Espaço das artes - Salão Nobre.

Prof. Dr. Roberto Teixeira Mendes
Diretor Associado da FCM

Prof.ª Dr.ª Maria Luiza Moretti
Comissão de Pesquisa - FCM

Prof. Dr. Roger Frigério Castilho
Comissão de Pesquisa

- Parecerista no Programa Institucional de Iniciação Científica PIBIC Mackenzie – Março 2016

UNIVERSIDADE PRESBITERIANA MACKENZIE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENADORIA DE PESQUISA

São Paulo, 28 de março de 2016.

A Coordenadora de Pesquisa e a Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Presbiteriana Mackenzie declaram que a Profª. Karen Prado Herzer Mattos elaborou e emitiu dois pareceres técnico-científicos, "ad hoc pro honorem", relativos às avaliações de projetos de pesquisa inscritos no Programa Institucional de Iniciação Científica - PIBIC e PIVIC Mackenzie/Mackpesquisa 2016 e PIBIC Mackenzie/Santander 2016.

Agradecemos sua contribuição.

Maria Luisa Mendes Teixeira
Coordenadora de Pesquisa da UPM

Helena Bonito Couto Pereira
Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação

- Apresentação Oral no 10º Congresso Paulista de Infectologia em Santos – Agosto 2016

24 a 27 de agosto de 2016 Mendes Convention Center Santos SP

10º Congresso Paulista de Infectologia

Certificado

Certificamos que

o trabalho **or-53 - ESTUDO TRANSVERSAL SOBRE A PREVALÊNCIA DO USO DE ANTIMICROBIANO E DE CASOS ELEGÍVEIS PARA TERAPIA ANTIMICROBIANA PARENTERAL AMBULATORIAL EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO** foi apresentado no **10º CONGRESSO PAULISTA DE INFECTOLOGIA**, realizado de 24 a 27 de agosto de 2016 no Mendes Convention Center, em Santos - SP, na qualidade de **APRESENTAÇÃO ORAL**.

Autores: **KAREN PRADO HERZER MATTOS, MARIÂNGELA RIBEIRO RESENDE, ELIANE MOLINA PSALTIKIDIS, MIRTES LOESCHNER LEICHSENRING , RENATA FAGNANI, TIAGO CRISTIANO LIMA, LUÍS GUSTAVO OLIVEIRA CARDOSO, LUÍS FELIPE BACHUR, CHRISTIAN CRUZ HOFLING, MARIA LUIZA MORETTI.**

THAIS GUIMARÃES
Presidente da SPI e do Congresso

MAÚRO JOSÉ COSTA SALLES
Presidente da Comissão Científica

REALIZAÇÃO

SOCIEDADE PAULISTA DE INFECTOLOGIA

- Apresentação de Pôster no 4º Congresso Nacional de Medicina Tropical do Instituto de Medicina e Higienie Tropical em Portugal – Abril 2017

4º CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA TROPICAL

IHMT

19 A 21 ABRIL 2017

4º CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA TROPICAL

1º Encontro Lusófono de SIDA, TUBERCULOSE E DOENÇAS OPORTUNISTAS

19 a 21 abril 2017

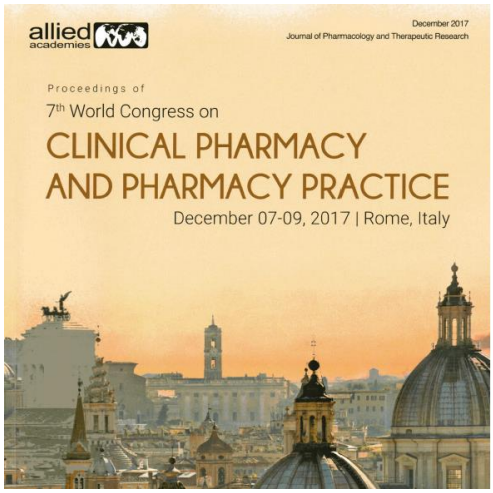
Certificado

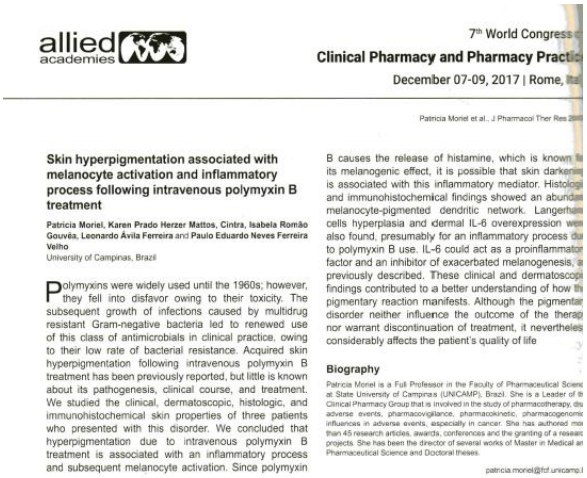
DE PARTICIPAÇÃO

Certifica-se que o póster

"Epidemiologia molecular e caracterização genética de estirpes de klebsiella pneumoniae multirresistentes provenientes de um hospital universitário no Brasil " da autoria de Karen Prado Herzer Mattos, Sofia Santos Costa, Isabel Couto, Cátia Filipa Marques, Carlos Emilio Levy, Patricia Moriel, Constança Pomba e Miguel Viveiros foi apresentado no 4º Congresso Nacional de Medicina Tropical e 1º Encontro Lusófono de Sida, Tuberculose e Doenças Oportunistas, que se realizaram de 19 a 21 de abril de 2017, em Lisboa.

- Apresentação de Pôster 7th *World Congress on Clinical Pharmacy and Clinical Pharmacy Practice* na Itália – Dezembro 2017





allied academies

7th World Congress
Clinical Pharmacy and Pharmacy Practi
December 07-09, 2017 | Rome,

Patricia Moriel et al., J Pharmacol Ther Res

Skin hyperpigmentation associated with melanocyte activation and inflammatory process following intravenous polymyxin B treatment

Patricia Moriel, Karen Prado Herzer Mattos, Cintra, Isabela Romão Gouvêa, Leonardo Ávila Ferreira and **Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho**
University of Campinas, Brazil

Polymyxins were widely used until the 1960s; however, they fell into disfavor owing to their toxicity. The subsequent growth of infections caused by multidrug resistant Gram-negative bacteria led to renewed use of this class of antimicrobials in clinical practice, owing to their low rate of bacterial resistance. Acquired skin hyperpigmentation following intravenous polymyxin B treatment has been previously reported, but little is known about its pathogenesis, clinical course, and treatment. We studied the clinical, dermatoscopic, histologic, and immunohistochemical skin properties of three patients who presented with this disorder. We concluded that hyperpigmentation due to intravenous polymyxin B treatment is associated with an inflammatory process and subsequent melanocyte activation. Since polymyxin B causes the release of histamine, which is known
its melanogenic effect, it is possible that skin darkeni
is associated with this inflammatory mediator. Histolog
and immunohistochemical findings showed an abundan
melanocyte-pigmented dendritic network. Langerha
cells hyperplasia and dermal IL-6 overexpression we
also found, presumably for an inflammatory process du
to polymyxin B use. IL-6 could act as a proinflammator
factor and an inhibitor of exacerbated melanogenesis,
previously described. These clinical and dermatoscopi
findings contributed to a better understanding of how th
pigmentary reaction manifests. Although the pigmentar
disorder neither influence the outcome of the therap
nor warrant discontinuation of treatment, it nevertheles
considerably affects the patient's quality of life

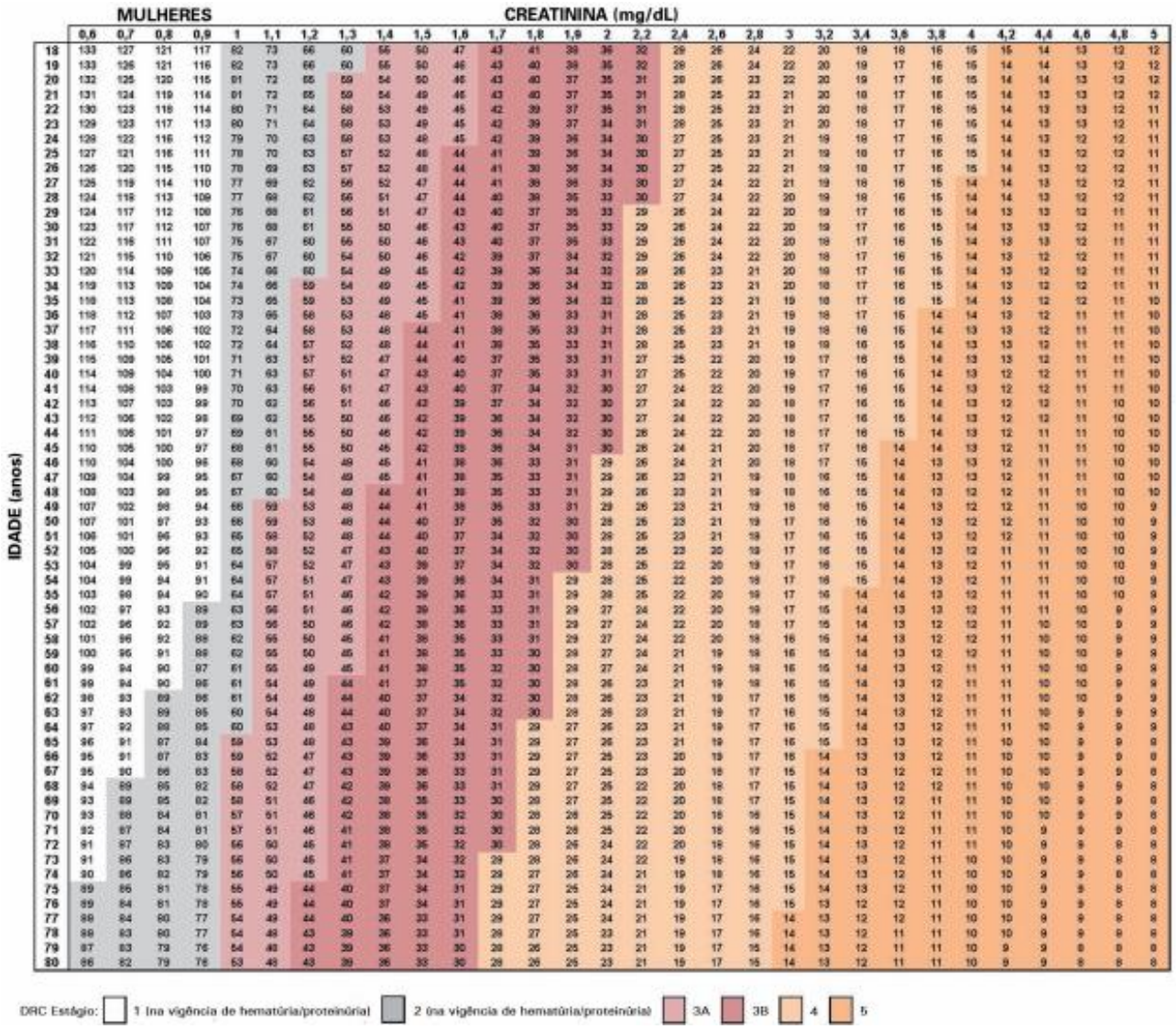
Biography

Patricia Moriel is a Full Professor in the Faculty of Pharmaceutical Scienc
at State University of Campinas (UNICAMP), Brazil. She is a Leader of th
Clinical Pharmacy Group that is involved in the study of pharmacotherapy, dru
adverse events, pharmacovigilance, pharmacokinetic, pharmacogenomic
influences in adverse events, especially in cancer. She has authored mo
than 45 research articles, awards, conferences and the granting of a researc
projects. She has been the director of several works of Master in Medical ar
Pharmaceutical Science and Doctoral theses.

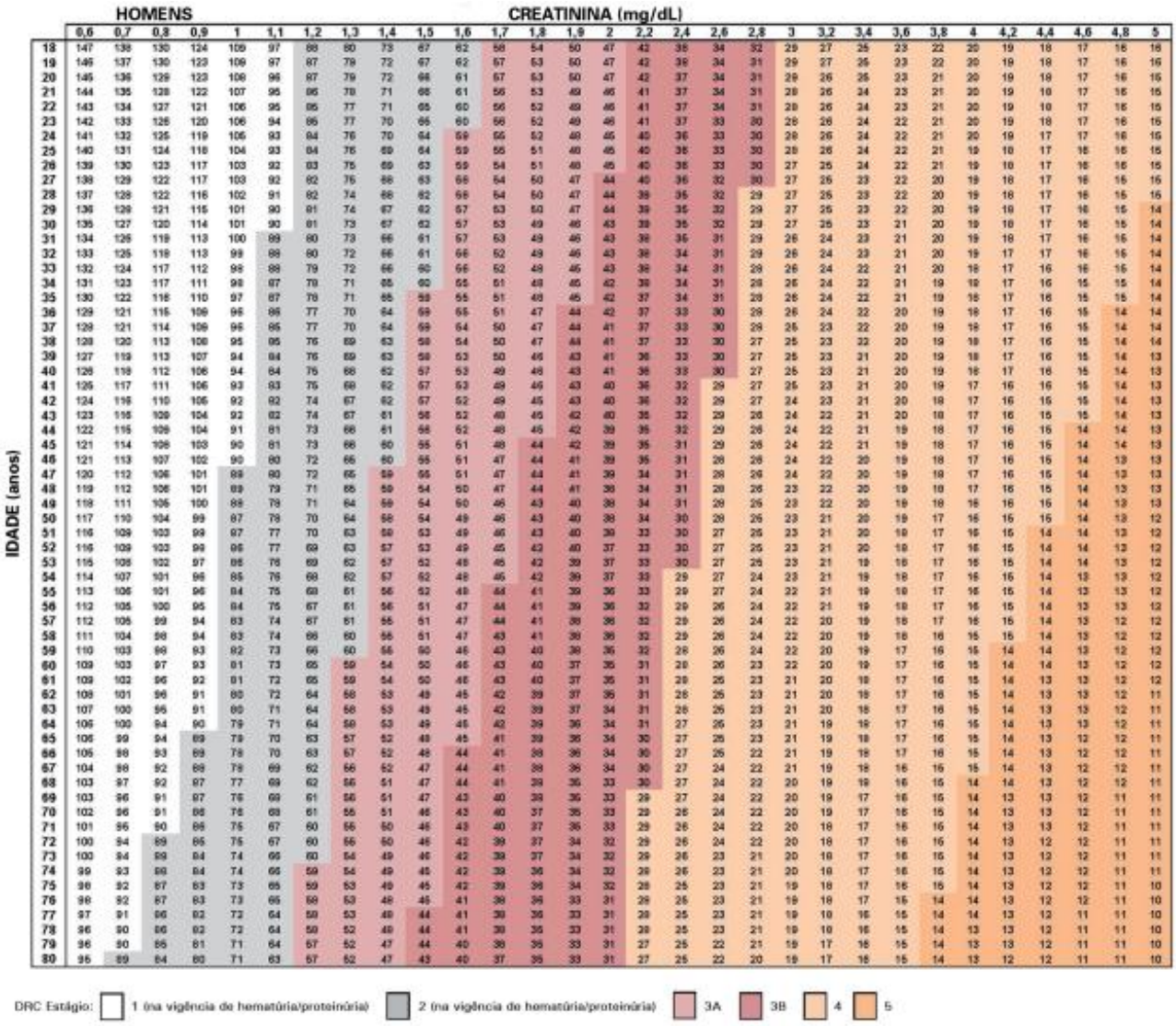
patricia.moriel@ftcf.unicamp.

ANEXO 2 – Nomograma para a estimação da taxa de filtração glomerular baseado na fórmula CKD-EPI (99)

Taxa de Filtração Glomerular baseado na Equação CKD-EPI nas mulheres



Taxa de Filtração Glomerular baseado na Equação CKD-EPI nos homens



IDADE (anos)	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,2	2,4	2,6	2,8	3	3,2	3,4	3,6	3,8	4	4,2	4,4	4,6	4,8	5
18	147	138	130	124	109	97	88	80	73	67	62	58	54	50	47	42	38	34	32	29	27	25	23	22	20	19	18	17	16	16
19	146	137	130	123	109	97	87	79	72	67	62	57	53	50	47	42	38	34	31	29	27	25	23	22	20	19	18	17	16	16
20	145	136	129	123	108	96	87	79	72	66	61	57	53	50	47	42	37	34	31	28	26	25	23	21	20	19	18	17	16	15
21	144	135	128	122	107	95	86	78	71	66	61	56	53	49	46	41	37	34	31	28	26	24	23	21	20	19	18	17	16	15
22	143	134	127	121	106	95	86	77	71	65	60	56	52	49	46	41	37	34	31	28	26	24	23	21	20	19	18	17	16	15
23	142	133	126	120	106	94	86	77	70	65	60	56	52	49	46	41	37	33	30	28	26	24	22	21	20	19	18	17	16	15
24	141	132	125	119	105	93	84	76	70	64	59	55	52	49	45	40	36	33	30	28	26	24	22	21	20	19	17	17	16	15
25	140	131	124	118	104	93	84	76	69	64	59	55	51	48	45	40	36	33	30	28	26	24	22	21	19	18	17	16	16	15
26	139	130	123	117	103	92	83	75	69	63	59	54	51	48	45	40	36	33	30	27	25	24	22	21	19	18	17	16	16	15
27	138	129	122	117	103	92	82	75	68	63	58	54	50	47	44	40	36	32	30	27	25	23	22	20	19	18	17	16	15	15
28	137	128	122	116	102	91	82	74	68	62	58	54	50	47	44	39	35	32	29	27	25	23	22	20	19	18	17	16	15	15
29	136	128	121	115	101	90	81	74	67	62	57	53	50	47	44	39	35	32	29	27	25	23	22	20	19	18	17	16	15	14
30	135	127	120	114	101	90	81	73	67	62	57	53	49	46	43	39	35	32	29	27	25	23	21	20	19	18	17	16	15	14
31	134	126	119	113	100	89	80	73	66	61	57	53	49	46	43	38	35	31	29	26	24	23	21	20	19	18	17	16	15	14
32	133	125	119	113	99	88	80	72	66	61	56	52	49	46	43	38	34	31	29	26	24	23	21	20	19	17	17	16	15	14
33	132	124	117	112	98	88	79	72	66	60	56	52	48	45	43	38	34	31	28	26	24	22	21	20	18	17	16	16	15	14
34	131	123	117	111	98	87	78	71	65	60	55	51	48	45	42	38	34	31	28	26	24	22	21	19	18	17	16	15	15	14
35	130	122	116	110	97	87	78	71	65	59	55	51	48	45	42	37	34	31	28	26	24	22	21	19	18	17	16	15	15	14
36	129	121	115	109	96	86	77	70	64	59	55	51	47	44	42	37	33	30	28	26	24	22	20	19	18	17	16	15	14	14
37	128	121	114	109	96	86	77	70	64	59	54	50	47	44	41	37	33	30	28	26	23	22	20	19	18	17	16	15	14	14
38	128	120	113	108	95	85	76	69	63	58	54	50	47	44	41	37	33	30	27	25	23	22	20	19	18	17	16	15	14	14
39	127	119	113	107	94	84	76	69	63	58	53	50	46	43	41	36	33	30	27	25	23	21	20	19	18	17	16	15	14	13
40	126	119	112	106	94	84	75	68	62	57	53	49	46	43	41	36	33	30	27	25	23	21	20	19	18	17	16	15	14	13
41	126	117	111	106	93	83	75	68	62	57	53	49	46	43	40	36	32	29	27	25	23	21	20	19	17	16	16	15	14	13
42	124	116	110	105	92	82	74	67	62	57	52	49	45	43	40	36	32	29	27	24	23	21	20	18	17	16	15	15	14	13
43	123	116	109	104	92	82	74	67	61	56	52	48	45	42	40	35	32	29	26	24	22	21	20	18	17	16	15	15	14	13
44	122	115	109	104	91	81	73	66	61	56	52	48	45	42	39	35	32	29	26	24	22	21	19	18	17	16	15	14	14	13
45	121	114	108	103	90	81	73	66	60	55	51	48	44	42	39	35	31	29	26	24	22	21	19	18	17	16	15	14	14	13
46	121	113	107	102	90	80	72	65	60	55	51	47	44	41	39	35	31	28	26	24	22	20	19	18	17	16	15	14	13	13
47	120	112	106	101	89	80	72	65	59	55	51	47	44	41	39	34	31	28	26	24	22	20	19	18	17	16	15	14	13	13
48	119	112	106	101	89	79	71	65	59	54	50	47	44	41	38	34	31	28	26	23	22	20	19	18	17	16	15	14	13	13
49	119	111	106	100	88	78	71	64	59	54	50	46	43	40	38	34	31	28	26	23	22	20	19	18	16	16	15	14	13	13
50	117	110	104	99	87	78	70	64	58	54	49	46	43	40	38	34	30	28	26	23	21	20	19	17	16	15	15	14	13	12
51	116	109	103	99	87	77	70	63	58	53	49	46	43	40	38	33	30	27	25	23	21	20	19	17	16	15	14	14	13	12
52	116	109	103	98	86	77	69	63	57	53	49	45	43	40	37	33	30	27	25	23	21	20	19	17	16	15	14	14	13	12
53	115	108	102	97	86	76	69	62	57	52	48	45	42	39	37	33	30	27	25	23	21	19	18	17	16	15	14	14	13	12
54	114	107	101	96	85	76	68	62	57	52	48	45	42	39	37	33	29	27	24	23	21	19	18	17	16	15	14	13	13	12
55	113	106	101	96	84	75	68	61	56	52	48	44	41	39	36	33	29	27	24	22	21	19	18	17	16	15	14	13	13	12
56	112	105	100	95	84	75	67	61	56	51	47	44	41	39	36	32	29	26	24	22	21	19	18	17	16	15	14	13	13	12
57	112	105	99	94	83	74	67	61	55	51	47	44	41	38	36	32	29	26	24	22	20	19	18	17	16	15	14	13	12	12
58	111	104	98	94	83	74	66	60	55	51	47	43	41	38	36	32	29	26	24	22	20	19	18	16	16	15	14	13	12	12
59	110	103	98	93	82	73	66	60	55	50	46	43	40	38	35	32	28	26	24	22	20	19	17	16	15	14	14	13	12	12
60	109	103	97	93	81	73	65	59	54	50	46	43	40	37	35	31	28	26	23	22	20	19	17	16	15	14	14	13	12	12
61	109	102	96	92	81	72	65	59	54	50	46	43	40	37	35	31	28	25	23	21	20	18	17	16	15	14	13	13	12	12
62	108	101	96	91	80	72	64	58	53	49	45	42	39	37	35	31	28	25	23	21	20	18	17	16	15	14	13	13	12	11
63	107	100	95	91	80	71	64	58	53	49	45	42	39	37	34	31	28	26	23	21	20	18	17	16	15	14	13	13	12	11
64	106	100	94	90	79	71	64	58	53	49	45	42	39	36	34	31	27	25	23	21	19	18	17	16	15	14	13	13	12	11
65	106	99	94	89	79	70	63	57	52	48	45	41	39	36	34	30	27	25	23	21	19	18	17	16	15	14	13	12	12	11
66	105	98	93	89	78	70	63	57	52	48	44	41	38	36	34	30	27	25	22	21	19	18	17	16	15	14	13	12	12	11
67	104	98	92	88	78	69	62	56	52	47	44	41	38	36	34	30	27	24	22	21	19	18	16	16	15	14	13	12	12	11
68	103	97	92	87	77	69	62	56	51	47	44	41	38	35	33	30	27	24	22	20	19	18	16	15	14	14	13	12	12	11
69	103	96	91	87	76	68	61	56	51	47	43	40	38	35	33	29	27	24	22	20	19	17	16	15	14	13	13	12	11	11
70	102	96	91	86	76	68	61	55	51	46	43	40	37	35	33	29	26	24	22	20	19	17	16	15	14	13	13	12	11	11
71	101	95	90	86	75	67	60	55	50	46	43	40	37	35	33	29	26	24	22	20	18	17	16	16	14	13	13	12	11	11
72	100	94	89	85	75	67	60	55	50	46	42	39	37	34	32	29	26	24	22	20	18	17	16	15	14	13	12	12	11	11
73	100	94	89	84	74	66	60	54	49	46	42	39	37	34	32	29	26	23	21	20	18	17	16	15	14	13	13	12	11	11
74	99	93	88	84	74	66	59	54	49	45	42	39	36	34	32	29	26	23	21	20	18	17	16	15	14	13	12	12	11	11
75	98	92	87	83	73	65	59	53	49	45	42	39	36	34	32	28	25	23	21	19	18	17	16	15	14	13	12	12	11	10
76	98	92	87	83	73	65	58	53	48	45	41	38	36	33	31	28	25	23	21	19	18	17	15	14	14	13	12	12	11	10
77	97	91	86	82	72	64	58	53	48	44	41	38	35	33	31	28	25	23	21	19	18	16	15	14	14	13	12	11	11	10
78	96	90	86	82	72	64	58	52	48	44	41	38	35	33	31	28	25	23	21	19	18	16	15	14	13	13	12	11	11	10
79	96	90	85	81	71	64	57	52	47	44	40	38	35	33	31	27	25	22	21	19	17	16	15	14	13	13	12	11	11	10
80	95	89	84	80	71	63	57	52	47	43	40	37	35	33	31	27	25	22	20	19	17	16	15	14	13	12	12	11	11	10

DRC Estágio: 1 (na vigência de hematúria/proteinúria) 2 (na vigência de hematúria/proteinúria) 3A 3B 4 5

ANEXO 3 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Perfil epidemiológico, características clínicas e reações adversas (nefrotoxicidade e hiperpigmentação cutânea) relacionadas ao uso da polimixina B

Pesquisador: Karen Prado Herzer Mattos
Área Temática:
Versão: 6
CAAE: 38164214.0.0000.5404
Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.507.818

Apresentação do Projeto:
Emenda ao projeto original, com a seguinte justificativa:
"Necessária a inclusão de novas análises não antes previstas. Tais análises se fazem fundamentais para o aprofundamento e avanço da investigação que envolve a descrição e quantificação de uma nova reação adversa relacionada ao uso de medicamentos".
A presente versão consiste na resposta a pendências emitidas em parecer anterior sobre esta emenda.

Objetivo da Pesquisa:
Mantidos em relação ao projeto original.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Adicionalmente aqueles já mencionados no projeto original, a introdução do procedimento "biópsia de pele" implica na possibilidade de aumento de risco, conforme mencionado pela coordenadora do projeto: " Por se tratar de pacientes com infecção por patógenos multirresistentes, há a preocupação de que a coleta de biópsia não venha acarretar no agravamento do quadro clínico do paciente. A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar foi consultada sobre a realização deste procedimento e entendeu como aceitável tal prática uma vez

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

que conduzida dentro dos protocolos e condições preconizadas pela CCIH."
O procedimento ora solicitado exigirá, conforme esclarecido em carta a este CEP, que as biópsias sejam realizadas por médicos dermatologistas ou patologistas clínicos vinculados ao hospital da universidade. É importante salientar que, conforme carta de resposta a pendências enviada a este CEP, o procedimento deverá ser realizado apenas em cerca de 70 novos casos, visando completar a amostra prevista de 200 casos, dos quais 130 já foram realizados segundo proposta original.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Trata-se de resposta a pendências de emenda, emitidas em parecer anterior.Todos os esclarecimentos foram feitos a este CEP, através de envio de documentos devidamente corrigidos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Todos os esclarecimentos foram feitos a este CEP, através de envio de documentos devidamente corrigidos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Emenda aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:
- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento

adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_635785E1.pdf	16/03/2016 14:44:43		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BIORREPOSITORIO.pdf	16/03/2016 14:37:42	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
Outros	Carta_Coord_UTI.pdf	16/03/2016 14:22:49	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
Outros	Carta_CCIH.pdf	16/03/2016 14:22:28	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
Outros	TCLE_VULNERAVEIS.pdf	16/03/2016 14:21:36	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Carta_Resposta_CEP.pdf	16/03/2016 14:19:16	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_NOVO.pdf	16/03/2016 14:18:47	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito

Recurso Anexado pelo Pesquisador	Pendencia_CEP.pdf	02/02/2016 16:15:22	Karen Prado Herzer Mattos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto doutorado Inicial.pdf	08/01/2015 22:08:06		Aceito
Outros	Carta dr. Luiz Claudio.pdf	22/12/2014 11:54:09		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto assinada.pdf	17/10/2014 17:09:12		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

CAMPINAS, 20 de Abril de 2016

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)