

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

MICHEL PENEDO DA VITÓRIA

**“MONITORAMENTO DE VANCOMICINA EM PACIENTES EM
TRATAMENTO HEMODIALÍTICO COM INFECÇÕES DE CORRENTE
SANGUÍNEA POR *Staphylococcus* spp”**

VITÓRIA
2015

MICHEL PENEDO DA VITÓRIA

**“MONITORAMENTO DE VANCOMICINA EM PACIENTES EM
TRATAMENTO HEMODIALÍTICO COM INFECÇÕES DE CORRENTE
SANGUÍNEA POR *Staphylococcus spp*”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial de obtenção do Grau de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Ferreira Nunes

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kênia Valéria dos Santos

VITÓRIA

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Vitória, Michel Penedo da, 1980 -
V845m Monitoramento de vancomicina em pacientes em tratamento
hemodialítico com infecções de corrente sanguínea por
Staphylococcus spp / Michel Penedo da Vitória – 2015.
114 f. : il.

Orientador: Ana Paula Ferreira Nunes.
Coorientador: Kênia Valéria dos Santos.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Hemodiálise. 2. Bacteremia. 3. *Staphylococcus*.
4. Vancomicina. 5. Monitorização Fisiológica. 6. Bioensaio.
I. Nunes, Ana Paula Ferreira. II. Santos, Kênia Valéria dos.
III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

O mestrando MICHEL PENEDO DA VITÓRIA apresentou a dissertação intitulada “Monitoramento de vancomicina em pacientes em tratamento hemodialítico com infecção de corrente sanguínea por *Staphylococcus spp*” em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar o farmacêutico MICHEL PENEDO DA VITÓRIA a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 17 de abril de 2015

Prof. Dr. Cláudio Galuppe Diniz
(Membro Externo)

Profa. Dra. Líliliana Cruz Spano
(Membro Interno)

Profa. Dra. Ana Paula Ferreira Nunes
(Orientadora)

Profa. Dra. Kênia Valéria dos Santos
(Coorientadora)

DEDICATÓRIA

Dedico mais esta conquista à minha amada esposa, Lenna Izoton Vitória, por cada palavra de incentivo e encorajamento, por me amparar nos momentos de desânimo, me compreender quando precisei me ausentar, por me mostrar que podia ir um pouco mais além, quando só conseguia enxergar minhas limitações e por me amar incondicionalmente. A você, que me ajudou a tornar real esse sonho, ofereço cada palavra, frase e página aqui escritas.

AGRADECIMENTOS

Sou grato a Deus por mais essa conquista, por conduzir meus caminhos e me ajudar superar os obstáculos ao longo dessa jornada.

Aos meus pais, Luis e Marcia, minha gratidão pelos ensinamentos e formação do caráter, por me mostrarem os verdadeiros valores da vida e por darem as ferramentas necessárias para me tornar um homem íntegro, perseverante e trabalhador.

À minha esposa e minha filha Milena, por serem meu refúgio e recurso para recuperar o ânimo e a alegria.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Ana Paula, excelente profissional, pela confiança, ensinamentos, paciência e orientações.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Kênia Valéria dos Santos, peça fundamental para realização deste trabalho. Muitíssimo obrigado por todo acompanhamento na execução desta pesquisa e inúmeras orientações.

Ao professor Gustavo Rocha Leite pelo direcionamento na análise estatística.

Ao Dr. Lauro Monteiro Vasconcelos Filho, à enfermeira Cristiane Alvarenga e aos técnicos de enfermagem das clínicas conveniadas que deram todo o suporte na obtenção das amostras, tornando possível este estudo.

À Jessica Birro, amiga e aluna de iniciação científica do Laboratório de Bacteriologia Geral e Clínica pelo apoio e auxílio em parte dos experimentos.

Aos companheiros de laboratório, Indiamara, Rodrigo e Pâmela, pela amizade, boa convivência e contribuições para a pesquisa.

Às amigas Liamara, Érica, Simone, Heloísa, e Célia, funcionárias do laboratório de microbiologia, pelo compartilhamento do conhecimento, colaboração com a pesquisa e pela grande amizade.

Aos meus irmãos, Cláudia, Michael e Maxson, pela amizade, por todo apoio, incentivo e orações.

À minha sogra Mariely, tia Lena e Zan, por cuidarem da minha filha quando precisei de “horas extras” de estudo.

À todos meus amigos e irmãos pelo incentivo e orações.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFES (PRPPg) pelo apoio financeiro.

Ao programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas pela oportunidade do estudo.

RESUMO

A vancomicina (van) é empiricamente prescrita para o tratamento de infecções por estafilococos em pacientes submetidos à hemodiálise (HD). O monitoramento das concentrações séricas mínimas (CSM) de van é utilizado como o mais preciso e prático método para se estimar sua eficácia, sendo recomendada a manutenção das CSM entre 10 e 20 µg/mL. O objetivo deste trabalho foi investigar as CSM de van de pacientes sob HD, em um período de dois anos e correlacioná-los com a concentração inibitória mínima (CIM) deste glicopeptídeo para *Staphylococcus* spp recuperados de bacteremias nestes mesmos indivíduos. As amostras recuperadas (N=80) foram testadas quanto à CIM (diluição em ágar ou caldo) de van, gentamicina (gen), oxacilina (oxa), tetraciclina (tet), rifampicina (rif), ciprofloxacino (cip), penicilina G (pen) e daptomicina (dap). Foram coletadas 101 amostras de soro de 22 pacientes em regime de administração de 1g a cada 4-5 dias, mais gen (1,5-2,0 mg/Kg) ao final de cada HD. As amostras foram coletadas antes de cada sessão de HD, nos tempos de 0, 48, 72, 96 e 120 horas após a infusão do fármaco. As CSM de van foram obtidas pelo imunoenensaio de micropartículas quimioluminescentes (CMIA). Doseamento microbiológico de van foi realizado por meio da técnica *pour-plate* com ágar sais mínimos. *S. aureus* foi a espécie mais frequentemente isolada (24%), seguida de *Staphylococcus* spp coagulase negativa (ScoN) (15%). Maiores taxas de resistência ocorreram para oxa (17% e 58%), pen (85% e 84%) e cip (26% e 45%) em *S. aureus* e ScoN, respectivamente. Das amostras de sangue coletadas, 77,8% exibiram concentrações séricas de van <10 µg/mL e considerando apenas as coletadas imediatamente antes da próxima dose de van (CSM), 90,6% também continham concentrações inferiores àquelas recomendadas para efetiva atividade antiestafilocócica. Os valores de concentrações séricas de van obtidas pelo bioensaio apresentaram ótima correlação com o CMIA (padrão ouro) ($R^2 = 0,96$), com valores estatisticamente similares ($p < 0,05$) quando aplicado o fator de correção. A prevalência de *Staphylococcus* spp resistente à oxa sustenta o uso empírico de van, contudo, a alta taxa de isolados de *S. aureus* que exibiram CIM de van de 1 µg/mL (59,5%) associada às baixas CSM de van a que são submetidos a maioria dos pacientes indica chance de falha terapêutica e seleção de cepas resistentes. Assim, uma abordagem terapêutica individualizada e monitoramento da droga devem ser considerados. Para tanto foi validado o ensaio microbiológico que, pelo baixo custo e simplicidade da técnica facilita a implementação do monitoramento de van na rotina de laboratórios clínicos de pequeno porte.

Palavras-chave: 1. Hemodiálise. 2. Bacteremia. 3. *Staphylococcus*. 4. Vancomicina. 5. Monitoramento. 6. Bioensaio.

ABSTRACT

Vancomycin (van) is empirically prescribed for the treatment of staphylococcal infections in patients undergoing hemodialysis (HD). The monitoring of the minimum serum concentration (CSM) of van is used as the most accurate and practical method to estimate its effectiveness, it is recommended that CSM be maintained between 10 and 20 mg / mL. The aim of this study was to assess the van CSM achieved in HD patients, during a period of two years and correlate them with the minimum inhibitory concentration (MIC) of this glycopeptide *Staphylococcus* spp recovered from bacteremia in these same individuals. The recovered samples (N=80) were tested for MIC (broth or agar dilution): vancomycin, gentamycin (gen), oxacillin (oxa), tetracycline (tet), rifampicin (rif), ciprofloxacin (cip), penicillin G (pen) and daptomycin (dap). Serum samples (N=101) were collected from 22 patients treated with 1g of vancomycin every 4-5 days plus gentamicin (1.5-2.0 mg/kg) at the end of each HD. The samples were collected before each hemodialysis session, in the 0, 48, 72, 96 and 120 hours after infusion of the drug. The serum concentration of van were obtained by chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA). A microbiological assay for van measurement was performed using the pour-plate technique using molten salts minimal agar. *S. aureus* was the most frequently isolated species (24%), followed by coagulase-negative staphylococci (CoNS) (15%). Higher rates of resistance occurred to oxa (17% and 58%), pen (85% and 84%) and cip (26% and 45%) in *S. aureus* and SCoN, respectively. From the samples, 77,8% had serum concentrations <10 µg/mL and considering only the samples collected immediately before the next van dose (CSM), 90.6% also contained van in concentrations lower than those recommended for effective antistaphylococcal activity. The values of serum concentrations of van obtained by bioassay showed strong correlation with the CMIA (gold standard) ($R^2 = 0.96$), with statistically similar values ($p < 0.05$) when applied to the correction factor. The prevalence of *Staphylococcus* spp oxacillin resistant supports the empirical use of van, however, there is a high rate of *S. aureus* isolates which had a van MIC of 1 µg/ml (59.5%) which associated with low C_{min} of van to which these patients are submitted indicates a higher probability of treatment failure and selection of resistant strains. An individualized therapeutic approach and monitoring of the drug should be considered. Thus, microbiological assay was validated, because of their lower cost and simplicity of the technique which facilitates the implementation of vancomycin monitoring in routine of small clinical laboratories.

Keywords: 1. Hemodialysis. 2. Bacteremia. 3. *Staphylococcus*. 4. Vancomycin. 5. Monitoring. 6. Bioassay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica das 17 unidades de assistência de alta complexidade em nefrologia habilitadas no Espírito Santo.

Figura 2 – Distribuição dos isolados de *S. aureus* (N=47) de acordo com as CIMs de van.

Figura 3 – Concentrações séricas de van determinadas pelo CMIA.

Figura 4 – CSM de van obtidas em duas semanas de monitoramento.

Figura 5 – Halos de inibição de *Bacillus subtilis* ATCC 6633, gerados pelas concentrações de van em meio agar sais mínimos (ASM) e ágar Mueller Hinton (AMH).

Figura 6 – Bioensaio de gen.

Figura 7 – Concentrações de gen em amostras de soro, obtidas na 1ª semana de monitoramento.

Figura 8 – Controle da inibição de gen pelo polianetol sulfonato de sódio (SPS).

Figura 9 - Curva padrão de van.

Figura 10 – ASM com SPS 1% inoculado com *Bacillus subtilis* ATCC 6633, mostrando halos de inibição, resultantes da presença de van nas amostras de soro.

Figura 11 – Correlação entre os métodos de quantificação das concentrações séricas de van.

Figura 12 – Reprodutibilidade dos resultados do bioensaio (meio ASM) para quantificação de van.

Figura 13 – Correlação entre os resultados do bioensaio obtidos nos meios ASM e AMH.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação e estágio da Doença Renal Crônica segundo a National Kidney Foudation.

Tabela 2 – Distribuição dos microrganismos isolados de infecções de corrente sanguínea (ICS).

Tabela 3 – Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das amostras de *S. aureus* e *Staphylococcus* Coagulase Negativo.

Tabela 4 - Distribuição das amostras de soro* de acordo com o tempo de coleta e faixas de concentração de van determinadas pelo CMIA.

Tabela 5 – Dados descritivos das CSM de van obtidas de todas as amostras coletadas imediatamente antes da próxima dose de van e da sessão de HD, durante duas semanas de terapia.

Tabela 6 – Estatística descritiva das concentrações séricas de van obtidas pelos métodos bioensaio em meio ASM e imunoensaio (CMIA).

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

AMH – Ágar Mueller Hinton
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASM – Ágar sais mínimos
AUC – Área sob a curva
CDL - Cateter duplo lúmen
CIM – Concentração inibitória mínima
cip – ciprofloxacino
C_{max} – Concentração sérica máxima
CMIA – imunoenensaio de micropartículas quimioluminescentes
CSM – Concentração (ões) sérica (s) mínima (s)
dap – daptomicina
DRC – Doença Renal Crônica
DRCT – Doença Renal Crônica Terminal
Enxerto AVG – Fístula arteriovenosa sintética
FAV - Fístula arteriovenosa nativa
FC – Farmacocinético
FC – Farmacodinâmico
FPIA – Imunoensaio por polarização fluorescente
gen – gentamicina
HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica
HD – Hemodiálise
ICS – Infecção de corrente sanguínea
oxa – oxacilina
pen – penicilina G
rif – rifampicina
SBN – Sociedade Brasileira de Nefrologia
ScoN – *Staphylococcus* spp coagulase negativo
SUS - Sistema Único de Saúde.
tet – tetraciclina
TFG – Taxa de Filtração Glomerular
TRS - Terapia Renal Substitutiva
UAACN – Unidade de Assistência em Alta Complexidade em Nefrologia

van - Vancomicina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. Doença renal crônica (DRC)	20
2.2. Terapia renal substitutiva	22
2.2.1. Contextualização da HD	22
2.2.2. Acesso vascular	26
2.3. Infecções de Corrente Sanguínea	28
2.4. Infecções em pacientes submetidos à hemodiálise	30
2.4.1. Impacto das infecções na hemodiálise	30
2.4.2. Fatores de risco	31
2.4.3. Principais patógenos Gram positivos	33
2.4.4. <i>Staphylococcus sp.</i> resistentes à meticilina	34
2.5. Terapia antimicrobiana	36
2.6. Vancomicina no tratamento de infecções por cocos Gram positivos	37
2.6.1. Considerações gerais sobre o uso da vancomicina	37
2.5.2. Monitoramento terapêutico da vancomicina	38
2.5.3. Farmacocinética (FC)/farmacodinâmica (FD) de vancomicina	39
2.5.4. Métodos de doseamento de van	42
3. OBJETIVOS	44
3.1. Geral	44
3.2. Específicos	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1. Natureza e local do estudo	45
4.2. População amostrada	45
4.3. Considerações éticas	48
4.4. Hemoculturas	48
4.5. Identificação dos <i>Staphylococcus spp.</i>	49
4.5.1. Triagem	49
4.5.2. Teste da coagulase em tubo	50
4.5.3. Teste da desoxirribonuclease (DNAse)	50
4.6. Determinação da CIM	50
4.6.1. Diluição em ágar	51

4.6.2. Microdiluição em caldo	51
4.7. Doseamento sérico de vancomicina	52
4.7.1. Coleta das amostras de soro.....	52
4.7.2. Imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA – <i>Chemiluminescent microparticle immunoassay</i>)	53
4.7.3. Bioensaio (ensaio microbiológico) para determinação das concentrações séricas de van e gen	54
4.7.3.1. Antimicrobianos	54
4.7.3.2. Microrganismo revelador	54
4.7.3.3. Meios de cultura	55
4.7.3.4. Neutralização do antimicrobiano de interferência (gentamicina)	55
4.7.3.5. Bioensaio para detecção do meio que confere maior sensibilidade ao doseamento de van	56
4.7.3.6. Bioensaio para determinação das concentrações séricas de gentamicina ..	56
4.7.3.7. Controle de inibição da gentamicina.....	57
4.7.3.8. Bioensaio de vancomicina em amostras clínicas	57
4.7.3.9. Validação do Bioensaio de vancomicina	58
4.8. Desfecho clínico dos pacientes com bacteremia por <i>S. aureus</i>	59
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
6. RESULTADOS	60
6.1. ICS e características demográficas dos pacientes	60
6.2. Identificação dos microrganismos causadores de ICS	60
6.3. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos	63
6.4. Doseamento sérico de vancomicina (imunoensaio)	65
6.5. Doseamento sérico de vancomicina (bioensaio)	69
6.5.1. Doseamento sérico de gentamicina (Bioensaio)	70
6.5.2. Controle de Inibição de gentamicina	71
6.5.3. Bioensaio de vancomicina.....	72
6.5.4. Validação.....	76
6.6. Desfecho Clínico	76
7. DISCUSSÃO	77
8. CONCLUSÕES	89
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
10. REFERÊNCIAS.....	91

11. ANEXO I.....	112
12. ANEXO II.....	114

1. INTRODUÇÃO

Os dados do inquérito da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) apontam que, no Brasil, mais de 90 mil pessoas com doença renal crônica (DRC) estavam em tratamento hemodialítico em 2013 (SESSO, et al. 2014).

As infecções representam grande impacto sobre esta população, destacando-se como a segunda causa de mortalidade, precedidas apenas pelas doenças cardiovasculares (BLOEMBERGEN, PORT, 1996; NASSAR; AYUS, 2001; UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2009; SESSO, et al. 2014). O risco anual de bacteremia em pacientes submetidos à HD varia de 7,6 a 14,4% e desses episódios 27,7 - 50% são causados por espécies de estafilococos, especialmente *S. aureus* (HOEN, et al., 1998; TOKARS, et al., 2001; TAYLOR, et al., 2002; GILAD, et al., 2005; LAFRANCE, et al., 2010). A incidência de infecções invasivas por *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) entre pacientes submetidos à HD é 100 vezes maior do que na população em geral (45,2 episódios por 1000 pacientes em diálise contra 0,2-0,4 eventos na população em geral) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007). Dada a rápida dispersão das espécies de estafilococos com reduzida susceptibilidade aos antimicrobianos beta-lactâmicos e a atraente farmacocinética da van, por décadas este fármaco tem representado papel fundamental como agente antiestafilocócico na HD (VANDECASTEELE et al., 2009).

O parâmetro farmacocinético (FC)/farmacodinâmico (FD) que melhor prediz a atividade de van contra espécies de estafilococos é a área sob a curva de concentração em 24h sobre a concentração inibitória mínima (AUC/CIM) (MOISEBRODER et al, 2004; RYBAK, et al., 2006; RYBAK, et al., 2009). Diante da necessidade de múltiplas concentrações séricas de van para se calcular a AUC/CIM, o emprego deste parâmetro FC/FD na prática clínica se torna inviável. Porém os dados de AUC/CIM são intercambiáveis com as CSM de van, sendo o monitoramento dessas concentrações empregado como indicador da eficácia deste antimicrobiano em substituição à AUC/CIM (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013; YE, LI, SUO-DI, 2014). Entretanto, nos últimos anos, duas mudanças no uso de van trouxeram um impacto importante sobre a gestão dos pacientes com insuficiência renal. Primeiro, um aumento progressivo da CIM de van para *S. aureus* ditou a necessidade de se atingir CSM mais elevadas (10-20 µg/ml) (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013), cujo alcance em pacientes com insuficiência

renal é discutível (VANDECASTEELE, DE VRIESE, 2011; MATSUMOTO, et al., 2013). Em segundo lugar, essas recomendações de doses mais elevadas de van aumentam o risco de nefrotoxicidade, especialmente importante no paciente já vulnerável (LODISE et al., 2009). Em suma, o que a literatura tem mostrado é que a nova meta de CSM de van entre 10-20 µg/ml não está sendo obtida na maioria dos pacientes em HD, e boa parte das unidades de diálise no Brasil ainda não adotaram protocolos adequando-se a essas mudanças (MARENGO, et al., 2010).

Neste cenário, o monitoramento das CSM de van deve ser parte integrante do protocolo de tratamento do paciente em terapia renal substitutiva (TRS) (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013; YE, TANG, SUO-DI, 2013) uma vez que o perfil FC diferenciado nestes indivíduos, as condições de diálise (tempo, tipo de dialisador, taxa de infusão do fármaco) e o estado clínico do mesmo (doença de base e função renal residual) dificultam o adequamento das dosagens (PALOTTA, MANLEY, 2008).

As concentrações séricas de van podem ser determinados por meio de uma variedade de metodologias cromatográficas, imunoenzimáticas e microbiológicas. Técnicas cromatográficas são rápidas e precisas, mas requerem equipamento relativamente caro e pessoal especialmente treinado. Da mesma forma, o ensaio imunoenzimático (padrão ouro para o doseamento de van) demanda acesso a sistema de análise específico, nem sempre disponível nos pequenos laboratórios. Por outro lado, o método microbiológico (bioensaio) pode ser uma alternativa útil para o monitoramento da concentração de van, especialmente em laboratórios clínicos com pouca infraestrutura (POHLOD, et al. 1984; KUREISHI, et al., 1990; HAGIHARA, et al., 2012).

De fato, o conhecimento das CSM de van que são alcançados nos pacientes em HD é fundamental para o alcance da conduta terapêutica ideal (MATSUMOTO, et al., 2013; YE, TANG, SUO-DI, 2013), mas igual relevância deve ser dada ao conhecimento do perfil de susceptibilidade da população de *S. aureus* envolvida em infecções de corrente sanguínea (ICS) nestes pacientes (JUNG, et al., 2013). A correlação entre estes dois parâmetros FC/FD é a base para os ajustes de dosagem do antimicrobiano que propiciem a redução dos agravos potenciais para estes pacientes, com conseqüente diminuição da morbi-mortalidade e internação dos

mesmos, reduzindo custos e risco de surgimento de resistência bacteriana (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, al., 2013; YE, TANG, SUO-DI, 2013).

Assim, considerando a urgência de estudos que otimizem a terapia antiestafilocócica nos pacientes em HD, foi realizado este trabalho que visou investigar as CSM de van alcançadas em pacientes em HD na região da Grande Vitória, ES, e correlacioná-los com a CIM deste glicopeptídeo para amostras de *S. aureus* isoladas de ICS deste mesmo grupo de pacientes, utilizando, comparativamente, o método microbiológico e o método imunológico para o doseamento deste antimicrobiano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doença renal crônica (DRC)

Doença renal crônica é um termo geral que descreve os distúrbios heterogêneos que afetam tanto a estrutura, como a função dos rins. Essa doença possui uma apresentação clínica variável que se deve, em parte, à sua causa, gravidade, bem como seu estágio de progressão (KDIGO, 2012).

Os rins têm muitas funções que incluem a excreção de produtos metabólitos e substâncias bioativas, gliconeogênese, regulação da produção de hemácias, do equilíbrio ácido-base, da produção da vitamina D, da pressão arterial e regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico (HERSHEL, et al., 2012).

A taxa de filtração glomerular (TFG) é um importante marcador da função renal, visto que sua atividade é reduzida após amplo dano estrutural; e na DRC grande parte das funções renais declinam de modo correspondente ao da TFG (KDIGO, 2012). A TFG normal em adultos jovens é de, aproximadamente, 120-130 mL/min por 1,73 m² e esta diminui com a idade (DAVIES, SHOCK, 1950; ROWE, et al., 1976; LINDEMAN, TOBIN, SHOCK, 1985). Assim, uma TFG <60 mL/min/1,73m², por 3 meses ou mais, independentemente do diagnóstico clínico, caracteriza a DRC (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; VASSALOTTI, et al., 2007; STEVENS, et al., 2009).

O manejo da DRC é baseado no diagnóstico clínico e identificação do estágio da doença. Essas informações permitem que a terapia seja especificamente dirigida para a causa e os processos patológicos além de orientarem o tratamento para retardar a progressão para estágios mais avançados, reduzindo o risco de complicações (ANDREW, et al., 2012).

A determinação dos estágios da DRC (tabela 1) requer a evidência de dano renal, como persistente proteinúria, principal marcador de dano renal (KEANE, EKNOYAN, 1999; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2002), combinado com a TFG, estimada a partir da concentração sérica de creatinina (KEANE, EKNOYAN 1999; NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; LEVEY, et al., 2005).

TABELA 1 – Classificação e estágio da Doença Renal Crônica segundo a National Kidney Foudation*

Estágio	Descrição	TFG (mL/min/1.73 m ²)
1	Dano Renal com TFG normal ou aumentada	≥90
2	Dano Renal com discreta diminuição da TFG	60-89
3	Moderada diminuição da TFG	30-59
4	Grave diminuição da TFG	15-29
5	Insuficiência Renal (Doença Renal Crônica Terminal)	< 15 ou diálise

* NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification, Am J Kidney Dis 2002.

O envelhecimento e aumento da expectativa de vida das populações, a crescente incidência global de diabetes, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e outras doenças crônicas não transmissíveis levaram a um aumento equivalente da prevalência da DRC em todo o mundo (JAMES, et al., 2010). Este fato, associado aos altos custos do tratamento dessa doença, constituem um problema de saúde pública mundial. Além disso, a DRC eleva o risco de doenças cardiovasculares, insuficiência renal, como também o de morte prematura (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; YACH, et al., 2004; EKNOYAN, et al., 2004; LEVEY, et al., 2005).

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) mostram que 13% da população adulta dos EUA tem DRC (CORESH, 2007). No Brasil, os números relativos aos pacientes com DRC são mais imprecisos. Estima-se que, em 2007, o numero de pessoas com taxa de filtração de glomerular <60mL/min/1.73m de superfície de corpo, aproximava-se de 15 milhões (LUGON, et al., 2009).

A consequência mais grave da DRC é a insuficiência renal ou doença renal crônica terminal (DRCT), quando os rins são incapazes de removerem os produtos metabólitos de degradação de proteínas ou de desempenharem suas funções reguladoras (KDIGO, 2012). A insuficiência renal é definida por uma TFG menor que 15 mL/min por 1,73 m², que em muitos casos é acompanhada de sinais e sintomas de uremia ou a necessidade de se iniciar a TRS (diálise peritoneal, HD ou transplante renal) (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; SMELTZER, BARE, 2011).

O monitoramento da insuficiência renal tratada por diálise e transplante é realizado por programas de vigilância em vários países inclusive no Brasil (KEPLER,

et al., 2010). A incidência da insuficiência renal em muitos países é tão alta quanto 200 casos por milhão ao ano. Nos EUA e Taiwan o número de casos se aproxima de 400 por milhão/ano, e os idosos são os mais acometidos. Como nos EUA a taxa de sobrevivência desses pacientes é de 3 a 5 anos, a prevalência é de 1752 casos por milhão. A alta sobrevivência no Japão e Taiwan se traduz em alta prevalência de 2126 e 2316 casos por milhão, respectivamente (KEPLER, et al., 2010). No Brasil, as taxas de incidência e prevalência de tratamento dialítico são de 170 e 499 casos por milhão, respectivamente (SESSO, et al., 2014).

Em 2013, no que diz respeito às doenças de base dos pacientes em diálise, causadoras de DRC, as mais frequentes foram a HAS (35%), diabetes (30%), seguidas por glomerulonefrite crônica (12%) e rins policísticos (4%) (SESSO, et al., 2014). O gasto com o programa de diálise e transplante no Brasil situa-se em torno de 1,4 bilhão de reais ao ano (ROMÃO, 2004; BASTOS, 2010).

2.2. Terapia renal substitutiva

2.2.1. Contextualização da HD

A TRS consiste em opções de tratamento para substituir as funções dos rins em pacientes com insuficiência renal crônica e aguda (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002). As TRSs disponíveis incluem a diálise (HD e diálise peritoneal) e o transplante de rim (UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2004; NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002). Apesar de bem sucedidas, gerando aumento de sobrevivência e melhora da qualidade de vida dos pacientes com DRCT, as formas dialíticas atuais de TRS têm muitas limitações que resultam, ainda, em elevada morbidade e mortalidade (HENRICH, et al., 2011).

Em relação à eficiência, o transplante renal é a forma de tratamento preferencial para os pacientes com DRCT, uma vez que restitui a função renal nativa completamente. Após o primeiro ano, essa é a modalidade com melhor relação custo benefício e, além disso, oferece melhor qualidade de vida com expectativa de sobrevivência mais elevada. Apesar de ser uma excelente opção, o transplante é limitado pela escassez de órgãos (RASTOGI, NISSENSON, 2007; FLEMING, 2011). Outro complicador é que o transplante não é indicado para pacientes que

apresentam problemas para seguir a terapia medicamentosa e sejam acometidos de comorbidades que contraindiquem a cirurgia. Adicionalmente, trata-se de um procedimento cirúrgico complexo, que demanda uma série de exames preparatórios, inclusive os de histocompatibilidade para prevenir a rejeição (RIELLA, et al., 2003; DAUGIRDAS, et al., 2008).

Diálise é definida como difusão de moléculas em solução através de uma membrana semipermeável ao longo de um gradiente de concentração eletroquímico (DEPNER, et al., 1991). Na diálise se desenvolve um processo no qual a constituição do soluto de uma solução A, é modificada pela exposição da solução A a uma segunda solução B, através de uma membrana semipermeável. De modo conceitual, a membrana semipermeável pode ser considerada como uma lâmina perfurada por orifícios ou poros. Solutos de baixo peso molecular conseguem passar através dos poros da membrana e se misturar às moléculas de água, porém solutos maiores (como as proteínas) não conseguem passar através da barreira semipermeável. Os solutos que conseguem atravessar os poros da membrana são transportados por meio de dois mecanismos diferentes: difusão e ultrafiltração, ambos os métodos requerem o sequestro de sangue em um dos lados da membrana semipermeável (DAUGIRDAS et al., 2008; FLEMING, 2011).

No *clearance* por difusão (diálise) o soluto se move para o gradiente de concentração mais baixo, a partir de áreas de alta concentração para de baixa concentração. Para passar através da membrana semipermeável o soluto deve ser de tamanho e carga adequada. A passagem de fluido através da membrana em contracorrente para o fluxo sanguíneo ocorre até que haja um equilíbrio entre as concentrações plasmáticas e do soluto dialisato. Na ultrafiltração os solutos podem passar através dos poros na membrana impulsionados pelo gradiente de pressão hidrostática ou osmóticos. Durante a ultrafiltração, não há nenhuma alteração nas concentrações de soluto; seu principal objetivo é a remoção do excesso de água corporal total (LOCATELLI, et al., 2002; FLEMING, 2011).

A TRS pode ser aplicada de forma contínua ou intermitente, usando métodos extracorpóreos, como na HD ou paracorpóreo como na diálise peritoneal (FLEMING, 2011).

Na diálise peritoneal o peritônio é adotado como membrana de diálise e ultrafiltração. O dialisato é inserido vagarosamente no espaço peritoneal e removido a intervalos variáveis, carreando consigo metabólitos nitrogenados, fluidos e eletrólitos (HENRICH, et al., 2011).

Existem vários tipos de diálise peritoneal (DP). Dada a sua simplicidade ela possibilita o tratamento do paciente em sua residência. Na diálise peritoneal ambulatorial contínua (DPAC) a mudança do líquido peritoneal é feita no decorrer do dia a cada 4-6 horas. A diálise peritoneal cíclica contínua (DPCC) é uma forma automatizada de DP que utiliza um ciclador para realizar as trocas, geralmente à noite, enquanto o paciente dorme (HENRICH, et al., 2011). Esta modalidade de diálise é contraindicada para indivíduos com peritônio inadequado em função de aderências, fibrose ou processo maligno. Adicionalmente, ao longo do tempo uma quantidade apreciável de indivíduos apresenta aumento da permeabilidade da membrana peritoneal, resultando em depuração inadequada (DAUGIRDAS et al., 2008; HENRICH, et al., 2011).

A HD é aplicável a indivíduos que estão agudamente doentes e que precisam de diálise em curto prazo (dias a semanas), como também para pacientes com DRC e DRCT que necessitam de TRS em longo prazo ou permanente. Em todo o mundo, ela auxilia na manutenção da vida de mais de um milhão de pessoas. No Brasil, estima-se que 91 mil pessoas em diálise crônica fazem tratamento por HD (SESSO, et al., 2014). Após a interrupção deste tratamento o tempo médio para morte é de 7 dias (RICH, et al., 2001). A HD tem como objetivo principal a restauração do ambiente aquoso intra e extracelular que é realizado pela função renal normal. Esta meta é alcançada por meio do transporte de solutos, como a ureia, do sangue para o dialisato e pelo transporte de solutos, tais como o bicarbonato, do dialisato para o sangue (DAUGIRDAS et al., 2008; HIMMELFARB, IKIZLER, 2010).

Dados do *U.S. Renal Data System*, 2010, mostram que 535.166 pacientes nos Estados Unidos tem doença renal terminal, destes 30% tem transplante renal funcionando, e os demais fazem tratamento dialítico, 92% com HD. No Brasil, dados do inquérito da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) sobre os pacientes com doença renal em tratamento dialítico, em julho de 2013, mostram que o número total

estimado de pacientes em diálise foi de 100.397, destes 90,8% estavam em tratamento por HD e 9,2% por diálise peritoneal (SESSO, et al., 2014).

A HD é um método terapêutico baseado na circulação extracorpórea do sangue de um paciente para trocar solutos através de um rim artificial (hemodialisador ou dialisador). Por meio dos acessos vasculares ocorre a circulação constante do sangue pelos circuitos extracorpóreos. O sangue sai do paciente, passa pelo dialisador e retorna ao paciente por uma via chamada de acesso venoso ou de efluxo de sangue (DAUGIRDAS, et al., 2008).

Por questões de logística e preocupações com o custo, há mais de quatro décadas, o tratamento de pacientes renais crônicos é realizado numa frequência de três sessões semanais com duração média de quatro horas cada sessão e, geralmente, em um ambiente ambulatorial (DAUGIRDAS et al., 2008; HIMMELFARB, IKIZLER, 2010).

A máquina de HD básica tem os seguintes componentes: membrana dialisadora ou dialisador, solução de diálise, tubos para transporte do sangue, máquina para impulsionar e monitorar o procedimento (DAUGIRDAS et al., 2008). O hemodialisador ou dialisador é frequentemente chamado de “rim artificial”. Os dialisadores têm duas importantes funções: a eliminação de solutos indesejáveis e remoção de excesso de fluídos (TAAL, et al., 2012). Os dialisadores são dispositivos de fibras ocas contendo minúsculos tubos, que possibilitam o transporte sanguíneo. Devido a sua porosidade, esses tubos funcionam como uma membrana semipermeável, que permite a passagem de fluidos, eletrólitos e toxinas (SMELTZER, BARE, 2011). A membrana dialisadora pode ser feita de celulose, celulose sintética, dentre outras. A habilidade de remover solutos e remover água é determinada pela espessura, porosidade, composição e área de superfície da membrana (DAUGIRDAS, et al., 2008; HENRICH, et al., 2011; TAAL, et al., 2012).

O dialisato ou solução de diálise é constituído por água altamente purificada acrescida de sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto, bicarbonato e dextrose em concentrações adequadas para restabelecer a homeostasia do paciente. Não estão presentes no dialisato os resíduos tóxicos de baixo peso molecular que se acumulam no sangue dos pacientes. Desta forma, o fluxo desses solutos tóxicos

provenientes do sangue para o dialisato é muito maior. Assim, o sangue é purificado ao longo do processo (DAUGIRDAS et al., 2008; FLEMMING, 2011).

2.2.2. Acesso vascular

A HD requer um acesso vascular estável à circulação sanguínea que permita a realização da diálise, que seja capaz de prover um fluxo de sangue extracorpóreo rápido, seja de fácil inserção e uso imediato. Existem três tipos principais de acessos vasculares para HD: fístula arteriovenosa nativa (FAV), fístula arteriovenosa sintética (enxerto AV) e cateter de duplo lúmen (CDL) (DAUGIRDAS, et al., 2008; HENRICH, et al., 2011).

A FAV é formada pela anastomose subcutânea de uma artéria para uma veia nativa adjacente, permitindo fluxo direto da artéria para a veia. A FAV é a forma preferida de acesso vascular nos pacientes renais crônicos, por apresentar permeabilidade e durabilidade significativamente maiores e menor taxa de complicações em cinco anos em relação aos outros métodos de acesso (DAUGIRDAS et al., 2008). A FAV deve ser realizada com bastante antecedência ao início da HD, pois requer um período de maturação de aproximadamente seis semanas para que ocorra a dilatação da artéria nutriente e da veia, sendo que às vezes pode demorar vários meses para que isso ocorra. Durante este intervalo o fluxo na fístula aumenta e a parede da veia se espessa (DAUGIRDAS, et al., 2008; UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2010; HENRICH, et al., 2011). Grande parte das FAVs (24-27%) não maturam, pois sofrem trombose ou não atingem calibre suficiente para permitir a canulação. Existe um crescente número de pacientes (idosos, diabéticos e obesos), cuja anatomia vascular dificulta a criação de FAVs funcionais (DAUGIRDAS, et al., 2008; HENRICH, et al., 2011).

No enxerto AV a anastomose entre a artéria e a veia é realizada com uma prótese tubular de material sintético. O enxerto AV provê um acesso vascular em situações nas quais a colocação de uma FAV não foi possível, ou seja, é uma opção de acesso menos eficiente do que a FAV, apresentando maiores taxas de complicações. Por outro lado, os enxertos AVs possuem vantagens como grande área de superfície, fácil canulação e menor tempo de maturação (apenas 3 semanas). Todavia, possuem maiores índices de trombose e maior risco de

infecção. Embora o enxerto AV seja uma opção de acesso menos desejável do que a FAV, apresenta vantagens em relação ao CDL. Os pacientes com enxerto AV têm infecções menos graves, morbidade mais baixa e taxas de sobrevida mais altas do que os pacientes que utilizam CDL (DAUGIRDAS, et al., 2008; HENRICH, et al., 2011; BAGDASARIAN, et al., 2012).

A maioria dos pacientes com DRC chega ao serviço de TRS com função renal muito diminuída, já em estágio 5 (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002) e quadro clínico deteriorado, necessitando iniciar o tratamento hemodialítico em caráter de urgência. Nestes pacientes, que não podem aguardar a confecção e maturação da FAV, é necessário usar para acesso vascular o CDL, que permite a realização da HD de imediato (DAUGIRDAS, et al., 2008; WEIJMER, et al., 2004; HENRICH, et al., 2011).

Nos Estados Unidos, mais de 80% da incidência de pacientes com insuficiência renal terminal iniciam o tratamento por HD com CDLs (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2011). Um levantamento de dados de unidades de diálise no Brasil estimou que o percentual de pacientes em uso de cateter venoso como acesso para a HD foi de 15,4%, destes, 6% foram de longa permanência (com *cuff*) e 9,% de curta permanência (sem *cuff*) (SESSO, et al., 2014).

Os orifícios proximais e distais dos lúmens dos cateteres são separados por pelo menos dois centímetros para reduzir a recirculação, e o desenho de duplo lúmen permite um fluxo de sangue contínuo e rápido. Existem dois tipos principais de CDL para HD: CDL sem bainha (*cuff*) e CDL com bainha (*cuff*). No Brasil, o CDL sem bainha (*cuff*) é o mais freqüentemente utilizado (FAN et al., 1992; GONÇALVES et al., 2004; ALLON, et al., 2007; DAUGIRDAS et al., 2008; SESSO et al., 2014). Os pontos para inserção dos CDLs são as veias subclávias, jugular interna ou femoral (WEIJMER, et al., 2004; DAUGIRDAS, et al., 2008; HENRICH, et al., 2011).

Apesar dos aspectos negativos do CDL, como proporcionar um fluxo de sangue menor e maiores taxas de infecção e outras complicações do que a FAV, ele é indicado freqüentemente nas seguintes situações: a) como um acesso vascular temporário, para os pacientes que necessitam iniciar a hemodiálise crônica e que

ainda não têm um acesso vascular definitivo em boas condições de uso; b) naqueles pacientes em que a FAV precisa ser substituída ou revista; c) como uma solução mais prolongada para pacientes com exaustão dos sítios de acesso vascular, ou com contra-indicações para FAV por razões médicas (por exemplo: Insuficiência cardíaca severa, isquemia severa das extremidades); d) para conforto daqueles pacientes com prognóstico muito ruim (por exemplo: muito idosos, com neoplasias); e) naqueles pacientes com insuficiência renal aguda que necessitam de alguma modalidade hemodialítica temporariamente; f) naqueles que necessitam de HD ou hemoperfusão para tratamento de overdose ou intoxicação; g) pacientes que necessitam de plasmaférese (troca do plasma); h) pacientes em diálise peritoneal cujo abdome está com alguma contra-indicação de uso, antes da inserção de um novo cateter peritoneal (por exemplo: nas peritonites); i) receptores de transplante que necessitam de HD temporária durante episódios de rejeição grave (FAN et al., 1992; AL-WAKEEL et al., 1998; CANAUD, et al., 1999; SCHWAB et al., 1999; SAXENA, et al., 2005; DAUGIRDAS et al., 2008; VIJAYAN, et al., 2009).

2.3. Infecções de Corrente Sanguínea

Bacteremia é a condição que designa a presença de bactérias em circulação na corrente sanguínea (KONEMAN, et al., 2008; ARAÚJO, 2012). Em geral, as bacteremias são causadas por um único microrganismo, porém em algumas situações são de etiologia polimicrobiana (ARAÚJO, 2012). Esse fenômeno está muitas vezes associado a um considerável aumento nas taxas de morbidade e mortalidade e representa uma importante complicação no processo infeccioso (ARAÚJO, 2012). Os sinais e sintomas de bacteremia podem estar presentes, porém são variáveis, sendo chamada de silenciosa ou subclínica a condição em que o paciente desconhece a presença do microrganismo na circulação (KONEMAN, et al., 2008). Em contrapartida, a septicemia (sepse) é uma síndrome clínica onde a resposta do organismo ao agente infeccioso se manifesta apresentando sintomas como febre, mal estar, calafrios, hiperventilação, taquicardia e toxicidade ou prostração (KONEMAN, et al., 2008; ARAÚJO, 2012). A septicemia ocorre quando a remoção das bactérias circulantes pelos fagócitos é inferior à sua taxa de multiplicação. São as toxinas microbianas e/ou citocinas produzidas e liberadas

pelas células inflamatórias que produzem os sinais e sintomas de sepse (PARRILLO, 1993).

As bacteremias podem ser classificadas em transitória, intermitente, contínua ou de escape (KONEMAN, 2008; ARAÚJO, 2012). A do tipo transitória, que em geral é causada por microrganismos da microbiota normal, que pode se ocasionada após pequeno trauma nas membranas, como ao escovar os dentes ou em procedimentos cirúrgicos envolvendo tecidos contaminados ou colonizados, como também em esforço durante os movimentos intestinais (LEFROCK, et al., 1973; ARAÚJO, 2012). A bacteremia intermitente ocorre quando as bactérias são periodicamente liberadas na corrente sanguínea a partir de um local infectado como abscessos extravasculares, peritonites ou infecções das cavidades do corpo, sendo causa frequente de febre de origem indeterminada (ARAÚJO, 2012; KONEMAN, 2008). A bacteremia contínua normalmente ocorre quando a infecção é intravascular, onde a origem pode ser o endotélio infectado (aneurismas ou endocardite bacteriana) ou dispositivo infectado (fístulas arteriovenosas, cateteres intra-arteriais e venosos, ou cânulas de demora) (ARAÚJO, 2012; KONEMAN, 2008). A bacteremia de escape (“breakthrough”) caracteriza-se por hemoculturas positivas em pacientes que receberam, nas últimas 24 horas, adequada terapia antimicrobiana para microrganismo susceptível na dose e via de administração recomendadas. Quando ocorre no início da terapêutica, geralmente deve-se a baixas concentrações do antimicrobiano atingidas na corrente sanguínea. Já os episódios de escape que ocorrem tardiamente geralmente são ocasionados por drenagem inadequada do foco infeccioso ou por debilidade das defesas do hospedeiro (LOPEZ, et al., 2005; ARAÚJO, 2012).

Hemoculturas positivas para microrganismos patogênicos são indicadores altamente específicos de ICS, embora ainda não exista um padrão-ouro para o diagnóstico de tais infecções. Os métodos em uso requerem de horas a dias de incubação e não há um sistema comercial ou meio de cultivo que permita a detecção de todos os potenciais patógenos (ARAÚJO, 2012). Em caso de suspeita de bacteremia, devem ser realizadas duas ou três hemoculturas. As coletas devem ser realizadas antes da administração do antimicrobiano, da seguinte forma: uma ou duas coletas de amostras de sangue periférico e mais uma coleta de sangue obtido do CHD. Contudo, em casos em que o sangue não puder ser colhido de veias

periféricas, as amostras podem ser colhidas do cateter de HD ou dos tubos de circulação extracorpórea da máquina de HD, respeitando-se um intervalo de 10 a 15 minutos entre as coletas. (NASSAR; AYUS, 2001; O'GRADY et al., 2002; ALLON, 2007; DAUGIRDAS, et al., 2008).

2.4. Infecções em pacientes submetidos à hemodiálise

2.4.1. Impacto das infecções na hemodiálise

As infecções continuam a produzir um forte impacto sobre os pacientes submetidos à HD, destacando-se como a segunda causa de mortalidade nessa população, precedidas apenas pelas doenças cardiovasculares (BLOEMBERGEN, et al., 1996; NASSAR; AYUS, 2001; UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2009).

De acordo com censo da SBN, em 2008, as principais causas de óbito dos pacientes com doença renal em estágio terminal submetidos à diálise foram as doenças cardiovasculares em 36,9%, infecciosas em 26%, cerebrovasculares em 9,9%, outras causas em 21,2%, e causas desconhecidas em 6% dos casos (SESSO et al., 2008). Adicionalmente, as infecções se destacam como principal causa de admissões hospitalares. No Brasil, a taxa de hospitalização mensal foi de 5,8% nas amostras avaliadas em julho de 2013 (SESSO, et al., 2014). Nos EUA, em 2010, a taxa anual de hospitalizações por bacteremia ou septicemia entre pacientes dialíticos foi de 116 admissões/1000 pacientes/ano, o que representa um aumento de 51% desde 1993 (COLLINS, et al., 2013).

Conforme dados da *Dialysis Surveillance Network*, mensalmente, 3,2% dos pacientes submetidos à HD tem um episódio de infecção associado ao acesso de diálise (TOKARS, et al., 2002). Notavelmente, as infecções são associadas a custos excessivos para ambos, pacientes e hospitais (GREINER, et al., 2007).

2.4.2. Fatores de risco

A população de pacientes com DRCT é caracterizada pela idade avançada e uma grande taxa de comorbidades como diabetes e hipoalbuminemia (UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2007; GO, et al., 2004) e isto está associado a um grande risco de infecções agudas (ALLON, et al., 2003). No Brasil, 31,5 % dos pacientes em diálise são idosos, com idade ≥ 65 anos (SESSO, et al., 2014). Em 2013, no que diz respeito ao diagnóstico da doença renal primária, as principais doenças de base encontradas foram HAS (35%), diabetes (30%) e 15% dos pacientes apresentavam concentração sérica de albumina $< 3,5$ g/dl (SESSO, et al., 2014).

A função do sistema imunológico declina com a idade, por isso os idosos estão mais sujeitos à infecção (WICK, GRUBECK-LOEBENSTEIN, 1997; LEMAULT, SZABO, WEKSLER, 1997). O diabetes é um fator de risco para infecção, pois compromete os mecanismos de defesa imunológico e traz prejuízo à função fagocítica (CARTON, et al., 1992). Baixas concentrações séricas de albumina podem representar nutrição proteica deficiente do paciente o que induz a imunossupressão caracterizada por debilitada produção de anticorpos e inibição da capacidade fagocítica (MATTERN, et al., 1982; CHANDRA, et al., 1983).

De maneira geral, em pacientes com insuficiência renal ocorrem alterações na resposta imunológica, com modificações na função dos neutrófilos, diminuição da capacidade de fagocitose, depressão da atividade das células *natural killer*, e alterações nas funções das células T e B trazendo prejuízo à resposta imune do hospedeiro frente a infecções (HAAG-WEBER, HORL, 1996; COHEN, HAAG-WEBER, HORL, 1997; MINNAGANTI, CUNHA, 2001).

A susceptibilidade de indivíduos com insuficiência renal em estágio terminal a infecções se deve, em parte, ao estado de imunodeficiência associada à uremia.. Em condições urêmicas os neutrófilos apresentam quimiotaxia deficiente, comprometimento das funções fagocitárias, degranulação e explosão respiratória anormal, como também desregulação da apoptose (LEWIS, VAN, 1987; HÖRL, et al., 1999; CENDOROGLO, et al., 1999; JABER, et al., 2001). Outros fatores estão envolvidos na disfunção dos neutrófilos: desnutrição, sobrecarga de ferro, metabolismo debilitado da glicose, hiperparatiroidismo, a própria diálise e a retenção

de solutos urêmicos. (VANHOLDER, et al., 1991; CHERVU, et al., 1992; PATRUTA, et al., 1998; HÖRL, et al., 1999).

Outro importante fator de risco para infecções é a reuso de membranas de HD, principalmente devido a falhas na esterilização ou no armazenamento dos dialisadores. Powe e colaboradores, 1999, avaliaram a relação entre a reutilização de membranas em pacientes submetidos à HD e o risco de septicemia. Neste estudo concluiu-se que os indivíduos que faziam reuso das membranas apresentavam um risco 28% maior de septicemia do que aqueles que não o faziam.

O acesso vascular permanece como o ponto mais vulnerável à infecção no paciente em tratamento hemodialítico, em função da interrupção da barreira cutânea, que ocorre nas repetidas puncões em FAVs, ou com o uso de cateteres (VANHOLDER, et al., 1993).

As FAVs apresentam menor risco de infecção, seguidas, em ordem crescente de risco, por enxertos AV e CDL (VASCULAR ACCESS, 2006). Entretanto, na maioria dos centros de diálise a menor parte dos pacientes tem FAVs funcionais (HENRICH, et al., 2011).

Quando em uso de CDLs, os pacientes submetidos à HD correm um risco relativo de bacteremia sete vezes maior do que os com FAV (HOEN, et al., 1998). Os CDLs tunelizados (com *cuff*) estão relacionados a um menor risco de infecção do que os não tunelizados (sem *cuff*), devido à implantação de um túnel subcutâneo, de pelo menos 10 cm, entre o local de inserção vascular e o local de saída cutânea, inibindo a migração de microrganismos pelo cateter (WEIJMER, et al., 2004; UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2010; BETJES, et al., 2011). A invasão de microrganismos na corrente sanguínea pode ocorrer por duas rotas principais: via extraluminal e intraluminal (CHEESBROUGH, et al., 1986). A rota extraluminal envolve o contato direto entre a microbiota cutânea do paciente e a superfície do cateter, seja no momento da inserção ou antes da completa cicatrização do local de saída e da endotelização do túnel subcutâneo (no caso dos cateteres tunelizados – com *cuff*). Isto permite a colonização e a migração de bactérias da pele pelo ponto de inserção, descendo pela superfície externa do cateter até alcançar a corrente sanguínea (CHEESBROUGH, et al., 1986; HENRICH, et al., 2011). A via de infecção

intraluminal envolve a transferência de microrganismos através do contato das mãos contaminadas de indivíduos que manipulam o cateter, principalmente profissionais de saúde, para a luz ou tampa do cateter, resultando em contaminação da superfície interna destes (WEIJMER, et al., 2004; HENRICH, et al., 2011). Independentemente da via de inoculação, o risco de infecção cresce com a permanência do cateter (WEIJMER, et al., 2004).

O percentual de pacientes que recebem diálise via CDLs pode influenciar a incidência de infecções da corrente sanguínea em clínicas de tratamento de diálise (VASCULAR ACCESS, 2006). Segundo observações de Taylor e colaboradores, 1998, o aumento na taxa de bacteremias relacionadas à hemodiálise cresce em paralelo com o crescimento do uso do CDLs como forma de acesso em torno de 30-40%.

2.4.3. Principais patógenos Gram positivos

A ocorrência de bacteremia por cocos Gram positivos é relativamente comum em pacientes submetidos à HD (ABBOTT, AGODOA, 2001; TAYLOR et al. 2002). Em geral, o *Staphylococcus aureus* é o microrganismo mais comumente identificado em bacteremias relacionadas ao cateter, respondendo por 22-42,5% dessas infecções (DOPIRAK, et al., 2002; GILAD, et al., 2005; KLEVENS, et al., 2008; LAFRANCE, et al., 2010). Uma elevada taxa de mortalidade e morbidade tem sido vinculada à infecção por *S. aureus* (GREINER, et al., 2007). Alta incidência de complicações secundárias, incluindo endocardite infecciosa, osteomielite, artrite séptica, abscesso epidural e infecção dos dispositivos intravasculares, tem sido associada com bacteremia por este microrganismo (MARR, et al., 1998; ENGEMANN, et al., 2005; INRIG, et al. 2006). Além disso, os casos de bacteremia por *S. aureus* estão associados a um grande percentual de recorrência (14.5-44%) (NASSAR; AYUS, 2001).

Os estafilococos coagulase negativo (S_{co}N), que comumente colonizam a pele humana, seguem também como um dos mais comuns microrganismos isolados de bacteremias nos laboratórios de microbiologia clínica, contabilizando 9-30% das espécies isoladas (TOKARS, et al., 2001; DOPIRAK, et al., 2002; GILAD, et al.,

2005). Pacientes com dispositivos protéticos, cateteres intravasculares e outros corpos estranhos correm um risco adicional de infecções por ScoN. As espécies de ScoN aparecem como cepas de grande potencial patogênico e de resistência aos antimicrobianos (SCHWALBE, STAPLETON, GILLIGAN, 1987; RICHARDS, et al. 1999; HUSSAIN, et al., 2000). A resistência à meticilina e a outras penicilinas semissintéticas se mostra disseminada entre os ScoN, além de relatos de reduzida susceptibilidade à van (SCHWALBE, STAPLETON, GILLIGAN, 1987; RICHARDS, et al., 1999).

Outros microrganismos que também contribuem com um importante percentual nas bacteremias nos pacientes em tratamento hemodialítico são os enterococos (9-13%) (DOPIRAK, et al., 2002; TAYLOR, et al. 2004). Em menor frequência de gêneros, ocorrem os bacilos Gram negativos (21-30%), geralmente como contaminantes da água utilizada para a HD. (DOPIRAK, et al., 2002; KLEVENS; et al., 2008; LAFRANCE et al., 2008).

O conhecimento prévio dos principais microrganismos que contribuem para os episódios de bacteriemia permite um melhor direcionamento da terapia empírica, reduzindo o uso dos antimicrobianos e minimizando o risco de desenvolvimento de resistência (HENDERSON, et al., 2006).

2.4.4. *Staphylococcus sp.* resistentes à meticilina

Face à probabilidade de repetida admissão hospitalar, cirurgia para implantação do acesso vascular, punção frequente do local do acesso vascular, e alta prevalência de colonização por MRSA, os pacientes em HD são particularmente vulneráveis a infecções por MRSA (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007; PATEL, et al., 2010). O risco anual de infecções invasivas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em pacientes submetidos à HD é 100 vezes maior do que na população não dialítica (45,2/1000 contra 0,2-0,4 eventos por 1.000) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007).

Transferido horizontalmente, o gene *mecA* codifica uma proteína de ligação à penicilina alterada (PBP2a) que tem uma baixa afinidade de ligação aos antimicrobianos β -lactâmicos (LOWY, et al., 2003). A hiperprodução de β -

lactamases também foi descrita como mecanismo de resistência à metilina, ainda que a maior frequência de resistência seja mediada pelo gene *mecA* (JARLOV, BUSCH-SORENSEN, ESPERSEN, 1997).

Uma análise publicada em 2011 concluiu que pacientes portadores nasais de MRSA, submetidos à HD, tem risco de morte relacionada a infecções 4,99 maior do que os não portadores (LAI, et al., 2011). De fato, a tipagem molecular sugere que a colonização nasal por cepas MRSA precede a infecção clínica (LU, et al., 2008).

Os pacientes dialíticos respondem por cerca de 15% de todas as infecções invasivas por MRSA (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007). Reed e colaboradores (2005) relataram que bacteremias por MRSA, quando comparadas às bacteremias por *Staphylococcus aureus* sensíveis à metilina (MSSA) implicam em maior mortalidade, aumento do tempo de internação hospitalar e aumento dos custos. Em contrapartida, Soriano e colaboradores, 2000, não encontraram nenhum aumento do risco de mortalidade relacionado à infecções por MRSA, em um grande estudo coorte com 908 episódios consecutivos de bacteremia por *S. aureus*.

Outro fator que tem sido associado à eficácia do tratamento de infecções estafilocócicas é a CIM de van. Diversos autores tem relatado que indivíduos dialíticos infectados por cepas MRSA correm grande risco de morte quando estes microrganismos apresentam CIM para van acima de 1µg/mL (SAKOULAS, et al., 2004; HIDAYAT, et al., 2006; MACLAYTON, et al., 2006).

São denominadas como *S. aureus* com resistência intermediária à van (VISA) cepas MRSA com CIM de van entre 4 e 8 µg/mL (CLSI, 2014). Mesmo quando elevadas CSM de van são alcançadas (20 µg/mL), infecções por essas cepas VISA elevam o risco de falha terapêutica (LEONARD, RYBAK, 2009; WERTH, et al., 2014). Além disso, cerca de 11% das cepas MRSA, com CIM dentro do intervalo de susceptibilidade à van (≤ 2 µg/mL), contém subpopulações com susceptibilidade reduzida à van (VISA heterogênea ou hVISA), e estas não são notadas na rotina laboratorial (JONES, et al., 2006; TENOVER; MOELLERING, 2007; COSGROVE, FOWLER, 2008).

2.5. Terapia antimicrobiana

A escolha inicial dos antimicrobianos para o tratamento de bacteremias relacionadas ao cateter é empírica e requer o conhecimento prévio dos microrganismos prevalentes na unidade de diálise e seu padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos (NASSAR; AYUS, 2001; ALLON, 2007). Dessa forma, após apropriada coleta das culturas deve ser iniciada terapia com antimicrobianos sistêmicos e de amplo espectro (BEATHARD; URBANES, 2008). Contudo, a terapia antimicrobiana subsequente deve ser ajustada de acordo com os resultados microbiológicos e mantida por pelo menos três semanas (NASSAR; AYUS, 2001; ALLON, et al., 2007; DAUGIRDAS, et al., 2008; BEATHARD; URBANES, 2008).

Uma vez que as bactérias Gram positivas são responsáveis por cerca de dois terços das bacteremias relacionadas ao acesso de HD, quando há suspeita de que este é fonte de febre, a terapia antimicrobiana insituida deve abranger esses microrganismos, incluindo *S. aureus* sensível a meticilina (KESSLER, et al., 1993; MARR, et al., 1998; NASSAR; AYUS, 2000). A terapia antimicrobiana deve cobrir também *Enterococcus* e organismos Gram-negativos pois representam a maior dos demais microrganismos causadores de bacteremia. Em unidades de HD onde sejam frequentes as infecções causadas por *S. aureus* resistentes à meticilina a van deverá ser incluída na escolha inicial de antimicrobianos (ALLON, 2007). Para seleção rotineira dos antimicrobianos também devem ser consideradas suas propriedades farmacocinéticas, sendo preferíveis aqueles que permitem ou facilitem a dosagem e aplicação após cada sessão de HD, que geralmente é feita em dias alternados, três vezes por semana (DAUGIRDAS, et al., 2008). Sendo assim, é recomendado que a terapia antimicrobiana sistêmica empírica para pacientes em HD com suspeita de bacteremia relacionada ao uso do cateter deve empregar van como antimicrobiano de primeira escolha para cobertura de cocos Gram positivos (ALLON, et al., 2007) associada a um aminoglicosídeo ou uma cefalosporina de terceira geração para ampla cobertura de bacilos Gram negativos, sendo que as propriedades farmacocinéticas desses dois últimos agentes antimicrobianos permitem a sua administração três vezes por semana após cada sessão de HD (FELDMAN, et al., 2007; ALLON, et al., 2009). O perfil de microrganismos presentes em cada unidade de tratamento guiará a escolha da terapia empírica inicial (ALLON, 2007). Caso as hemoculturas iniciais sejam negativas, se não existir nenhuma fonte

identificada de infecção ou se os sinais e sintomas da bacteremia se resolveram o tratamento antimicrobiano sistêmico empírico deve ser interrompido (MERMEL, et al., 2009).

2.6. Vancomicina no tratamento de infecções por cocos Gram positivos

2.6.1. Considerações gerais sobre o uso da vancomicina

Como os pacientes em HD são de alto risco para a infecção por MRSA invasivo, a van é muitas vezes empiricamente administrada até que os resultados da cultura sejam disponibilizados (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007).

A van foi introduzida na prática clínica em 1958, empregada inicialmente como uma alternativa a penicilinas para tratar infecções por cepas de *S. aureus* produtoras de penicilinases (MACGOWAN, et al., 1998; SONG, et al. 2004; MURRAY; NANNINI, 2010). No entanto, alguns anos mais tarde, o uso da van no tratamento de infecções por *S. aureus* foi refreado, reservado a pacientes alérgicos a β -lactâmicos. Isto foi resultado do desenvolvimento de novos β -lactâmicos penicilinase-resistentes, como a meticilina e cefalotina e em razão dos frequentes efeitos colaterais e alta toxicidade observados na formulação inicial da van (MATZKE; ZHANEL; GUAY, 1986; LEVINE, et al., 2006; MURRAY, NANNINI, 2010).

Com a emergência mundial de cepas MRSA em 1961 (LOWY, et al., 2003), juntamente com a elucidação do perfil farmacocinético e a obtenção de preparações mais puras, a van teve seu uso difundido, sendo hoje o antimicrobiano mais utilizado nos Estados Unidos para o tratamento de infecções graves envolvendo MRSA (GRIFFITH, et al., 1981; MOELLERING, FISHMAN, 2006; RYBAK et al., 2009; KIM, et al., 2010).

O principal mecanismo de ação da van consiste em inibir a síntese da parede celular em seus estágios finais e afeta, desta forma, a divisão bacteriana (RUBINSTEIN, KEYNAN, 2014). Os alvos da sua atividade são os aminoácidos terminais dos pentapeptídeos da mureína, que compõem o peptidoglicano. Os monômeros de mureína são adicionados ao peptidoglicano por transglicosilação seguido de transpeptidação. A van liga-se firmemente à extremidade terminal D-ala-

D-ala dos pentapeptídeos e este complexo leva à uma alteração conformacional que bloqueia a transglicosilase, impedindo a incorporação dos monômeros de mureína à cadeia de peptidoglicano em crescimento, interrompendo a síntese da parede celular com posterior morte bacteriana (WATANAKUNAKORN, et al., 1984; BRYSKIER, et al., 2005; GOLAN, et al., 2009; MURRAY, NANNINI, 2010; RUBINSTEIN, KEYNAN, 2014).

O espectro antimicrobiano de van inclui muitos cocos e bacilos Gram positivos aeróbicos como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, bem como, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Bacillus spp*, *Clostridium spp* e Gram positivos orais anaeróbios. Raras exceções de organismos como os enterococos se tornaram resistentes à van, principalmente o *Enterococcus faecium* (RUBINSTEIN; KEYNAN, 2014). Este fenótipo de resistência é resultado da alteração dos resíduos D-Ala-D-Ala na extremidade dos pentapeptídeos da mureína para D-Ala-D-Lac, diminuindo fortemente a afinidade de ligação da van (VANDECASTEELE et al., 2009). Em *S. aureus*, tem sido observado constante aumento da CIM de van, com a emergência de *S. aureus* vancomicina-intermediário (VISA) e vancomicina-resistente (VRSA) (VANDECASTEELE et al., 2009). *S. aureus* com CIM de van >2 e <16 $\mu\text{g/ml}$ são definidos como VISA. Esta reduzida sensibilidade à van é causada por um espessamento progressivo da camada de peptidoglicano da parede de bactérias Gram positivo (VANDECASTEELE, et al., 2009; HOWDEN, et al., 2010).

2.5.2. Monitoramento terapêutico da vancomicina

Comparada com outros agentes antimicrobianos, a van possui um estreito intervalo terapêutico. De um lado, concentrações subterapêuticas de van têm sido associadas ao risco de falha terapêutica (VANDECASTEELE, et al., 2010) e desenvolvimento de cepas VISA (HIRAMATSU, et al., 2001; LIU, et al., 2003). Por outro lado, a administração de concentrações supraterapêuticas deste antimicrobiano relacionam-se ao risco de nefrotoxicidade (LODISE, et al., 2009; MERGENHAGEN, et al., 2014) e ototoxicidade (DARKO, et al., 2003). O monitoramento terapêutico da van é, portanto, fundamental para reduzir o potencial de toxicidade e maximizar sua eficácia no tratamento de infecções por

microrganismo Gram positivos (CANTÚ, YAMANAKA-YUEN, LIETMAN, 1994; RYBAK, et al., 2009; YE; TANG; SUO-DI, 2013).

No monitoramento terapêutico de van as CSM devem ser medidas e avaliadas a partir do estado estacionário da concentração do fármaco (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013).

Há indicação de monitoramento terapêutico para pacientes que, possivelmente, receberão curso terapêutico de van por mais de 3 dias (MATSUMOTO, et al., 2013). O monitoramento deve ser planejado desde o início da terapia em pacientes que recebem altas doses deste antimicrobiano, com alto risco de nefrotoxicidade, infecções graves, função renal instável, HD (RYBAK, et al., 2009; VANDECASTEELE, et al., 2010; PRITCHARD, et al., 2010; WONG-BERINGER, et al., 2011; MATSUMOTO, et al., 2013), obesidade (NUNN, et al., 2011), baixo peso e em condições especiais que causem flutuação do volume de distribuição (MATSUMOTO, et al., 2013).

Os médicos devem orientar a frequência do monitoramento terapêutico da van quando forem desejadas que as CSM sejam mantidas no intervalo de 15-20 µg/mL. Em pacientes hemodinamicamente estáveis recomenda-se acompanhamento uma vez por semana. Entretanto monitoramento mais frequente ou diário deverá ser realizado em indivíduos doentes hemodinamicamente instáveis (RYBAK, et al., 2009).

2.5.3. Farmacocinética (FC)/farmacodinâmica (FD) de vancomicina

No trato gastrointestinal íntegro a biodisponibilidade da van é praticamente inexistente. Na terapia parenteral o seu uso terapêutico é restrito à administração intravenosa (MATZKE, ZHANEL, GUAYDR, 1986; BRYSKIER, et al., 2005; BRUNTON, LAZO, PARKER, et al., 2010).

A van é eliminada, primariamente, por via renal, sendo 80-90% do fármaco excretado na forma inalterada na urina, dentro de 24h em pacientes com função renal normal (MATZKE, ZHANEL, GUAY, 1986; RYBAK et al., 2009). Sua meia-vida de eliminação sérica é de cerca de 6 horas em pacientes com função renal normal (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2010). A depuração de van diminui de forma linear

com a depuração de creatinina e filtração glomerular (MATZKE, et al., 1984; PEA, et al., 2009), resultando numa longa meia-vida, de 100-200 horas, em caso de comprometimento da função renal. Neste caso, torna-se necessário o ajuste de dose e monitoramento dos níveis séricos (BRUNTON, LAZO, PARKER, 2010; VANDECASTEELE, DE VRIESE, 2010).

Uma pequena fração do fármaco tem depuração extra renal, possivelmente hepática. Isto leva à formação de produtos cristalinos degenerados de van (FOLLIN, et al., 1996).

A van é distribuída na maioria dos sítios corporais, embora a penetração em vários tecidos seja baixa e dependente do grau de inflamação local. A penetração de van no líquido cefalorraquidiano de pacientes com meninges íntegras é relativamente baixa (intervalo de 0–3,45 mg/L). Porém, o processo inflamatório nas meninges melhora a penetração de van no sistema nervoso central, em concentrações de 6,4–11,1 mg/L (COOPER, GIVEN, 1986; ALBANESE et al., 2000).

Não obstante, muitos estudos tenham mostrado que é moderada a ligação de van às proteínas plasmáticas ($\leq 50\%$), algumas avaliações *in vitro* demonstraram que, na presença de albumina, há um aumento da CIM de 1 a 8, ao passo que na presença de soro o efeito é mais variável. Apesar de limitações, como fraca penetração tecidual, efeito bactericida relativamente lento, e potencial para toxicidade, a van continua sendo considerada o padrão ouro no tratamento de infecções por MRSA, devido a seu baixo custo e resposta clínica estabelecida (LAMP, et al., 1992; STANLEY, et al., 1994; LAPLANTE, RYBAK, 2004).

O parâmetro FC/FD que melhor prediz a atividade e toxicidade de van contra espécies de estafilococos é a área sob a curva de concentração em 24h sobre a CIM (AUC/CIM) (MOISE-BRODER et al., 2004; RYBAK, et. al., 2006; RYBAK, 2009).

Diversos pesquisadores defendem uma AUC/CIM ≥ 400 como alvo terapêutico recomendado para se alcançar efetividade terapêutica com van. Para um isolado de *S. aureus* com uma CIM de 1 $\mu\text{g/mL}$ para van, a CSM deste antibiótico deveria ser de 15 $\mu\text{g/mL}$ para gerar uma AUC/CIM de 400 (RYBAK et al., 2009). A obtenção de múltiplas concentrações séricas de van para se determinar AUC e,

subsequentemente, a AUC/CIM dificulta o uso deste parâmetro na rotina clínica. Entretanto, existe uma boa correlação entre a exposição total de van, dada pela AUC/CIM, e as CSM deste antimicrobiano. Assim, o monitoramento das CSM de van é recomendado como a ferramenta mais precisa e prática, no cenário terapêutico, para se estimar a eficácia deste fármaco (LODISE et al., 2009; RYBAK et al., 2009).

CSM é a menor concentração que o fármaco atinge antes de sua próxima dose, assim, as CSM de van são obtidas a partir de amostras coletadas imediatamente antes da administração da dose subsequente de van, no início da condição de estado estacionário (JEFFRES, et al., 2006; NEELY, et al., 2014; RYBAK, et al., 2009). A condição de estado estacionário é obtida justamente depois da terceira dose em pessoas com função renal normal (JEFFRES, et al., 2006; RYBAK, et al., 2009; NEELY, et al., 2014). O alcance do estado estacionário é mais demorado em pacientes submetidos à HD, e embora não existam evidências do tempo adequado para iniciar o monitoramento das CSM nestes pacientes, é recomendado que seja realizado dentro de uma semana após a infusão da van (MATSUMOTO, et al., 2013).

Embora van seja utilizada há mais de cinco décadas, sua estreita faixa terapêutica só se tornou conhecida nos últimos anos (RYBAK et al., 2009; VANDECASTEELE, et al., 2011). Até recentemente, as CSM de van recomendadas se encontravam no intervalo de 5-20 µg/mL (ARIANO, et al., 2005). Entretanto, uma progressiva redução na susceptibilidade à van em cepas de *S.aureus*, caracterizada pelo aumento da CIM, tem sido descrita em pacientes com bacteremias por MRSA e com exposição recente à este fármaco (GARNIER, et al., 2006; TENOVER; MOELLERING, 2007; LODISE, et al., 2008). A ocorrência de um número cada vez maior de estafilococos com CIM entre 1 e 2 µg/mL tem levado a falhas terapêuticas, incluindo recidivas e morte (SORIANO, et al., 2008; LODISE, et al., 2008; MUSTA, 2009; YOON, et al., 2010; TAKESUE, et al., 2010; CHOI, et al., 2011).

Estudos mostram que subdosagens de van, que resultam em CSM $\leq 10\mu\text{g/mL}$, estão associadas a riscos de falha terapêutica, o que pode promover o aparecimento de resistência à van (HOWDEN, et al., 2004; SAKOULAS, et al., 2006). Além disso, parece haver uma ligação entre uma prolongada exposição a baixas concentrações séricas de van e o surgimento de cepas VISA e hVISA (SAKOULAS, et al., 2006). Em contrapartida, doses elevadas deste fármaco aumentam, substancialmente, o

risco de nefrotoxicidade, especialmente importante em pacientes com insuficiência renal preexistente (VANDECASTEELE, et al., 2010), podendo afetar a função renal residual em pacientes sob HD. Perda auditiva induzida por van tem sido relatada em até 12% dos pacientes tratados com o fármaco, especialmente em idosos (FOROUZESH, MOISE, SAKOULAS, 2009).

Diante destas observações, um consenso de diretrizes para o monitoramento terapêutico de van foi publicado em 2009 pela *American Society of Hospital Pharmacists*, *Infectious Diseases Society of America*, e *Society of Infectious Disease Pharmacists*, onde são recomendadas maiores dosagens de van, de forma a se manter CSM ≥ 10 $\mu\text{g/mL}$ para evitar o desenvolvimento de resistência e, preferencialmente, ≥ 15 $\mu\text{g/mL}$ em infecções por patógenos com CIM >1 , gerando uma AUC >400 (RYBAK, et al., 2009). Para infecções complicadas por *S. aureus*, como bacteremias, osteomielites e meningites, são veementemente recomendadas CSM de van entre 15-20 $\mu\text{g/mL}$ para obtenção de sucesso terapêutico (RYBAK et al., 2009, MATSUMOTO, et al., 2013).

2.5.4. Métodos de doseamento de van

Para um acompanhamento eficiente da terapia antimicrobiana empírica do paciente em HD, as CSM de van devem ser rapidamente disponibilizadas para os médicos. Assim, a técnica para o doseamento do fármaco deve ser de fácil execução pelo laboratório clínico. O doseamento de agentes antimicrobianos tem sido realizado por meio de uma variedade de metodologias cromatográficas, imunoenzimáticas e microbiológicas (KUREISHI et al., 1990; KOHLHEPP, et al., 1998; TEIXEIRA, et al., 2000). Técnicas cromatográficas são rápidas e precisas, mas requerem equipamento relativamente caro e pessoal especializado. Da mesma forma, ensaios imunoenzimáticos requerem acesso a sistemas de análise específicos, muitas vezes não disponíveis na rotina laboratorial. O método microbiológico (bioensaio), por outro lado, é o que mais se aproxima da realidade dos laboratórios clínicos de pequeno porte (POHLOD, et al. 1984; KUREISHI, et al., 1990).

O método microbiológico se fundamenta na difusão do antimicrobiano em um meio de cultura sólido inoculado com um microrganismo padrão. Do processo de

difusão, resulta um halo de inibição do crescimento do microrganismo. O diâmetro deste halo é uma função da concentração do antimicrobiano e pode ser expresso como uma relação linear entre o diâmetro do halo e o logaritmo da concentração. A principal limitação do método é a interferência de antimicrobianos administrados em associação com a van. Nestes casos torna-se fundamental o emprego de técnicas para a neutralização dos fármacos de interferência. Beta-lactâmicos como a ceftazidima podem ser inibidos pela adição de beta-lactamases, enquanto a gen é neutralizada pela adição de SPS que é bem conhecido como agente anticoagulante, antifagocítico e anticomplementar, sendo utilizado para neutralizar a atividade de aminoglicosídeos (EDBERG, et al., 1976; LORIAN, et al., 2005).

O método automatizado CMIA é considerado o teste padrão-ouro para o doseamento de van. Este método apresenta rapidez, boa sensibilidade e ausência de necessidade de se inibir outros antimicrobianos. Porém é um método caro, comparado ao bioensaio, e alguns estudos indicam a existência de um metabólito inativo da van que não é distinguido no imunoensaio, podendo superestimar os valores obtidos (ANNE, et al., 1989; LORIAN, et al., 2005;). A correlação entre bioensaio e o imunoensaio é alta, como descrito por Pohlod e colaboradores, 1984. Outro método para determinação de níveis séricos de van é a cromatografia líquida de alta eficiência, que apresenta maior sensibilidade e precisão. O elevado custo do equipamento, e a necessidade de pessoal treinado para operá-lo impossibilitam seu uso na rotina (HAGIHARA, et al., 2012).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Investigar as concentrações séricas mínimas de vancomicina alcançadas em pacientes atendidos em unidades de hemodiálise da Grande Vitória, ES, comparando duas metodologias disponíveis para o doseamento deste antimicrobiano, e correlacioná-los com a CIM de vancomicina para amostras de *Staphylococcus* spp recuperadas de infecções de corrente sanguínea dos mesmos pacientes.

3.2. Específicos

Investigar a participação de *Staphylococcus* spp em infecções de corrente sanguínea nos pacientes em tratamento de hemodiálise em unidades de hemodiálise na Grande Vitória, ES.

Determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de uso na rotina clínica para as amostras de *Staphylococcus* spp, recuperadas das infecções de corrente sanguínea dos pacientes em estudo.

Realizar o doseamento de vancomicina em amostras de soro dos pacientes em estudo aplicando o imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA).

Validar um ensaio microbiológico (bioensaio) como método alternativo para o doseamento de vancomina em amostras de soro humano.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Natureza e local do estudo

Trata-se de um estudo longitudinal, prospectivo, descritivo e analítico de ICS por *Staphylococcus* spp e das concentrações séricas de van em pacientes com DRCT (TFG <15 mL/min/1.73 m²) em tratamento hemodialítico e em uso de van em três Unidades de Assistência de Alta Complexidade em Nefrologia (UAACN) situadas na Grande Vitória, ES. Descreve-se neste estudo o perfil de susceptibilidade de *Staphylococcus* spp aos principais antimicrobianos utilizados na rotina clínica, bem como as concentrações séricas de van, o principal fármaco utilizado na terapia empírica destas ICS. Além disso, é feita uma análise comparativa entre o método padrão ouro para o doseamento de van em amostra de soro e um método microbiológico alternativo.

4.2. População amostrada

Foram incluídos no estudo todos os pacientes que apresentaram sinais e sintomas clínicos de ICS (tremores, calafrios, febre, fraqueza, náuseas, vômitos) durante o procedimento de HD no período de novembro de 2012 a novembro de 2014. Os pacientes com sinais e sintomas clínicos de ICS são rotineira e empiricamente tratados com van (Europharma) em associação com gen (Novapharma), de acordo com o seguinte protocolo estabelecido pelas unidades: van, 1g, diluída em 200 ml de cloreto de sódio 0,9%, infundida a cada 4 ou 5 dias e gen 1,0 mg/Kg, infundida após cada sessão de HD.

Para a dosagem sérica de van foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: (i) pacientes que apresentaram os sinais de ICS acima descritos e que fizeram uso empírico de van e (ii) pacientes que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (ANEXO I). Como critérios de exclusão têm-se: (i) pacientes com soro reativo contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da hepatite C; (ii) pacientes que fizeram uso prévio de van a menos de quinze dias antes da coleta, (ii) ausência do paciente em qualquer sessão de HD durante o tratamento com van implicando na interrupção das coletas de soro.

Nas três unidades de HD estudadas são atendidos, regularmente, 500 pacientes (>80% do Sistema Único de Saúde - SUS) em três turnos (06:00-10:00h, 11:00-15:00h e 16:00-20:00h) em três sessões semanais de quatro horas cada (segunda – quarta – sexta ou terça – quinta – sábado) distribuídos da seguinte forma: 124 na unidade de Vitória, 187 em Cariacica e 189 na unidade da Serra. Nas três unidades existem 90 pontos ativos de HD (20 em Vitória, 35 em Cariacica e 35 na Serra). As unidades de hemodiálise participantes deste estudo correspondem a 30% (N=10) das UACC habilitadas na região metropolitana do Espírito Santo. No estado existem 16 Unidades distribuídas da seguinte forma: 02 em Colatina, 04 em Vitória, 02 em Cariacica, 02 na Serra, 02 em Cachoeiro de Itapemirim, 01 em Vila Velha, 01 em Linhares, 01 em Guarapari e 01 em São Mateus (figura 1).

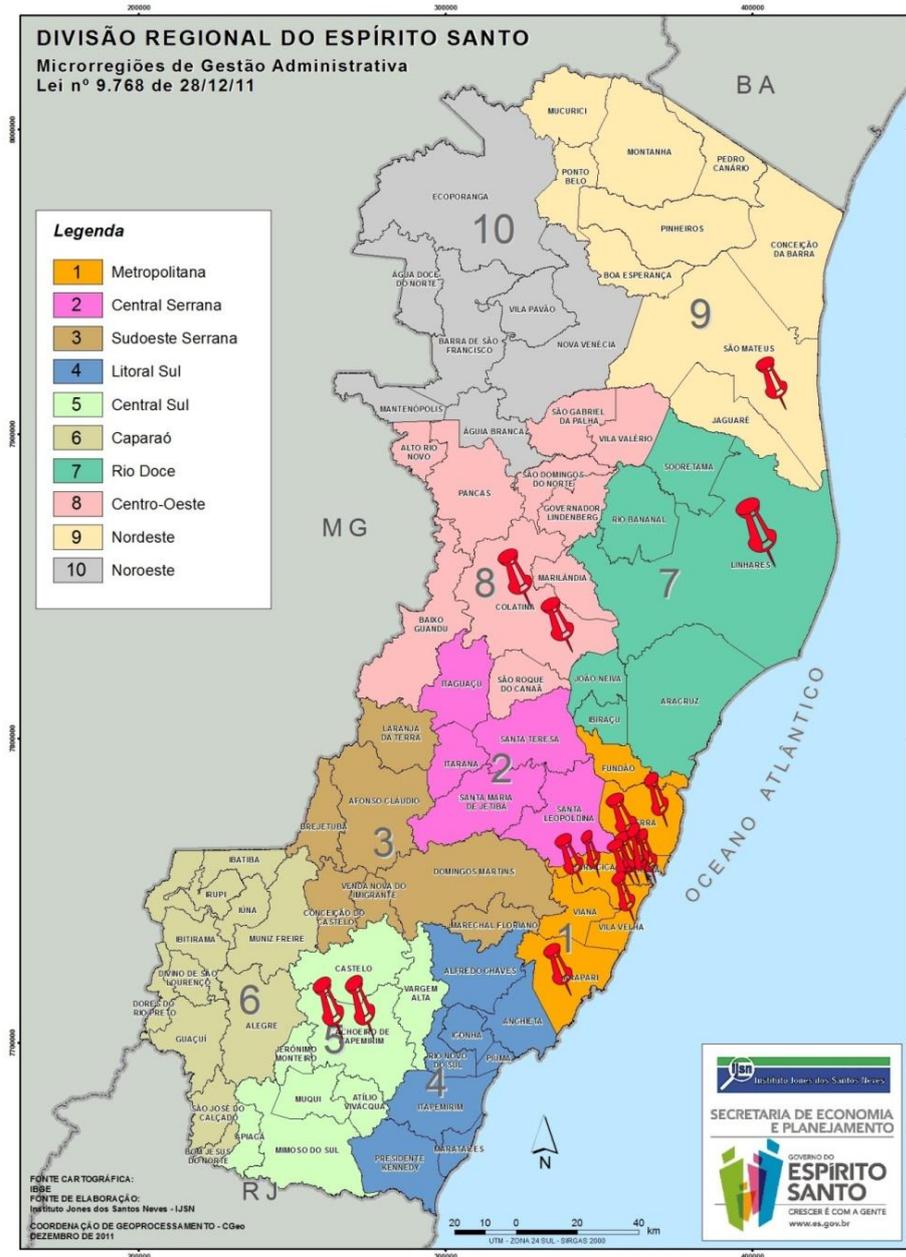


Figura 1 – Distribuição geográfica das 16 unidades de assistência de alta complexidade em nefrologia habilitadas no Espírito Santo.

Fonte: http://cnes.datasus.gov.br/Mod_Ind_Habilitacoes_Listar.asp?VTipo=1501&VListar=1&VEstado=32&VMun=&VComp=&VContador=17&VTitulo=H, consulta em 06/03/2015.

A incidência anual de bacteremia foi calculada conforme orientação do National Healthcare Safety Network do CDC (2012):

$$\text{Frequência} = \left(\frac{\text{Número de bacteremias confirmadas}}{\text{Número de pacientes atendidos}} \right) \times 100$$

4.3. Considerações éticas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo um subprojeto do projeto “Bacteremia em pacientes submetidos à hemodiálise na Grande Vitória, ES: aspectos microbiológicos e terapêuticos” (protocolo no. 219/11) (Anexo II).

4.4. Hemoculturas

Ao se manifestarem no paciente, sinais e sintomas clínicos de bacteremia (tremores, arrepios, febre, fraqueza, náuseas, vômitos) durante o procedimento hemodialítico foram realizadas as coletas das amostras de sangue para cultura microbiológica. Este procedimento foi realizado pela equipe de enfermagem das unidades, seguindo o procedimento padrão recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2013) que recomenda, pelo menos, duas amostras de sangue periférico de sítios diferentes, em condições assépticas, antes da administração de antimicrobianos e respeitando-se um intervalo mínimo de 15 minutos entre as coletas. Neste estudo foi coletada uma amostra de veia periférica e outra da circulação extracorpórea, devido à fragilidade do acesso vascular dos pacientes em HD.

As culturas microbiológicas e a identificação das amostras foram realizadas no sistema automatizado Bactec 9240 (Becton Dickinson) pelo laboratório clínico conveniado às unidades, conforme a rotina de atendimento do paciente em HD que apresenta os referidos sinais e sintomas clínicos de ICS. Os resultados obtidos eram

enviados ao Laboratório de Bacteriologia Geral e Clínica do Departamento de Patologia do CCS/UFES por meio de relatórios periódicos.

A partir deste momento, todas as culturas bacterianas provenientes de ICS foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia Geral e Clínica do Departamento de Patologia do CCS/UFES para os testes subsequentes. As culturas bacterianas, semeadas em ágar MacConkey/ágar sangue (placa de petri com uma divisão), recém chegadas ao laboratório, eram repicadas em ágar BHI (Brain Heart Infusion, MERCK, Alemanha), incubadas à 37°C por 24 horas e em seguida, congeladas (-20°C) em meio preservante para posterior confirmação da identificação bacteriana. O foco do estudo eram os *Staphylococcus* spp e, portanto, somente as amostras que mostraram ausência de crescimento no MacConkey foram submetidas aos testes de identificação.

O meio preservante é constituído de proteose peptona, 6,75 g, fosfato de potássio dibásico anidro, 1,8 g, fosfato de Potássio monobásico, 0,45 g, cloreto de sódio, 2,25 g, glicerina (Glicerol), 45 mL, água destilada, 450 mL.

4.5. Identificação dos *Staphylococcus* spp.

4.5.1. Triagem

Após o descongelamento e crescimento em ágar BHI foi realizado o teste da catalase e a coloração de Gram. Os cocos Gram positivos e que apresentaram positividade para a catalase foram, então, repicados em ágar manitol salgado (*Mannitol salt phenol-red agar*, MERCK, Alemanha) e incubados a 37°C por 24h. Na sequência, as amostras que apresentaram crescimento e mudança cromática para amarelo ao redor das colônias no ágar manitol foram submetidas aos testes de coagulase em tubo e desoxirribonuclease para confirmação da identificação dos *S. aureus*.

4.5.2. Teste da coagulase em tubo

A partir de colônias crescidas e isoladas em ágar BHI foi realizada a pesquisa da produção da enzima coagulase. Foram inoculadas e emulsificadas 2-3 colônias bacterianas em tubo contendo plasma humano diluído na proporção 1:5 em solução salina a 0,85%. Os tubos contendo as amostras foram incubados a 37°C. A leitura foi realizada a partir de 4 horas de incubação e em caso de resultado negativo, o tubo foi novamente incubado à temperatura ambiente e realizadas novas leituras nos tempos de 6, 18 e 24 horas após incubação. O surgimento de qualquer coágulo indicou reação positiva. As cepas padrão de *S. aureus* ATCC 25923 e *S. epidermidis* ATCC 12228 foram utilizadas como controle positivo e negativo, respectivamente (KONEMAN, 2008).

4.5.3. Teste da desoxirribonuclease (DNase)

No caso de resultados fracos ou duvidosos do teste da coagulase em tubo as amostras bacterianas eram submetidas ao teste da desoxirribonuclease. Este teste foi realizado em ágar DNase (DNase Test Agar, Acumedia, EUA), acrescido de azul de ortotoluidina na concentração final de 0,1%. Foram feitos dois inóculos densos (*spots*) da amostra bacteriana, separados a uma distância de 2 cm, e as placas incubadas à 37°C por 24 horas. Uma coloração púrpura rosada ao redor das colônias produtoras era indicativo de positividade na prova da DNase. As cepas padrão de *S. aureus* ATCC 25923 e *S. epidermidis* ATCC 12228 foram utilizadas como controle positivo e negativo da reação, respectivamente (KONEMAN, 2008).

4.6. Determinação da CIM

Para todas as amostras de *Staphylococcus* spp foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) dos seguintes fármacos adquiridos da Sigma-Aldrich, St Louis, MO - USA: cloridrato de vancomicina, sulfato de gentamicina, oxacilina sódica, cloridrato de tetraciclina, rifampicina, ciprofloxacino, sal de penicilina G sódica e daptomicina. Os compostos foram pesados e solubilizados conforme os

dados de potência e solvente constantes nos certificados de análises dos mesmos. Após esterilização por filtração em membrana *Millipore*[®] 0,22 µm, as soluções foram armazenadas em freezer -20°C e utilizadas por até quatro semanas, exceto a solução de cloridrato de tetraciclina que foi utilizada logo após seu preparo. Todas as diluições foram realizadas em água ultra-pura *Milli-Q*[®].

Foi utilizado o método de diluição em ágar conforme o CLSI, 2014, exceto para daptomicina, cujo método validado é o de microdiluição em caldo (CLSI, 2014), conforme descritos nos subitens seguintes.

4.6.1. Diluição em ágar

Concentrações crescentes dos fármacos foram adicionadas ao ágar Mueller Hinton (AMH) (MERCK, Alemanha) fundido e resfriado a 45°C, com concentrações finais variando de 0,06 a 16 µg/mL. Os meios foram plaqueados em duplicata. Com um replicador de *Steer*, inóculos padronizados a 10⁴ UFC/mL foram adicionados às placas. Para controle da viabilidade bacteriana, placas sem o antimicrobiano foram inoculadas no início e no final da série de diluições. A leitura do experimento foi realizada após incubação a 37°C por 24 horas e a CIM foi considerada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano visível. No caso do teste com oxa, o MH foi suplementado com 2% de NaCl (CLSI, 2014). Os resultados dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos foram interpretados considerando-se os pontos críticos de cada fármaco, de acordo com as recomendações do CLSI (CLSI, 2014). Como controle de qualidade do teste foi utilizada a amostra padrão *S. aureus* ATCC 29213.

4.6.2. Microdiluição em caldo

O método de microdiluição em caldo, para determinação da CIM de daptomicina foi realizado em microplacas estéreis de poliestireno com 96 poços de fundo chato. Foi utilizado caldo Mueller Hinton II ajustado com cátions – CAMHB - (20-25 mg/L de cálcio; 10-12,5 mg/L de magnésio) (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) e suplementado com CaCl₂ (10 mg/mL) para atingir a

concentração final de 50 mg/L de cálcio (CLSI, 2014). Diluições seriadas (1:2) da solução estoque de daptomicina (100 µg/mL) foram realizadas nos poços da microplaca preenchidos com CAMHB (concentrações finais de daptomicina de 0,03 a 1 µg/mL). Na sequência, inóculos bacterianos ajustados (0,5 MacFarland) foram diluídos em CAMHB (1:100) e inoculados em cada poço da microplaca, atingindo a concentração final de, aproximadamente, 10^4 UFC por poço. O teste foi realizado em duplicada, com poços para controle de crescimento bacteriano (sem antimicrobiano) e controle de esterilidade (sem microrganismo). Como controle de qualidade do teste foi utilizada a amostra padrão *S. aureus* ATCC 29213.

4.7. Doseamento sérico de vancomicina

4.7.1. Coleta das amostras de soro

A primeira coleta de sangue para o doseamento sérico de van se deu antes da infusão dos antimicrobianos, correspondendo ao controle da ausência de antimicrobiano residual. Depois se coletou as amostras nos seguintes tempos:

- 0h: imediatamente após a administração do fármaco.
- 48 ou 72h: imediatamente antes da segunda sessão de HD.
- 96 ou 120h: imediatamente antes da terceira sessão de HD e antes da próxima administração dos antimicrobianos (ponto das CSM de van).

As amostras foram coletadas pela própria equipe de enfermagem das unidades em tubos vácuo de 4 mL com ativador de coágulo até a terceira semana de tratamento. Após cada coleta, os tubos foram transportados, em até 30 minutos, para o Laboratório de Bacteriologia Geral e Clínica do Departamento de Patologia do CCS/UFES, onde foram centrifugados por 7 minutos a 4000 rpm. O soro separado foi armazenado em freezer (-70°C) até o momento das análises.

4.7.2. Imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA – *Chemiluminescent microparticle immunoassay*)

Os níveis séricos de van foram determinados pelo ensaio ARCHITECT Vancomycin (Abbott, Espanha), utilizando o equipamento ARCHITEC Plus i 2000_{SR} (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) localizado na Central Sorológica de Vitória, seguindo-se as instruções do fabricante do kit Vancomycin (Abbott). Inicialmente foi construída a curva de calibração com calibradores nas concentrações de 0.0, 5.0, 10.0, 25.0, 50.0 e 100 µg/mL (lote 00713K000). Este procedimento foi realizado em duplicata. Em seguida, as amostras de soro foram descongeladas, misturadas por inversão e então inspecionadas quanto à presença de bolhas e resíduos de fibrina. Posteriormente as amostras foram transferidas para cubetas em um volume mínimo de soro para análise de 70 µl.

O ARCHITECT Vancomycin é um imunoensaio de micropartículas quimioluminescentes para a medição quantitativa de van em soro ou plasma humano *in vitro*. A faixa de medição analítica do ARCHITECT Vancomycin foi de 0.24 a 100 µg/mL.

Na realização do teste são combinados a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpos anti-vancomicina e o conjugado de van marcado com acrinídio para criar uma reação. Ocorre uma ligação das micropartículas revestidas de anticorpos anti-vancomicina com a van presente na amostra e o conjugado marcado com acrinídio. Após a lavagem, as soluções pré-ativadoras e ativadoras são adicionadas à mistura da reação. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades relativas de luz (RLUs). Há uma relação indireta entre a quantidade de van na amostra e as RLUs detectadas pela ótica do ARCHITEC i System.

4.7.3. Bioensaio (ensaio microbiológico) para determinação das concentrações séricas de van e gen

4.7.3.1. Antimicrobianos

O antimicrobiano utilizado na técnica de bioensaio foi o cloridrato de vancomicina (Sigma-Aldrich, Lote 120M1495V, St Louis, MO - USA) e o sulfato de gentamicina (Sigma-Aldrich, Lote 079K13861V, St Louis, MO - USA). As soluções estoque foram preparadas pela dissolução de cada antimicrobiano em água ultra-pura Milli-Q[®] e esterilização por filtração em membrana *Millipore* 0,22 µm. Soluções de trabalho foram obtidas a partir da solução estoque, sendo diluídas em soro humano previamente pesquisado quanto à ausência de substâncias antagonistas, de forma a se obter as seguintes concentrações: 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 e 64 µg/mL. Estas diluições foram utilizadas para a construção da curva padrão de van e gen.

4.7.3.2. Microrganismo revelador

Como microrganismo revelador da presença da van utilizou-se o *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (SHITANDI, GATHONI, 2005) e para gen foi empregado *E. coli* ATCC 25922. Para o preparo da suspensão de esporos de *B. subtilis*, a amostra foi semeada em tubo inclinado contendo 10mL de ágar BHI e incubada por 24h a 35°C. Essa cultura foi lavada com 3mL de salina fisiológica estéril, sendo o lavado transferido para um frasco *Roux* contendo 200mL de ágar BHI e incubado a 35°C por 15 dias, que corresponde ao tempo necessário para que ocorra, aproximadamente, 80% de esporulação (COUTINHO, 2010). A cultura de esporos obtida foi lavada com 50mL de solução salina e centrifugada (Centrífuga *Sigma*, Germany) por 15 minutos, a 443,52g e o sobrenadante foi descartado. Após nova centrifugação, nas mesmas condições, e descarte do sobrenadante final, as células foram ressuspensas em 30mL de salina. Essa suspensão foi, então, aquecida a 80°C, por 10 minutos, para matar as células vegetativas remanescentes (SHITANDI, GATHONI, 2005).

Para determinação da concentração de esporos na suspensão realizou-se diluições seriadas decimais sucessivas, plaqueamento em ágar BHI e incubação a 37°C, por 24h. Após contagem do número de esporos/mL de suspensão foi possível determinar o volume da suspensão-estoque a ser adicionado ao meio de cultura para se obter a densidade celular pretendida no teste. Esta suspensão de esporos foi estocada entre 0 - 4,4°C, por até seis meses.

4.7.3.3. Meios de cultura

Para o ensaio microbiológico foram testados o ágar Mueller Hinton (AMH) (Merck, Alemanha, lote: VM556437, validade: 25/06/2018), preparado conforme indicações do fabricante, e o ágar sais mínimos (ASM) descrito por Walker, 1977 e Edberg, 1976.

O ASM é constituído de tampão de sais mínimos (0,32% KH_2PO_4 , 0,42% K_2HPO_4 , 0,2% NaCl , e 0,2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH final 7,3), glicose (0,5%), ágar (1,5%) e solução de sais minerais (5,0% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1% MnSO_4 , 1,0% FeCl_3 , e 0,5% CaCl_2) (WALKER, KOPP, 1977). Ao tampão de sais mínimos foi adicionado o ágar-ágar (Vetec) na concentração final de 1,5%. Após autoclavação por 15 min, 121°C, o meio foi resfriado a 55°C (banho maria) e suplementado com solução de glicose (concentração final de 0,5%) e 0,1 ml da solução de sais minerais para cada 100 mL de meio. As soluções de glicose e de sais minerais foram previamente esterilizadas por filtração em membrana *Millipore* 0,22 μm .

4.7.3.4. Neutralização do antimicrobiano de interferência (gentamicina)

Para a neutralização da gen foi utilizado o protocolo adaptado de Edberg, 1976, com o polianetol sulfonato de sódio (SPS). A inativação de aminoglicosídeos pelo SPS resulta de sua natureza polianiónica que permite sua combinação direta com o antimicrobiano levando à precipitação do mesmo (Edberg, Bottenbley, Gam, 1981). Foram testadas duas apresentações de SPS, de fabricantes diferentes: o sal *polyanetholesulfonic acid sodium* (Sigma-Aldrich 444464-25G, lote: MKBT2855V) e a solução estéril de SPS 5% (Laborclin, Pinhais, PR, lote: 30719049, validade:

29/07/2015). A partir do sal de SPS foi feita uma solução a 5% que foi esterilizada por autoclavação (121°C, 15min). Os meios de cultura (AMH e ASM) foram acrescidos da solução de SPS 5% g concentração final de 1,0%.

4.7.3.5. Bioensaio para detecção do meio que confere maior sensibilidade ao doseamento de van

A 9,3 mL de ágar (AMH e ASM) fundido e resfriado a 45°C foram inoculados 1,9 mL da suspensão de esporos de *B. subtilis* ATCC 6633, previamente ajustada para $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, e finalmente foram adicionados 2,8 mL de SPS 5,0% (concentração final 1,0%). O ágar foi homogeneizado e vertido em placas de Petri descartáveis (90 x 15mm), dispostas em superfície nivelada. Após solidificação do ágar, foram feitos poços com aproximadamente 4 mm de diâmetro em toda a periferia da placa, com auxílio de uma pipeta Pasteur de vidro. A cada poço foram adicionados 35 µL das diluições de van (1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 e 64 µg/mL). Todas as placas foram confeccionadas em duplicata. O bioensaio em AMH foi realizado de acordo com o protocolo de Lorian, 2005 e Edberg, 1976, e o bioensaio em ASM foi conduzido conforme Walker e Kopp, 1977, ambos com modificações. Após incubação por 24h, a 37°C, foram medidos os halos de inibição gerados com o auxílio de um paquímetro digital de 6" (ZAAS Precision).

4.7.3.6. Bioensaio para determinação das concentrações séricas de gentamicina

As 20 primeiras amostras de soro coletadas neste estudo foram, primeiramente, testadas quanto à concentração sérica de gen. Neste ensaio empregou-se como meio de cultura o AMH (MERCK, Alemanha) e como microrganismo revelador a *Escherichia coli* ATCC 25922. A 12,1 mL de AMH fundido e resfriado a 45°C foram inoculados 1,9 mL da suspensão de *E. coli* ATCC 25922, previamente ajustada para $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Assim, as placas foram confeccionadas como descrito anteriormente (item 5.7.3.5.), sem acréscimo de SPS. A cada poço foram adicionados 35 µL das amostras de soro dos pacientes. Após incubação por 24h, a 37°C, foram medidos os halos de inibição gerados com o

auxílio de um paquímetro digital de 6" (ZAAS Precision). O antimicrobiano utilizado para a construção da curva padrão foi o sulfato de gentamicina (Sigma-Aldrich, Lote 079K13861V, St Louis, MO - USA). A solução estoque foi preparada pela dissolução do fármaco em água ultra-pura Milli-Q® e esterilização por filtração em membrana Millipore 0,22 µm. Soluções de trabalho foram obtidas a partir da solução estoque, sendo diluídas em soro humano previamente pesquisado quanto à ausência de substâncias antagonistas, de forma a se obter as seguintes concentrações: 2,5, 5, 7,5, 10, 15 e 30 µg/mL.

4.7.3.7. Controle de inibição da gentamicina

Para controle da inibição do antimicrobiano de interferência, avaliou-se a capacidade do SPS (1%) em inibir a atividade de gen em amostras de soro dos pacientes em estudo. Utilizou-se como reveladora da presença de gen a cepa de *E. coli* ATCC 25922. *E. coli* possui resistência intrínseca à van (COOPER; GIVEN, 1986; BRYSKIER, 2005), por isso, a presença de qualquer halo de inibição significaria incapacidade do SPS em inibir totalmente a gen na amostra testada. Entretanto, *E. coli* não cresce satisfatoriamente no meio ASM. Assim, as placas controle foram confeccionadas com AMH suplementado com SPS (1%), nas mesmas condições descritas no item 5.7.3.5., e inoculadas com suspensão de *E. coli* ATCC 25922 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A cada poço foram adicionados 35 µL das amostras de soro dos pacientes. Após incubação por 24h, a 37°C, foram observados os halos de inibição. Somente as amostras de soro com ausência de halo de inibição nas placas controle de gen seriam utilizadas no ensaio de detecção de van.

4.7.3.8. Bioensaio de vancomicina em amostras clínicas

Uma vez padronizadas as condições do ensaio microbiológico, foram realizados os testes com as mesmas amostras de soro testadas no imunoensaio (CMIA). Considerando a maior sensibilidade do meio ASM na detecção de van, padronizou-se este meio para os ensaios microbiológicos, entretanto, como o

controle da inibição de gen utilizou-se o meio AMH, uma vez que *E. coli* ATCC 25922 não apresentou crescimento satisfatório no ASM.

Assim, as placas de ASM e AMH foram confeccionadas como descrito anteriormente (itens 5.7.3.5. e 5.7.3.6.), sendo acrescidas de SPS 1% e inoculadas com *B. subtilis* ATCC 6633 (ASM) para a detecção de van ou *E. coli* ATCC 25922 (AMH) para a detecção de gen. Para cada placa teste (ASM) eram preparadas duas placas controle (AMH com e sem SPS). Nos poços foram adicionados 35 µL dos soros dos pacientes coletados nos diferentes tempos. Qualquer halo detectado na placa controle (AMH com SPS) indicaria falha na inibição da gen. Nestes casos as amostras eram descartadas do ensaio microbiológico.

Para a construção das curvas padrão, foram feitos poços com aproximadamente 4 mm de diâmetro em toda a periferia das placas de ASM (com SPS 1%). A cada poço foram adicionados 35 µL das diluições de van (1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 e 64 µg/mL). Todas as placas foram confeccionadas em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 24h e os halos de inibição foram, então, medidos com auxílio de um paquímetro digital de 6" (ZAAS Precision). A partir da regressão linear do gráfico das medidas dos halos de inibição (mm) *versus* a concentração do antimicrobiano (µg/mL) foi obtida a equação $Y = b_0 + b_1 \times X$, na qual Y é o \log_{10} da concentração do antimicrobiano (µg/mL), X é o halo de inibição (mm), e b_0 e b_1 são uma constante e a inclinação da reta, respectivamente. O programa utilizado nesta análise foi o *OriginPro* (versão 8.0; OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

Para determinar a reprodutibilidade do bioensaio foram realizados dois ensaios separados, em duplicata, nas mesmas condições e mesmas amostras, porém, utilizando diferentes curvas padrão. As médias dos resultados obtidos foram correlacionados por meio de análise de regressão linear com determinação do coeficiente de correlação (R^2).

4.7.3.9. Validação do Bioensaio de vancomicina

Para validação do bioensaio de van foram selecionadas, aleatoriamente, 30 amostras de soro. Para determinação das concentrações séricas foram empregadas

duas metodologias, o teste padrão ouro (CMIA) e a metodologia alternativa (bioensaio em meio ASM). Foi feita uma correlação entre as concentrações resultantes, obtendo-se um coeficiente de regressão linear e a equação $y = a + b \times X$, onde y equivale às concentrações dosadas pelo CMIA e o x as concentrações determinadas pelo bioensaio. Posteriormente, foi realizado novo ensaio (em dia diferente) utilizando-se novamente as duas metodologias, porém com outras amostras de soro (N=30). Os resultados alcançados neste 2º bioensaio (x) foram lançados na equação $y = a + b \times X$, obtendo-se o valor y que equivale à concentração dosada pelo CMIA. Os valores resultantes deste ajuste foram pareados com os dados obtidos pelo CMIA para as mesmas amostras e analisados pelo teste t de *Student*.

4.8. Desfecho clínico dos pacientes com bacteremia por *S. aureus*

Na determinação do desfecho clínico a falha no tratamento foi definida como qualquer um dos seguintes resultados: (i) morte dentro de 30 dias após hemocultura positiva para *Staphylococcus aureus*; (ii) falha microbiológica, que foi definida como uma hemocultura positiva para *Staphylococcus aureus* obtida dentro de 10 dias após o início do tratamento e antes da conclusão da terapia antimicrobiana com van ou (iii) recorrência de bacteremia por *Staphylococcus aureus* dentro de 60 dias após descontinuação da terapia com van. Em caso de o paciente se encontrar em mais de um critério, o desfecho foi classificado como falha terapêutica somente uma vez (JENKINS, et al., 2008; LODISE, et al., 2008).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quando pertinentes, os dados foram analisados no programa *OriginPro 8.0* com os seguintes testes: (i) estatística descritiva (média, desvio padrão), (ii) coeficiente de correlação, (iii) contagem de frequências, (iv) *box plot* (valor mínimo, primeiro quartil (Q1), mediana (Q2), terceiro quartil (Q3), valor máximo) e (v) teste t de *Student* para amostras pareadas ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1. ICS e características demográficas dos pacientes

No decorrer de 2 anos de pesquisa, período que compreendeu novembro de 2012 a novembro de 2014, ocorreram 376 casos suspeitos de infecção de corrente sanguínea (ICS) entre os pacientes em tratamento hemodialítico atendidos nas três Unidades de Alta Complexidade em Nefrologia participantes deste estudo. Destes casos suspeitos, 217 (58%) foram confirmados como ICS (duas hemoculturas positivas para os mesmos microrganismos, no caso de *S. epidermidis*). A incidência anual de bacteremias no período compreendido entre novembro de 2012 a novembro de 2013 e novembro de 2013 a novembro de 2014 foi de 28,5 e 15 episódios por 100 pacientes, respectivamente.

Entre os pacientes com casos confirmados de ICS (N=128), 32 (25%) tem idade entre 21 a 40 anos; 60 (47%) e 36 (28%) têm entre 41-60 anos e 61-88 anos, respectivamente. A média de idade desses pacientes foi de 51 anos (DP±14). A distribuição dessa população de acordo com o sexo foi 62 (48%) mulheres e 66 (52%) homens. Dos 128 pacientes com casos confirmados de ICS, 83% e 17% tinham o CDL e a FAV como acessos vasculares, respectivamente.

6.2. Identificação dos microrganismos causadores de ICS

A tabela 2 lista os microrganismos isolados das hemoculturas. As bactérias Gram negativas foram os mais comuns microrganismos observados nas ICS (N= 118; 54%), dentre esses *Stenotrophomonas maltophilia* foi o mais prevalente (N= 29; 13%). Entre os microrganismos Gram negativos recuperados das ICS da população estudada existe um predomínio de isolados de *Stenotrophomonas maltophilia* (13%).

Os cocos Gram positivos foram identificados em 98 (45,5%) culturas de sangue, sendo *S. aureus* a espécie mais frequentemente isolada, responsável por 24% de todos os casos de ICS, seguido de *ScoN* com 15% (tabela 2). Dentre os cocos Gram positivos (N=98), obteve-se a seguinte frequência de distribuição: *S. aureus* 53%, *ScoN* 34%, *Enterococcus faecalis* 10% e *Streptococcus* spp. 3% (tabela 2).

Os microrganismos do gênero *Staphylococcus*, isolados em 39% (N=85) das hemoculturas, tiveram sua identificação confirmada no Laboratório de Microbiologia Geral e Clínica do Departamento de Patologia do CCS/UFES. Foram recuperadas e identificadas 80 amostras: 47 *S. aureus* e 33 *ScoN*. Cinco amostras contaminadas não puderam ser recuperadas.

TABELA 2 - Distribuição dos microrganismos (N=217) isolados de ICS de pacientes (N=128) em tratamento hemodialítico em 03 unidades de hemodiálise da Grande Vitória, ES, no período de novembro/2012 a novembro/2014.

Microrganismos	Nº de microrganismos (N=217)	
	N	%
Cocos Gram positivos	98	45.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	52	24
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	33	15
<i>Enterococcus faecalis</i> *	10	5
<i>Streptococcus spp.</i> *	3	1.5
Bacilos Gram negativos *	118	54.3
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	29	13
<i>Enterobacter</i>	22	10
<i>Klebsiella spp.</i>	16	7
<i>Acinetobacter spp.</i>	13	6
<i>Escherichia coli</i>	7	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2
<i>Ralstonia pickettii</i>	5	2
<i>Serratia spp.</i>	5	2
<i>Proteus mirabilis</i>	4	1.8
<i>Citrobacter koseri</i>	3	1.5
<i>Providencia stuartii</i>	3	1.5
<i>Empedobacter brevis</i>	2	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0.5
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	0.5
<i>Hafnia alvei</i>	1	0.5
<i>Morganella morganii</i>	1	0.5
Fungos*	1	0.5
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0.5

*Dados de identificação provenientes de relatórios emitidos pelo laboratório conveniado às unidades de hemodiálise.

6.3. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos *Staphylococcus* spp, incluindo a classificação como resistentes, intermediários ou sensíveis para cada um dos 8 fármacos testados, conforme os *break points* estabelecidos pelo CLSI, 2014, como também, os valores de CIM₅₀ e CIM₉₀ (CIM para 50% e 90% dos microrganismos, respectivamente), são apresentados na tabela 3.

A maior frequência de resistência dos isolados de *S. aureus* foi encontrada para oxa, pen e cip em percentual de 17% (8/47), 85% (40/47) e 26% (12/47) das amostras, respectivamente. Enquanto que os ScoN foram classificados como resistentes à oxa em 58% (19/33) das amostras e resistentes à pen em 84% (27/32) das amostras. Conforme critérios estabelecidos por Magiorakos et al., 2012, foram classificados como multidroga-resistentes (MDR), 18% (06/33) e 19% (9/47) dos isolados de ScoN e *S. aureus*, respectivamente.

Nenhum fármaco mostrou atividade antimicrobiana superior à van (100% de amostras sensíveis). Os que mais se aproximaram em termos de cobertura contra a maioria dos *Staphylococcus* spp foram dap (96% e 97%) e rif (94% e 97%) para *S. aureus* e ScoN, respectivamente.

Em nosso estudo, as CIMs de van para *S. aureus* foram de 0.5 µg/mL para 12 isolados (25,5%), 1 µg/mL para 28 (59,5%) e 2 µg/mL para 7 (14,9%) (figura 2).

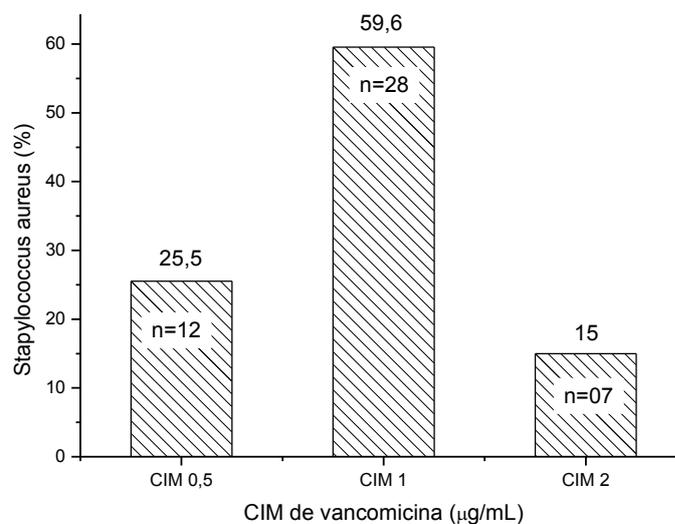


Figura 2 – Distribuição dos isolados de *S. aureus* (N=47) de acordo com as CIMs de van.

Tabela 3 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das amostras de *S. aureus* e *Staphylococcus* Coagulase Negativo isoladas de ICS de pacientes (N=80) em tratamento hemodialítico em 03 unidades de hemodiálise da Grande Vitória, ES, no período de novembro/2012 a novembro/2014.

Organismos/Antimicrobianos	CIM (µg/mL)			Categorias (%)		
	Intervalo	CIM ₅₀	CIM ₉₀	Sensíveis	Intermediário	Resistente
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=47)						
Vancomicina	0.5-2.0	1.0	2.0	100	0	0
Oxacilina	0.125-≥16.0	0.25	16.0	83	0	17
Gentamicina	0.125-≥16.0	0.5	4.0	94	2	4
Tetraciclina	0.25-≥16.0	2.0	8.0	89	4	7
Penicilina G	0.06-16.0	0.5	8.0	15	0	85
Ciprofloxacino	0.125-≥16.0	0.5	≥16.0	74	0	26
Rifampicina	0.008-8.0	0.015	0.015	94	2	4
Daptomicina	0.5-2.0	1.0	1.0	96*	--	--
<i>Staphylococcus coagulase Negativo</i> (n=33)						
Vancomicina (n=31)	0.25-2.0	1.0	2.0	100	0	0
Oxacilina	0.125-8	0.5	2.0	42	0	58
Gentamicina	0.06-≥16.0	4.0	≥16.0	61	18	21
Tetraciclina	0.12-4.0	1.0	4.0	100	0	0
Penicilina G (n=32)	0.06-≥4.0	2.0	≥4.0	16	0	84
Ciprofloxacino	0.125-≥16.0	2.0	≥16.0	48	7	45
Rifampicina	0.008-≥8	0.008	0.015	97	0	3
Daptomicina (n=31)	0.125-2.0	1.0	1.0	97	0	3

*4% das amostras apresentaram CIM>1 µg/mL, sendo consideradas não susceptíveis. Categorias interpretativas (intermediário e resistente) ainda não foram definidas para daptomicina (CLSI, 2014)

6.4. Doseamento sérico de vancomicina (imunoensaio)

Foram coletadas 101 amostras de soro de 22 pacientes que receberam 1g de van endovenosa + gen (1,0 mg/Kg), conforme protocolo descrito no item 3.7.1., que também descreve os tempos e condições das coletas. A faixa de medição analítica do ARCHITECT Vancomycin foi de 0,24 a 100 µg/mL. Assim, foram excluídas do ensaio uma amostra com concentração <0,24 µg/mL, cinco amostras >100 µg/mL e uma amostra com volume insuficiente, permanecendo 94 amostras para análise.

A figura 3 e a tabela 4 ilustram a distribuição das concentrações séricas de van nos diferentes tempos de coleta das amostras. À exceção dos pontos de concentração sérica máxima (C_{max}), concentrações terapêuticas de van (10-20 µg/mL) foram alcançadas em apenas 22,2% (14 de 63) das amostras nas duas semanas de terapia (figura 4). A maioria das amostras apresentou concentrações séricas inferiores a 10 µg/mL (77,8%) (figura 4). Trinta por cento das amostras estavam abaixo de 5 µg/mL (figura 4). Considerando apenas as amostras coletadas imediatamente antes da próxima dose de van (CSM), coletadas nos tempos de 96 ou 120 horas nas duas semanas, nota-se que apenas três estavam acima de 10 µg/mL, ou seja, 90,6% das amostras continham van em concentrações inferiores àquelas recomendadas para sua efetiva atividade antiestafilocócica (figura 4).

Estão descritos na figura 4 e tabela 5 dados das CSM de van, incluindo mediana e intervalo interquartil para amostras coletadas imediatamente antes da próxima infusão do fármaco, durante duas semanas. As concentrações séricas de van encontradas nestas amostras correspondem às CSM.

De modo geral, houve uma grande variabilidade nas CSM de todos os intervalos de dose analisados, com razão C_{max}/C_{min} de 9,04 e 11,84 nos tempo de 96 e 120 h após primeira dose de van, respectivamente, e 22,6 no tempo de coleta de 120 h após infusão da van na segunda semana. Considerando-se todas as amostras coletadas em todos os intervalos de dose, a variabilidade das CSM foi ainda maior, alcançando uma razão C_{max}/C_{min} de 31,7. Médias e medianas do total de amostras (N = 32) apresentaram valores aproximados (média = 5,62906; mediana = 5,505), indicando uma distribuição normal das CSM.

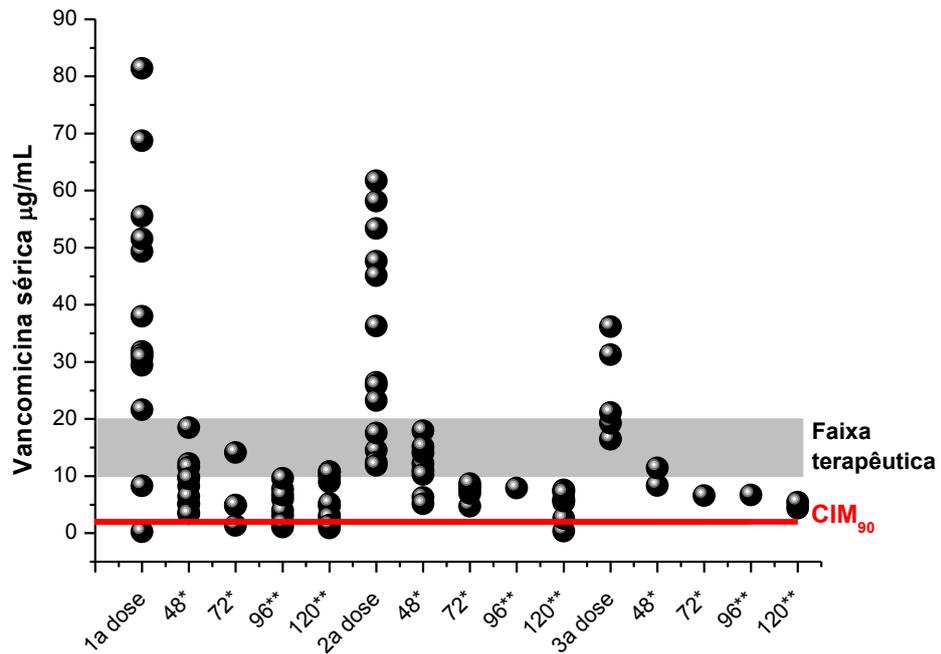


Figura 3 – Concentrações séricas de van (esferas) determinadas pelo imunoenensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA - ARCHITECT iVancomycin) obtidas de 94 amostras de soro de 22 pacientes. 1ª dose = concentração sérica máxima (C_{max}) – obtida após 1ª infusão, feita durante a última hora de hemodiálise. 2ª dose = C_{max} obtida após 2ª infusão, feita durante a última hora de hemodiálise. 3ª dose = C_{max} obtida após 3ª infusão, feita durante a última hora de hemodiálise.*Concentração sérica obtida antes da hemodiálise com 48 ou 72 horas pós-dose.**concentração sérica mínima (concentração de “vale”) obtida imediatamente antes da próxima hemodiálise e dose de vanco (96 ou 120h pós-dose). Linha vermelha: CIM₉₀ das amostras de *Staphylococcus* isoladas de hemoculturas destes pacientes.

Tabela 4 - Distribuição das amostras de soro* de acordo com o tempo de coleta e faixas de concentração de van determinadas pelo imunoensaio (CMIA)

Concentrações séricas de van	1ª Dose (Nº amostras (%))				2ª Dose (Nº amostras (%))				3ª Dose (Nº amostras (%))				Total N= 63
	1ª Hemodiálise		2ª Hemodiálise		1ª Hemodiálise		2ª Hemodiálise		1ª Hemodiálise		2ª Hemodálise		
	48h* N= 11	72h* N= 4	96** N= 8	120** N= 12	48h* N= 8	72h* N= 5	96h** N= 11	120h** N= 8	48h* N= 2	72h* N= 1	96h** N= 1	120h** N= 2	
10-20 µg/mL	3 (27,3)	1 (25,0)		3 (25,0)	6 (75,0)				1 (50,0)				14 (22,2)
5-9,9 µg/mL	6 (54,5)		4 (50,0)	3(25,0)	2 (25,0)	4 (80,0)	1 (100,0)	6 (75,0)	1 (50,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	1 (50,0)	30 (47,6)
<5µg/mL	2 (18,2)	3 (75,0)	4 (50,0)	6 (50,0)		1 (20,0)		2 (25,0)				1 (50,0)	19 (30,2)

*Exceto amostras coletadas imediatamente após a infusão de van (pico máximo)

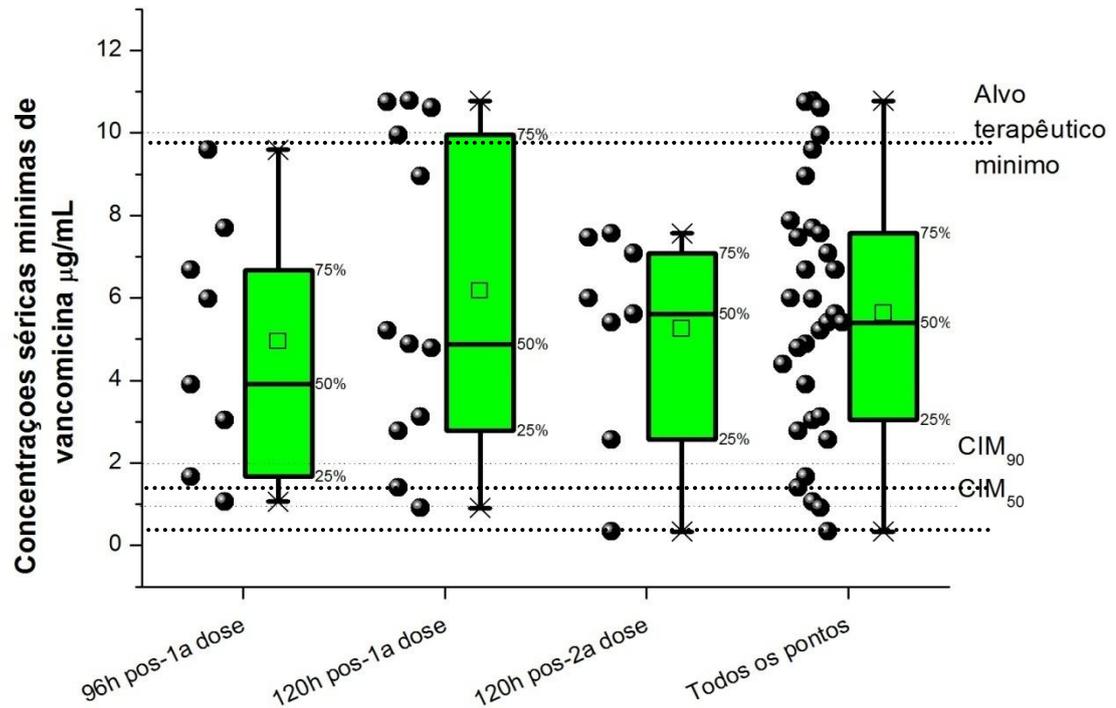


Figura 4 – CSM de van (esferas), médias (quadrados), medianas e variação interquartis (*Box plot*) obtidas em duas semanas de monitoramento. As amostras foram coletadas imediatamente antes da próxima infusão de van e sessão de HD, nos seguintes tempos: 96h pós-1ª dose (N=8), 120h pós-1ª dose (N=12) e 120h pós-2ª dose (N=8). Último *box plot* reúne todas as CSM de van nas duas semanas de monitoramento.

Tabela 5 – Dados descritivos das CSM de van obtidas de todas as amostras coletadas imediatamente antes da próxima dose de van, durante duas semanas de terapia.

Tempos de coleta	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
96h pos-1a dose	8	4,9525	3,01688	1,06	2,355	4,945	7,185	9,59
120h pos-1a dose	12	6,1775	3,80984	0,91	2,95	5,045	10,28	10,78
120h pos-2a dose	8	5,25375	2,5537	0,34	3,985	5,8	7,275	7,57
Todos os pontos*	32	5,62906	3,03305	0,34	3,08	5,505	7,63	10,78

Q1 – primeiro quartil, Q3- terceiro quartil **“Todos os pontos” equivalem às amostras descritas na tabela mais quatro amostras correspondentes aos tempos de 96 h pós 2ª dose (N=1), 96 (N=1) e 120h (N=2) pós 3ª dose.

6.5. Doseamento sérico de vancomicina (bioensaio)

Os halos de inibição de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 produzidos pelas diversas concentrações de van nos meios ASM e AMH estão ilustrados na figura 5. Nota-se a ausência de halo de inibição no poço (C) inoculado com o soro no qual foram realizadas as diluições do antimicrobiano (amostra branca). Foram realizadas três repetições em dias distintos, e em todas elas foi observada ausência completa de halo de inibição na amostra branca, representando 100% de especificidade que foi considerada como a capacidade do método de apresentar resultado negativo na ausência do antimicrobiano. O limite de detecção (LD) do método foi de 1,0 µg/mL no meio ASM e de 2,0 µg/mL no meio AMH. O LD é a menor concentração do antimicrobiano-teste que produz resultado positivo. Como todas as amostras brancas (c) apresentaram ausência total de halo inibitório, então, qualquer amostra analisada por esse teste passou a ser considerada positiva quando apresentava um diâmetro de halo inibitório igual ou maior a 8,5 mm (nível de corte adotado).

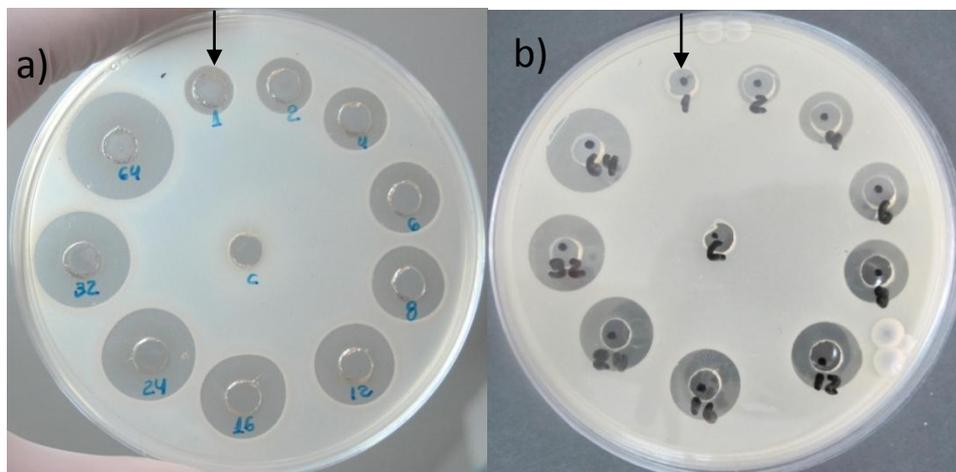


Figura 5 – Halos de inibição de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 gerados pelas concentrações de van em meio ASM (a) e AMH (b). Os poços contém (sentido horário a partir da seta) 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 e 64 µg/mL. No centro (C) soro humano utilizado como diluente do antimicrobiano (amostra branca). Nota-se detecção de halo nítido de inibição na menor concentração testada (1 µg/mL) apenas na placa ASM, ou seja limite de detecção (LD) de 1 µg/mL no ágar ASM e 2 µg/mL no ágar AMH.

6.5.1. Doseamento sérico de gentamicina (Bioensaio)

A figura 6 ilustra os halos de inibição da *E. coli* ATCC 25922 resultantes das concentrações crescentes de gen. O poço (C), inoculado com soro no qual foram realizadas as diluições do antimicrobiano (amostra branca), apresentou ausência de halo de inibição. A menor diluição testada (2,5 µg/mL) produziu halo de 8,0 mm. Assim, foram consideradas positivas amostras que apresentaram um diâmetro de halo inibitório igual ou maior que 8,0 mm (nível de corte adotado). A figura 7 ilustra as concentrações séricas de gen obtidas nas 20 primeiras amostras coletadas. Os dados encontrados mostram mediana de 2,11 µg/mL com valores mínimo e máximo de 1,11 e 19,26 µg/mL, respectivamente. Os três maiores valores (19,26, 9,06 e 8,86 µg/mL) foram considerados atípicos na análise *Box plot* (figura 7 e figura 8) e correspondem às amostras 4.5, 2.5 e 2.2, respectivamente. Excluindo-se a amostra atípica 4.5, as duas maiores concentrações de gen detectadas (9,06 e 8,86 µg/mL) foram inibidas pelo SPS a 1%.

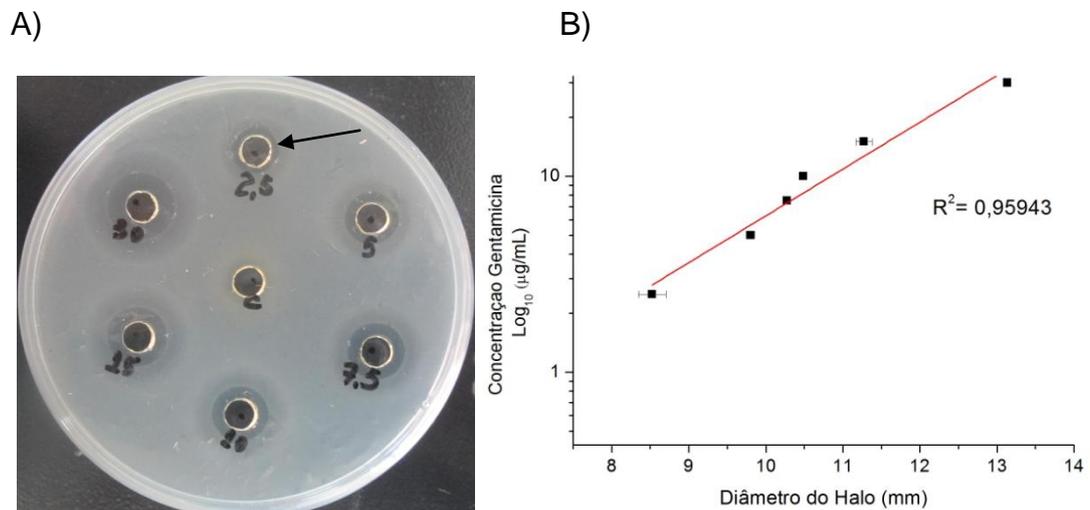


Figura 6 – Bioensaio de gen. (A) Halos de inibição de *E. coli* ATCC 25922 gerados pelas concentrações de gen em meio AMH. Os poços contém (sentido horário a partir da seta) 2,5, 5, 7,5, 10, 15 e 30 µg/mL. No centro (c) soro humano utilizado como diluente do antimicrobiano (amostra branca). Houve detecção de halo nítido de inibição na menor concentração testada (2,5 µg/mL). (B) Representação gráfica das medidas dos halos de inibição de gen versus concentração do fármaco. Os pontos representam os valores médios do ensaio e as barras os respectivos desvios. R = coeficiente de regressão.

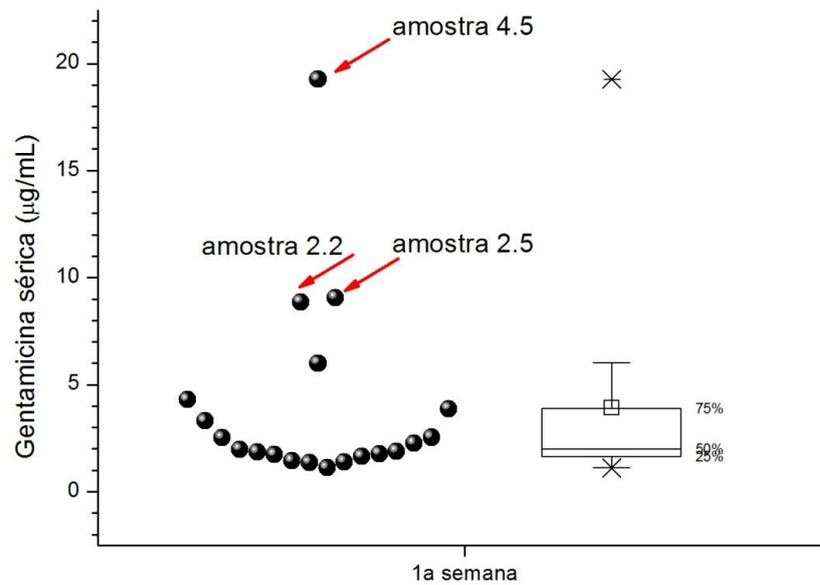


Figura 7 - Concentrações de gen (esferas) em amostras de soro (N = 20) obtidas na 1ª semana de monitoramento. Média = 3,9 (quadrado), mediana = 2,1 e amplitude interquartil (AIQ) = 2,4 (*Box plot*). Setas indicam amostras “atípicas” com as maiores concentrações de gen. Amostras atípicas são aquelas localizadas a uma distância maior que 1,5 x AIQ (Q3 – Q1) abaixo do 1º quartil (Q1=25%) ou acima do 3º quartil (Q3=75%).

6.5.2. Controle de Inibição de gentamicina

Para cada placa teste (ASM + *B. subtilis* + SPS) eram preparadas duas placas como controle (AMH + *E. coli* com e sem SPS). Somente foram consideradas para análise as amostras de soro que apresentaram ausência de halo de inibição nas placas controle de gen (figura 8A). Foram excluídas do teste, por não atenderem a este requisito, 10 amostras (10%) de um total de 101.

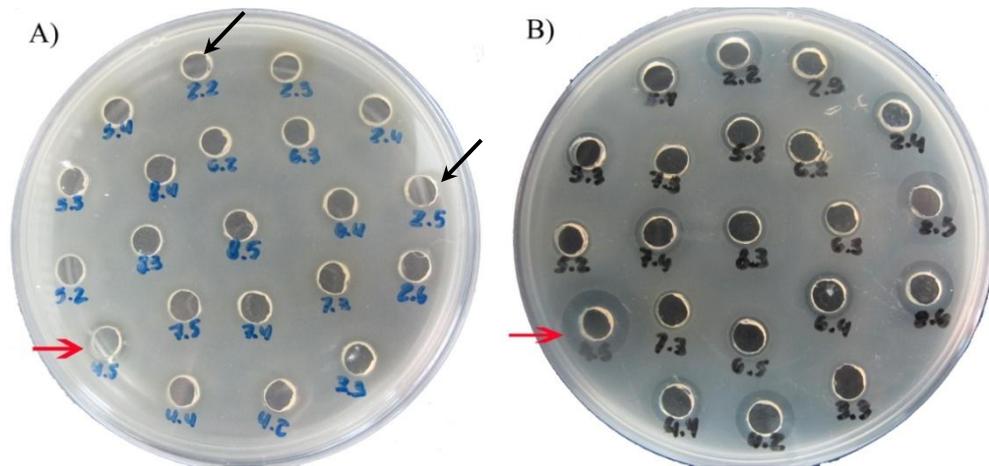


Figura 8 – Controle da inibição de gen pelo SPS. (A) AMH acrescido de SPS a 1% inoculado com *E. coli* ATCC 25922, mostrando ausência de halos de inibição (exceto amostra 4.5); (B) AMH sem SPS inoculado com *E. coli* ATCC 25922, mostrando halos de inibição, resultantes da presença de gen. Nos poços foram adicionados 35 μ L dos soros dos pacientes coletados nos diferentes tempos. Qualquer halo detectado na placa (A) indicaria falha na inibição da gen (seta vermelha), sendo essa amostra (4.5) descartada do ensaio microbiológico. As setas pretas indicam as amostras com as maiores concentrações de gen inibidas pelo SPS (amostra 2.5 = 9,06 μ g/mL e amostra 2.2 = 8,86 μ g/mL).

6.5.3. Bioensaio de vancomicina

A linearidade da curva padrão de van foi alcançada com o coeficiente de regressão (R^2) de 0,997. A figura 9 mostra as médias e desvios dos halos de inibição da curva padrão. Foram analisadas neste ensaio 101 amostras de soro, entretanto 10 amostras foram descartadas por conterem concentrações de gen superiores à capacidade inibitória do SPS, e outras seis foram descartadas por suspeita de presença de outras substâncias inibidoras além de van (discrepância entre resultados do imunoensaio e bioensaio). No total foram, de fato, analisadas 85 amostras de soro, representadas na figura 10.

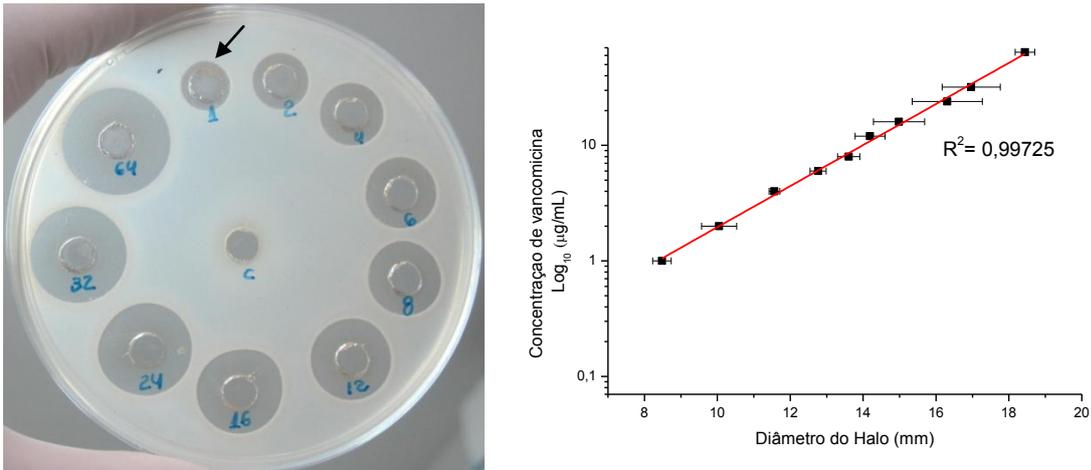


Figura 9 – Curva padrão de van. (A) Halos de inibição de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 em meio ASM. Os poços contém (sentido horário a partir da seta) 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32 e 64 µg/mL. No centro (c) soro humano utilizado como diluente do antimicrobiano (amostra branca). (B) Representação gráfica das medidas dos halos de inibição produzidos pela van versus concentração do fármaco. Os pontos representam os valores médios do ensaio e as barras os respectivos desvios. R^2 = coeficiente de regressão.

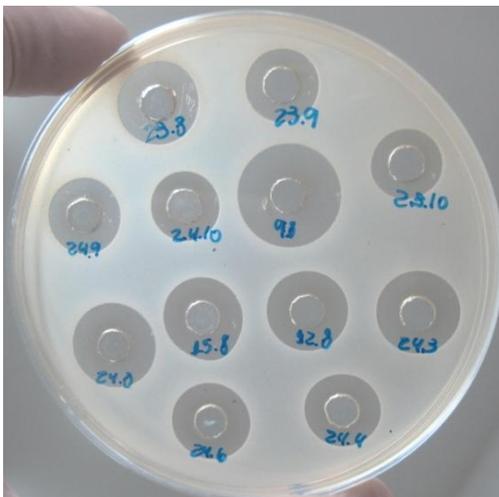


Figura 10 – ASM com SPS 1% inoculado com *Bacillus subtilis* ATCC 6633, mostrando halos de inibição, resultantes da presença de vancomicina nas amostras de soro.

As concentrações séricas de van de 78 amostras que foram determinadas pelo CMIA (padrão ouro) foram pareadas e correlacionadas com aquelas obtidas pelo bioensaio (figura 11). Os dois métodos apresentaram uma ótima correlação tanto no meio ASM ($R^2 = 0,96$) quanto no meio AMH ($R^2 = 0,91$).

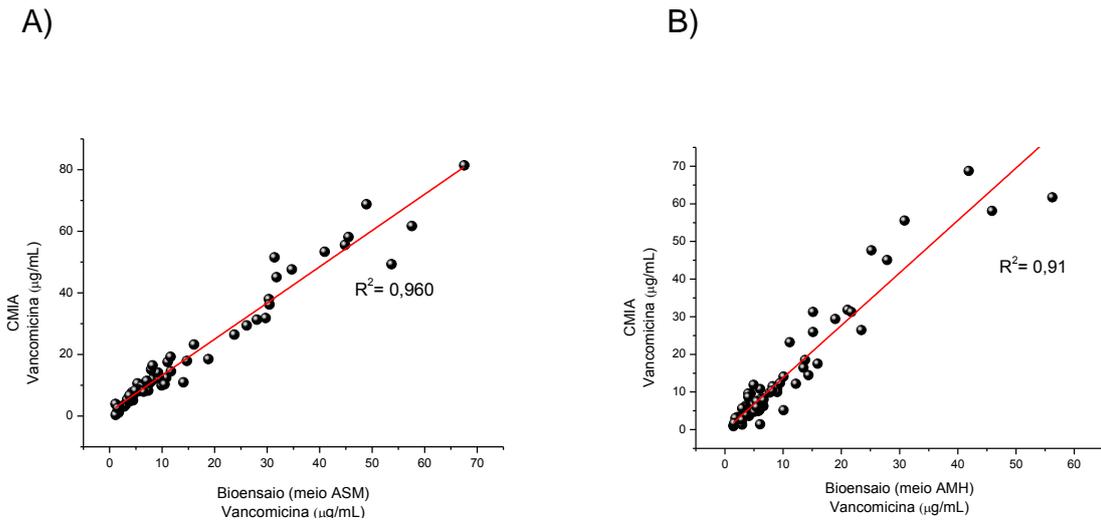


Figura 11 – Correlação entre os métodos de quantificação das concentrações séricas de van (N=78). (A) biensaio (meio ASM) *versus* imunoensaio (CMA). (B) biensaio (meio AMH) *versus* imunoensaio (CMA). Foram excluídas desta análise 05 amostras que não foram pareadas devido a extrapolação da curva padrão do imunoensaio e 02 amostras que não continham volume suficiente para análise. R^2 = coeficiente de regressão.

Utilizando como referência para análise o meio ASM, devido a sua melhor correlação com o imunoensaio, observou-se que a média dos resultados obtidos com o biensaio foram 22% menores do que os valores correspondentes obtidos pelo imunoensaio. As médias e desvios padrão das dosagens feitas nos dois métodos são ilustrados na tabela 6. A reprodutibilidade do ensaio é ilustrada na análise de correlação apresentada na figura 12. Os resultados de bioensaio obtidos nos meios ASM e AMH apresentaram correlação de 0,913 (figura 13) e foram estatisticamente similares ($p=0,09$), embora o meio ASM apresente maior sensibilidade (figura 5).

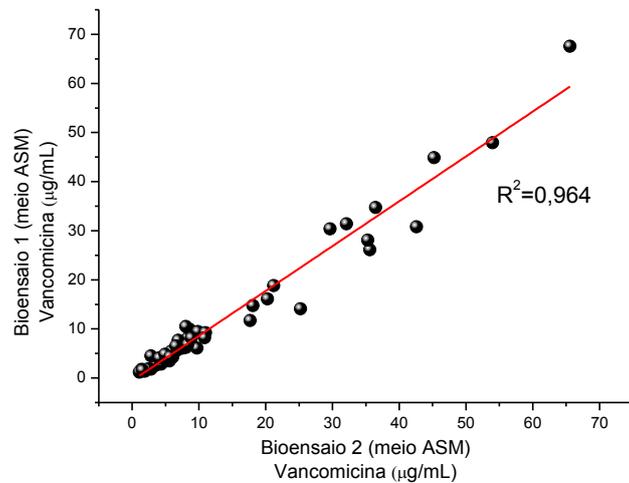


Figura 12 – Reprodutibilidade dos resultados do bioensaio (meio ASM) para quantificação de van. Cada ponto representa o resultado de dois ensaios realizados em dias diferentes com as mesmas amostras de sangue (N = 59). $R^2 = 0,964$, $p < 0,05$. R^2 = coeficiente de regressão.

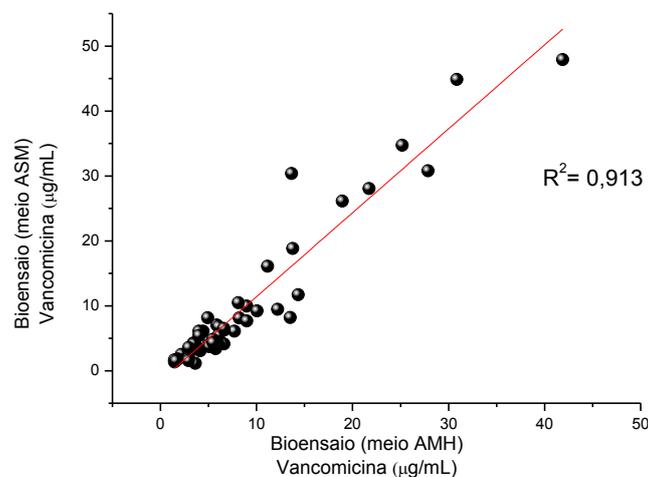


Figura 13 – Correlação entre os resultados do bioensaio obtidos nos meios ASM e AMH (N=54). $R^2 = 0,913$, $p < 0,05$. R^2 = coeficiente de regressão

Tabela 6 – Estatística descritiva das concentrações séricas de van obtidas pelos métodos bioensaio em meio ASM e imunoensaio (CMIA).

Metodologia	N	Média	Desvio		Somatório	Q1	Mediana	Q3	Máximo
			Padrão						
Bioensaio em ASM	78	12,84	14,92	1001,88	3,87	6,36	14,08	67,54	
Imunoensaio	78	16,56	17,93	1291,68	5,4	9,7	17,92	81,41	

6.5.4. Validação

Na validação do bioensaio de van obteve-se um coeficiente de regressão linear = 0,97726 e a equação $y = 0,39836 + 1,26301x$, onde y equivale às concentrações dosadas pelo CMIA e o x as concentrações determinadas pelo bioensaio. Os resultados alcançados no 2º bioensaio (x) foram lançados na equação $y = 0,39836 + 1,26301x$, obtendo-se o valor y que equivale à concentração dosada pelo CMIA. Os valores resultantes deste ajuste foram pareados com os dados obtidos pelo CMIA para as mesmas amostras e analisados pelo teste t de *Student*. Esta análise revelou que os valores de concentrações séricas de van obtidos pelos dois métodos não são significativamente diferentes ($p > 0,05$), ou seja, qualquer resultado de dosagem de van obtido pelo método de bioensaio descrito neste estudo, quando aplicado à referida equação, resultará em valor equivalente àqueles alcançados pelo método padrão ouro (CMIA).

6.6. Desfecho Clínico

De 52 casos de pacientes com ICS por *S. aureus*, ocorreram um total de nove episódios (17%) de falha terapêutica com van, segundo os critérios anteriormente definidos. Esses episódios foram distribuídos da seguinte forma: cinco pacientes (9%) morreram dentro de 30 dias após hemocultura positiva, um paciente (2%) apresentou hemocultura positiva para *S. aureus* obtida 10 dias após início e antes do término da terapia com van (falha microbiológica) e três (6%) pacientes tiveram bacteremia recorrente por *S. aureus* dentro de 60 após término da antibioticoterapia.

Falha terapêutica ocorreu em 1/12 (8%), 5/28 (18%) e 3/7 (42%) dos pacientes infectados por isolados *S. aureus* com CIMs de van de 0,5, 1 e 2 µg/mL, respectivamente.

7. DISCUSSÃO

As infecções permanecem como uma das principais causas de morbidade e mortalidade, como também de hospitalização, entre os pacientes em tratamento hemodialítico (VANDECASTEELE, et al., 2009; US RENAL DATA SYSTEM, 2009). A prevenção, o controle e o tratamento dessas infecções bacterianas, como também fúngicas, são motivos de constante preocupação para os profissionais da saúde.

Tendo em vista dados da literatura que apresentaram uma incidência anual de bacteremias em pacientes submetidos à HD variando de 7,6 a 14,4 episódios por 100 pacientes (KESSLER, et al., 1993, HOEN, et al., 1998; VANDECASTEELE, et al., 2009) chama a atenção a elevada a incidência de ICS no primeiro ano deste estudo (28,5%). No entanto, houve recuo desse índice ao longo do segundo ano. Presume-se que haja ocorrido maior rigor nos procedimentos de controle de infecção nas unidades de hemodiálise participantes, como melhorias no processo de purificação da água e maior respeito às normas de biossegurança, como também, aumento da adesão dos pacientes às orientações sobre cuidados pessoais para manutenção e assepsia dos acessos vasculares.

Neste estudo, 28% dos pacientes com confirmação de ICS tinham mais de 60 anos, com idade média de 51 anos. Faixas etárias similares foram encontrados em estudos com pacientes nas mesmas condições, em tratamento hemodialítico com ICS (MARR et al., 1998; GAUNA, et al., 2013). Pesquisas prévias mostram que a resposta do sistema imunológico pode declinar com o avanço da idade, e frequentemente esses indivíduos são portadores de doenças crônicas coexistentes, como HAS e diabetes, tornando a população idosa mais vulnerável às infecções (LEMAOULT, et al., 1997; WICK, GRUBECK-LOEBENSTEIN, 1997). Além disso, idade avançada tem se mostrado um fator de risco independente para infecção na população submetida à hemodiálise (POWE, et al., 1999; DALRYMPLE, et al., 2010).

O uso de cateter é uma importante causa de infecções graves nos pacientes em HD, sendo que a maioria das bacteremias em pacientes em HD são relacionadas à infecção do cateter (BEATHARD, et al., 2008; VANHOLDER, et al., 2010). Esses pacientes que dependem de cateter para realização da HD estão em maior risco para todas as causas de infecção (ALLON, et al., 2006; LACSON, et al., 2009),

assim, quando estes apresentam sintomas sugestivos de infecção, se assume o diagnóstico de bacteremia relacionada ao cateter (ALLON, et al., 2004). Contudo, também devem ser considerados sinais que sugiram fonte de infecção alternativa, relacionadas ou não ao acesso (AL-SOLAIMAN, et al., 2011).

A incidência de bacteremia é maior em pacientes com cateter de HD do que naqueles com FAV ou Enxerto Sintético AVG (FAN et al., 1992; INRIG, et al., 2006; ALLON, et al., 2007). Pelos resultados de um estudo multicêntrico, prospectivo, envolvendo 988 pacientes com DRCT, Hoen e colaboradores, 1998, puderam estimar que o risco relativo de bacteremia fosse 7,64 vezes maior em pacientes com cateter de HD quando comparados com aqueles com FAV.

Em nosso estudo, o CDL estava presente como acesso vascular em 83% das ICS confirmadas. Resultados similares foram encontrados em um estudo de Xue e colaboradores, 2013, onde foi analisada a evolução dos acessos vasculares de pacientes em seu primeiro ano de tratamento hemodialítico. Os dados apresentados mostraram que 88% desses pacientes tiveram ICS relacionadas ao uso do cateter de HD.

Embora os cocos Gram positivos sejam, historicamente, os principais agentes causadores de ICS em pacientes sob HD (FITZGIBBON, et al., 2011), há estudos recentes que relatam uma elevação da incidência de microrganismos Gram negativos como causa de ICS nesta população (ALEXANDRAKI, et al., 2008; GAUNA, et al., 2013; GAFOR, et al., 2014), em concordância com achados deste estudo, onde a incidência de bacilos Gram negativos também foi ligeiramente maior comparada aos cocos Gram positivos. Um estudo nacional de controle de patógenos de importância epidemiológica (SCOPE Brasil) publicado em 2011 envolvendo 2.563 pacientes revelou a ocorrência de microrganismos Gram negativos em 58,5% das ICS de origem hospitalar, contra 35,4% de Gram positivos, e 6,1% de fungos (MARRA et al., 2011). Surtos de ICS por bactérias Gram negativas podem estar associados à inadequada desinfecção da água ou do sistema de distribuição (FAVERO, et al., 1974; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1991), estado imunocomprometido do paciente (VELASCO, et al., 2004; VELASCO, et al., 2006), limpeza inadequada dos resíduos da máquina de diálise (WANG, et al., 1999). De modo geral, alguns estudos tem relacionado a maior ocorrência de Gram negativos com as temperaturas mais elevadas dos países tropicais. Outra explicação seria o uso aumentado de antimicrobianos direcionados para os Gram negativos o

que selecionaria microrganismos mais propensos a desenvolver múltipla resistência, como os não fermentadores (MARRA, 2011).

Assim como em nossos achados, estudo de Gauna e colaboradores, 2012, em uma unidade de HD do Mato Grosso do Sul, detectaram uma maior prevalência do *Stenotrophomonas maltophilia* como bacilo Gram negativo causador de ICS (24,1%). A terapia empírica contra bactérias Gram negativas, instituída nas unidades de HD de nosso estudo, fundamenta-se no uso de um aminoglicosídeo, a gen. De tal forma que o protocolo de tratamento empírico adotado compreende a associação de van (para cobertura de cocos Gram positivos) e gen intravenosa (para cobertura de bacilos Gram negativos) até que sejam obtidos os resultados de identificação do microrganismo causador da ICS e seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. Embora esse aminoglicosídeo seja indicado na cobertura de bacilos Gram negativos (NASSAR; AYUS, 2001; O'GRADY et al., 2002; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007; ALLON, 2009), ele tem pequena atividade contra *S. maltophilia* devido a mudanças no microambiente da superfície celular deste patógeno, secundárias a alterações no conteúdo de fosfato dos lipopolissacarídeos, a baixas temperaturas de crescimento (RAHMATI-BAHRAM, et al., 1997). Assim, se mostra necessária uma reavaliação dos protocolos de terapia antimicrobiana empírica destas unidades de HD estudadas para adequação da cobertura contra os microrganismos Gram-negativos prevalentes.

No que diz respeito aos microrganismos Gram positivos como causadores de ICS, outros estudos no Brasil corroboram com os dados aqui apresentados, mostrando uma frequência de 28 a 49% de cocos Gram positivos isolados de hemoculturas de pacientes submetidos à HD (GROTHER et al., 2010; ESMANHOTO, et al., 2013; GAUNA, et al., 2013). Diversos autores reportam *S. aureus* como os mais comuns microrganismos causadores de infecções graves nessa população, responsáveis por 27,7 a 42,5% de todas as ICS em pacientes hemodialíticos (TOKARS et al., 2001; GILAD, et al. 2005; LAFRANCE, et al., 2010), seguidos também pelos SCoN que representam 14,2 – 35,8% de todos microrganismos causadores das ICS que acometem esse mesmo grupo (TOKARS et al., 2001; DOPIRAK, et al., 2002; GILAD, et al. 2005). Nossos resultados também mostraram uma maior incidência de *S. aureus* e SCoN como causadores de ICS no grupo de pacientes estudados, 24 e 15%, respectivamente. Nos últimos anos, tornou-se

evidente que microrganismos antes considerados quase sempre contaminantes, como os ScoN, passaram a ser cada vez mais comumente isolados e algumas vezes associados a infecções verdadeiras (principalmente relacionadas a dispositivos invasivos), frequentemente confundindo a avaliação clínica (WEINSTEIN, 1997 apud ARAÚJO, 2012; HORAN, et al., 2008). Dessa forma, toda hemocultura positiva, com microrganismos potencialmente contaminantes, deve ser criteriosamente avaliada. Nos casos de contaminação, geralmente somente uma amostra (dentre duas ou mais coletadas) apresenta positividade. Ou seja, a coleta de uma única amostra perde todo o significado, tornando impossível esta avaliação. Ainda e apesar disso, alguns estudos mostram que mesmo uma única amostra com ScoN pode ser indicativa de infecção em determinadas situações (principalmente associadas a cateter intravascular) (WEINSTEIN, et al., 1997, 2003 apud ARAÚJO, 2012; HORAN, et al., 2008). É importante considerar ainda que, o único modo de determinar com certeza se dois ou mais isolados representam a mesma linhagem é fazendo a tipagem molecular, embora o uso de dados clínicos em combinação com o antibiograma ou a combinação de antibiograma e padrão bioquímico já tenham sido propostos como meio para determinar se vários isolados representam múltiplos contaminantes ou uma única linhagem infectante (KONEMAN, 2008).

Em todo o mundo, as infecções por MDRs são motivo de grande preocupação, apesar dos contínuos avanços no desenvolvimento e emprego de novos agentes antimicrobianos (GOOSSENS, LIPSITCH, 2006; MOELLERING, FISHMAN, 2006). A diminuição de opções terapêuticas para infecções graves causadas por bactérias Gram positivas MDRs, especialmente cepas MRSA nos pacientes em HD, tem levado ao uso de van como fármaco de primeira escolha no caso de suspeitas ou confirmação de infecções por MRSA (LIU, et al., 2011). Assim, a recomendação do uso empírico de van nas unidades estudadas é justificada pela presença de resistência à oxa em 17% das amostras de *S. aureus* (referidas como MRSA), e em 58% das amostras dos isolados dos ScoN. A van, ainda mantém níveis elevados de atividade contra estes microrganismos, a despeito do surgimento de linhagens VRSA (*S. aureus* vancomicina-resistentes) e VISA (*S. aureus* vancomicina-intermediário) em algumas partes do mundo (NASSAR; AYUS, 2001; O'GRADY, et al., 2002; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007; ALLON, et al., 2007, 2009; TENOVER et al., 2009). Porém, alguns estudos

apontam para um aumento progressivo na CIM de van, conhecido como "MIC creep" (RHEE, 2005; STEINKRAUS, 2007; MASON, 2009). Em nosso estudo, todos os isolados de *S. aureus* foram sensíveis a van, contudo, a CIM deste antimicrobiano foi de 1 ou 2 µg/mL para a maioria dos *S. aureus* recuperados de ICS (74.5%), corroborando os referidos achados de "MIC creep". Muitos estudos identificaram uma redução na eficácia de van e falhas no tratamento de ICS e pneumonias causadas por MRSA com CIM = 2 µg/mL (limite de sensibilidade) (HIDAYAT, et al., 2006; MOISE, et al., 2007; SORIANO, et al., 2008; LODISE, et al., 2008). Adicionalmente, outros autores também sugerem que a identificação de isolados com CIM ≥2 µg/mL em pacientes com infecções da corrente sanguínea por MRSA pode ser um preditivo de falha terapêutica com van, exigindo adequada antibioticoterapia alternativa (RYBAK, et al., 2009; YOON, et al., 2010; MATSUMOTO, et al., 2013). Embora o CSLI tenha reconsiderado e reduzido o breakpoint de susceptibilidade de van de 4µg/mL para 2µg/mL (CLSI, 2006), o relato de aumento nas taxas de falhas no tratamento em infecções por MRSA com CIM de 2 µg/mL para van tem provocado debates e questionamentos sobre o *break point* de susceptibilidade da CIM, se este deveria diminuir ainda mais (VAN HAL, LODISE, PATESON, et al., 2012). Assim, a presença de isolados de *S. aureus* com CIM = 2 µg/mL para van identificados neste estudo, sugere que os pacientes infectados por estas cepas apresentam maior chance de sofrerem falha terapêutica. E, de fato, 42% dos referidos pacientes apresentaram falha terapêutica enquanto para isolados com CIMs de 0,5 e 1µg/mL, estes índices foram de 22 e 27%, respectivamente. Moise-Broder e colaboradores, 2004 também mostraram esta relação direta entre maiores CIMs e falha terapêutica, encontrando taxas de falha no tratamento com van em 22, 27 e 51% dos pacientes infectados por *S. aureus* com CIM de 0,5, 1 e 2 µg/mL, respectivamente.

Realmente, vários investigadores sugerem que a CIM de van exerce grande impacto sobre a eficácia do antimicrobiano e sobre a taxa de mortalidade em pacientes com ICS por MRSA (HOWDEN, 2004; SORIANO, et al., 2008; TAKESUE, et al., 2011; JUNG, et al., 2013). Kullar e colaboradores, 2011, relataram que alguns clínicos têm utilizado a CIM de van como marcador para tomada de decisões com respeito à terapêutica e como preditor de falha no tratamento, particularmente em bacteremias por MRSA. Estudo de Soriano e colaboradores, 2008, sugere que, no

caso de infecções por cepas MRSA com CIM de van > 1µg/mL, este antimicrobiano não deve ser considerado como uma opção terapêutica adequada, mesmo quando se utiliza como alvo CSM de van >10 µg/mL.

Essa influência da CIM sobre a efetividade do tratamento com van foi avaliada por Moise-Broder e colaboradores, 2004, em um modelo experimental *in vitro* e com camundongos neutropênicos, no qual se demonstrou que o melhor preditor para atividade da van contra *S. aureus* é uma AUC/CIM >400. Uma elevação da CIM de 1 para 2 µg/mL reduziria a AUC/CIM à metade. A probabilidade de se obter uma razão AUC/CIM > 400 com CIM = 1 µg/mL e concentrações séricas de van de 10 ou 15 µg/mL é de 40 e 60%, respectivamente. Porém essa probabilidade seria de 0% com a CIM = 2 µg/mL (MOHR; MURRAY, 2007). As cepas de *S. aureus* deste estudo apresentaram CIM₅₀ = 1 µg/mL e CIM₉₀ = 2 µg/mL. A CIM para a maioria do isolados (59,5%) foi de 1 µg/mL e nesses casos, segundo dados da literatura, seria necessário que fossem alcançadas concentrações séricas de van no intervalo de 15-20µg/mL para se assegurar a obtenção de uma razão AUC/CIM ≥400 em todos os pacientes (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013), logo torna-se fundamental o conhecimento sobre as CSM de van que estão sendo alcançadas nestes pacientes.

Considerando as dificuldades em se alcançar sucesso terapêutico com van em isolados de *S. aureus* com elevadas CIMs, a dap tem sido proposta como fármaco alternativo à van para o tratamento de ICS estafilocócicas, especialmente por MRSA (LIU, et al., 2011; KALIMUDDIN, et al., 2014; WESTON, GOLAN, SNIYNDMAN, 2014). Diversos autores tem relatado melhores resultados terapêuticos de dap em relação a van, considerando taxa de mortalidade e sucesso clínico (MOORE, et al., 2012; CHENG, et al., 2013; MURRAY, et al., 2013). Porém, esses resultados devem ser interpretados com cautela, por se tratarem de estudos retrospectivos não randomizados. Além disso, foi observada uma resistência cruzada entre cepas com elevadas CIMs de van e a dap e isso tem sido associado com falha terapêutica com dap (VAN HAL, et al. 2011). Dos antimicrobianos avaliados em nosso estudo a dap mostrou a melhor atividade contra *S. aureus* e ScoNs depois de van, representando uma alternativa em caso de baixa susceptibilidade a van e resposta clínica ruim. YONN e colaboradores, 2010, também recomendam antimicrobianos alternativos no tratamento de ICS por MRSA,

incluindo agentes como a teicoplanina, linezolida, quinupristina/dalfopristina e a própria dap.

A linezolida, uma oxazolidinona, possui atividade bacteriostática pela ligação ao ribossomo 50S e inibição da síntese de proteínas (MOELLERING, et al., 2003; WEIGELT, et al., 2005). Resultados de uma análise retrospectiva de cinco estudos randomizados agrupados não identificou atividade superior de linezolida comparada à van no tratamento de pacientes com bacteremia por MRSA (SHORR, et al., 2005). Stevens e colaboradores, 2002, relataram eficácia similar de linezolida e van no tratamento de bacteremias por MRSA com 56 e 50% de taxa de cura, respectivamente. Porém, também tem sido descrito na literatura resistência à linezolida e falha terapêutica (CORNE, et al., 2005; MENDES, et al., 2008; SÁNCHEZ, et al., 2010). Além disso, preocupações com efeitos adversos que incluem a acidose láctica, neuropatia periférica e trombocitopenia muitas vezes limitam o uso de linezolida (PERRY, JARVIS, 2001; PALENZUELA, 2005; SENNEVILLE, et al., 2006; LAWRENCE, et al., 2006).

O glicopeptídeo teicoplanina tem o mesmo espectro de atividade que a van (FINCH, ELIOPOULOS, 2005). Resultados de um estudo prospectivo, multicentro, sugerem que a teicoplanina é uma alternativa eficiente e segura no tratamento de bacteremias por MRSA (YOON, et al., 2014). Em uma meta-análise de 11 estudos clínicos, que incluíam 1276 pacientes, a eficácia da van e teicoplanina foram similares, mas houve menos episódios de febre e síndrome do “homem vermelho” em pacientes tratados com teicoplanina (WOOD, et al., 1996). Resultados de outra meta-análise identificaram um menor risco de nefrotoxicidade com teicoplanina do que com van (CAVALCANTI, et al., 2010).

Poucas evidências têm sugerido que a quinupristina-dalfopristina seja uma opção terapêutica para infecções por MRSA, incluindo bacteremia (HOLLAND, et al., 2014). Além disso, os efeitos adversos associados ao uso da quinupristina-dalfopristina, que incluem a hiperbilirrubinemia, mialgia, artralgia e náusea, limitam seu uso na rotina (DREW, et al., 2000).

Recentes diretrizes de monitoramento terapêutico de van recomendam que as CSM deste antimicrobiano sejam sempre mantidas >10 $\mu\text{g/mL}$ para evitar o

desenvolvimento de resistência e aconselham que em casos de infecções graves como bacteremia, endocardite, pneumonia, meningite e osteomielite causadas por *S. aureus*, sejam feitos esquemas de dosagens mais agressivos, que mantenham as concentrações entre 15 e 20 µg/mL, o que aumentaria a probabilidade de se obter adequadas concentrações séricas de van, potencializando a penetração da droga e melhorando os desfechos clínicos (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013). Porém, essa necessidade de aumento nas concentrações terapêuticas incrementam o risco de nefrotoxicidade associado à van (LODISE, et al., 2009; KULLAR, et al., 2012). De fato, MERGENHAGEN e colaboradores, 2014, relata que níveis séricos >20µg/mL são um dos fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade, especialmente importante no paciente com insuficiência renal. Neste sentido, o monitoramento das concentrações séricas de van é recomendado não somente para garantir a obtenção concentrações séricas clinicamente eficazes, mas também evitar concentrações tóxicas (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013; YE, TANG, SUO-DI, 2013). Porém, na literatura, são escassas as informações de dosagens adequadas para obtenção dessas concentrações séricas alvo, recomendadas nessas diretrizes, em pacientes submetidos à HD (PALLOTA, et al., 2008; VANDECASTEELE, et al., 2011).

Merece destaque o fato de que à exceção dos pontos de concentração sérica máxima (C_{max}), a maior parte das amostras (77,8%) apresentou concentrações séricas inferiores a 10 µg/mL nas duas semanas de terapia. E quando consideradas apenas as amostras coletadas imediatamente antes da próxima dose de van (CSM), nos tempos de 96 ou 120 horas nas duas semanas, 90,6% das amostras continham van em concentrações inferiores àquelas recomendadas. Marengo e colaboradores, 2009, realizaram um estudo em um conjunto hospitalar em Sorocaba, SP, com atendimento de pacientes que necessitavam de tratamento hemodialítico. O protocolo de tratamento de infecções do serviço recomendava a administração de dose fixa de 1 g de van a cada 7 dias (similar ao realizado em nosso estudo). Os resultados mostraram que 86% dos pacientes apresentavam concentrações séricas de van <10 µg/mL em todos os tempos de coleta (48, 96, 120 e 144 horas) após a administração de van. Outro estudo, de Vitória e Clipes, 2013, com amostras de pacientes nas mesmas condições e esquema terapêutico citado, de Governador Valadares, Minas Gerais, mostrou que 61% das amostras de soro continham

concentrações de van <10 µg/mL. Estudos de Sakoulas e colaboradores, 2006 e Howden e colaboradores, 2004, mostraram uma associação entre CSM de van menores que 10 µg/mL e ineficácia do tratamento, que pode potencialmente promover emergência de cepas resistentes à van. Ademais, considerando o ponto de corte de 15 µg/mL para obtenção de uma AUC/CIM >400, para melhorar as chances de sucesso terapêutico (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013), nenhuma das amostras atingiu esta meta. Ainda neste contexto, tendo em conta os valores de CIM₉₀ e CIM₅₀ (2 e 1 µg/mL, respectivamente), cinco amostras (15,6%) apresentaram concentrações séricas <2 µg/mL e uma amostra (3,1%) com concentração <1 µg/mL, comprometendo substancialmente a atividade bactericida de van. Entretanto, falha terapêutica foi detectada em somente 17% dos pacientes do com ICS por *S. aureus* no presente estudo. Em verdade, embora as diretrizes publicadas recentemente defendam e recomendam a manutenção de CSM mais elevadas de van (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013), existe um crescente número de estudos cujos resultados mostram que a otimização desse índice farmacocinético (≥ 15 µg/mL) parece não ter correlação com a resposta clínica (JEFFRES, et al., 2006; LODISE, et al., 2008; CLEMENS, et al., 2011). Os desfechos clínicos do estudo de Clemens e colaboradores, 2011, mostraram que entre o grupo de paciente com CSM de van <15 µg/mL a falha do tratamento ocorreu em 5/29 (19%) dos pacientes, valores próximos aos obtidos em nosso estudo. Curiosamente, nesse mesmo trabalho de Clemens e colaboradores, houve uma taxa maior de falha terapêutica naqueles pacientes com CSM de van ≥ 15 µg/mL (18/68 (27%)). Assim, apesar de van ainda ser considerado o antimicrobiano de escolha para o tratamento de MRSA, a otimização de seus índices farmacocinéticos e estratégias para melhorar os resultados clínicos parecem controversos. De fato, Holland et al, 2014, realizaram uma revisão sistemática das evidências que apontam para qual é a antibioticoterapia ideal para a bacteremia por MRSA e concluíram que são urgentes ensaios clínicos de alta qualidade que comparem as estratégias de tratamento, os antimicrobianos e as durações dos tratamentos para se otimizar o manejo das ICS por MRSA.

Uma provável explicação para as baixas concentrações séricas de van encontrados nos pacientes em estudo é o esquema de dosagem empregado (dose fixa de 1 g a cada 4-5 dias). Na realidade este protocolo é adotado em muitos hospitais e clínicas de HD no Brasil (MARENGO, et al., 2009). Isto ocorre devido à

escasses de informações na literatura a cerca de como atingir os alvos séricos de van em pacientes com DRCT (PALLOTA, et al., 2008; VANDECASTEELE, et al., 2011). Revisões de consenso para monitoramento terapêutico de van em pacientes adultos, publicada por Rybak e colaboradores, 2009, e outra publicada por Matsumoto e colaboradores, 2013, recomendam que as dosagens deste antimicrobiano sejam baseadas no peso do paciente. Além disso, devido à prolongada meia vida da van (100-200h) em pacientes com insuficiência renal, o tempo para alcançar o estado estacionário também é maior, tornando necessária uma dose de ataque para rápida obtenção de concentrações terapêuticas (MATSUMOTO, 2013). Resultados de uma pesquisa de Pollard, e colaboradores, 1994, mostram que 48 horas após a administração de uma dose inicial de van de 20 mg/Kg, a média das concentrações séricas deste antimicrobiano foi de $20,2 \pm 3,6$ µg/mL. Um estudo de Barth e DeVincenzo, 1996, demonstrou que a administração de doses iniciais de 15, 20 e 25 mg/Kg resultaram em concentrações de 12,6, 16,3, 20,1 µg/mL, respectivamente, 48 horas após infusão de van. *Japanese Society of Chemotherapy e Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring* (MATSUMOTO, et al., 2013) também recomendam uma dose de ataque de 20-25 mg/kg para uma rápida obtenção de concentrações séricas no intervalo de 15-20 µg/mL nesses pacientes. Ademais, também recomendam um ajuste na dose de manutenção, se necessário, após a obtenção das concentrações séricas recomendadas.

Nas unidades de HD estudadas não é feita a dose de ataque, e concentrações subterapêuticas já puderam ser detectadas já nas primeiras 48-72h após infusão deste antimicrobiano, sinalizando que os pacientes ficariam expostos a baixas concentrações por mais alguns dias até a próxima administração do fármaco.

Além das inadequações nos esquemas de dosagem, outra dificuldade na adequação do tratamento com van no paciente em HD é o monitoramento sérico deste fármaco, que embora fortemente recomendado (RYBAK, et al., 2009; MATSUMOTO, et al., 2013) nos caso de isolados com CIM > 1 µg/mL e ausência de resposta clínica, não é uma realidade na rotina das Unidades de Assistência de Alta Complexidade em Nefrologia no Brasil (MARENGO, et al., 2009). De nosso conhecimento, nenhum hospital ou unidade de hemodiálise na Grande Vitória realiza o doseamento sérico de van em pacientes críticos. Um dos fatores limitantes para este procedimento é o custo elevado dos *kits* de ensaio e ausência de laboratórios

clínicos que dispõem do equipamento necessário às análises e que incluam este teste em suas rotinas.

Assim, foi realizado neste estudo um doseamento alternativo de van utilizando o método microbiológico clássico de difusão em ágar (bioensaio) proposto por Walker e colaboradores, 1977, e Edberg, Bottenbley e Gam, 1981 com adaptações para nossas condições de trabalho.

As concentrações séricas de van obtidas das amostras CMIA (padrão ouro) foram correlacionadas com aquelas obtidas pelo bioensaio. Os dois métodos apresentaram uma ótima correlação tanto no meio ASM ($R^2 = 0,96$) quanto no meio AMH ($R^2 = 0,91$). Valores de coeficiente de regressão linear (R^2) idênticos aos nossos (em meio ASM) também foram encontrados por Kureish e colaboradores, 1990, e Pohlod, e colaboradores, 1984, ($R^2 = 0,96$) ao compararem os resultados de concentrações séricas de van obtidas pelo bioensaio e pelo imunoensaio por polarização fluorescente (FPIA). Os valores dos resultados de dosagem das concentrações séricas de van obtidos pelo método de bioensaio depois de aplicados na equação da reta obtida foram equivalentes àqueles alcançados pelo método padrão ouro (CMIA) descrito neste estudo, mostram a precisão, acurácia do bioensaio na determinação de vancomicina.

As amostras de soro que apresentaram halo de inibição nas placas controle foram excluídas do teste, este fato ilustra a principal limitação do método microbiológico que são as terapias combinadas. Em nosso estudo, supostamente, os pacientes recebiam apenas van em associação com a gen. Entretanto as amostras excluídas do estudo revelaram ou a presença de concentrações elevadas de gen (não inibidas pelo SPS) ou a presença de outra substância antimicrobiana nas amostras de soro.

Como já mencionado, a principal limitação do método microbiológico é a interferência de antimicrobianos administrados em associação com a van. Nestes casos torna-se fundamental o emprego de técnicas para a neutralização da atividade antimicrobiana dos fármacos de interferência. Beta-lactâmicos, por exemplo, podem ser inibidos pela adição de beta-lactamases, enquanto a gen é neutralizada pela adição de SPS que é bem conhecido como agente neutralizador da atividade de aminoglicosídeos (EDBERG, et al., 1976; LORIAN, et al., 2005). Segundo Chapin-

Robertson e Edberg e colaboradores, 2005, as concentrações terapêuticas de gentamicina variam entre 4,0 e 8,0 µg/mL. Em nosso estudo a atividade antimicrobiana de gentamicina nas duas maiores concentrações detectadas (9,06 e 8,86 µg/mL) foi inibida pelo SPS a 1%, dessa forma, os resultados de inibição deste aminoglicosídeo pela adição do SPS a 1% foram considerados satisfatórios.

O método microbiológico para o doseamento de van é o que mais se aproxima da realidade dos laboratórios clínicos de pequeno porte e com poucos recursos, pois oferece aceitável precisão, requer baixo investimento em materiais para sua execução e mínimos custos operacionais diários (POHLÖD, et al., 1984; LORIAN, et al., 2005). Entretanto, como pontos negativos destacam-se o maior tempo de execução por ser mais trabalhoso e depender do tempo de crescimento do microrganismo. Além disso há, ainda, a possibilidade de superestimação dos resultados em amostras que contenham múltiplos antimicrobianos (POHLÖD, et al., 1984), como encontrado em nosso estudo.

8. CONCLUSÕES

- Bactérias do gênero *Staphylococcus* representaram parcela significativa dos microrganismos causadores de ICS nos pacientes em estudo, com maior frequência dos *S. aureus* seguidos dos *S. cohnii*
- A ocorrência de número significativo de cepas de *Staphylococcus* resistentes à oxa justifica o uso empírico da van nestas unidades de HD. Entretanto, a maioria dos isolados de *S. aureus* apresentou CIM de van de 1 µg/mL, o que indica maior probabilidade de falha terapêutica, sendo a daptomicina uma boa alternativa, pois foi o fármaco com melhor atividade antiestafilocócica depois do glicopeptídeo.
- A maioria dos pacientes com ICS, tratados com van, não alcançou as CSM recomendadas para eficácia deste antimicrobiano. Considerando, ainda, o ponto de corte de 15 µg/mL, nenhum dos pacientes atingiu o alvo terapêutico, supostamente em consequência do esquema de doses fixas de 1 g de vancomicina. Entretanto os índices de falha terapêutica foram relativamente baixos.
- O bioensaio em meio ASM e *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como microrganismo revelador se mostrou útil e acessível como método alternativo ao imunoensaio para o doseamento de vancomicina em amostras de soro humano.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do significativo número de amostras com concentrações séricas de van <10 µg/mL (subterapêuticas) e o consequente risco de falha terapêutica e seleção de cepas resistentes noticiado na literatura, é recomendável uma abordagem individualizada na definição do esquema de dosagens de van nestes pacientes, bem como seu monitoramento terapêutico para os devidos ajustes de dose. Entretanto a baixa incidência de falha terapêutica detectada no presente estudo sugere a necessidade de estudos clínicos que evidenciem o real impacto das CSM de vancomicina na eficácia da terapia antiestafilocócica.

10. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, K. C., AGODOA, L. Y. Etiology of bacterial septicemia in chronic dialysis patients in the United States. **Clin Nephrol.** v. 56(2), p 124-131. 2001.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Manual de microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionada a Assistência a saúde.** Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final, maio. 2013.
- ALBANESE, J., LEONE, M., BRUGUEROLLE, B., AYEM, M. L., LACARELLE B., MARTIN C. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of vancomycin administered by continuous infusion to mechanically ventilated patients in an intensive care unit. **Antimicrob Agents Chemother.** Washington DC, v. 44, n. 5, p. 1356–1358, maio, 2000.
- ALEXANDRAKI, I. B. AND PLOTT, D. T., Hemodialysis vascular catheter-related bacteremia: five year epidemiologic shift in organism isolates. **J of the Am Soc of Nephrol**, vol. 16, p. 435A, 2005.
- ALEXANDRAKI, I., et al. Blood Culture Isolates in Hemodialysis Vascular Catheter-Related Bacteremia. **Am J of the Med Scien.** v. 336, Number 4. October 2008.
- ALLON, M., DEPNER, T. A., RADEVA, M., BAILEY, J., BEDDHU, S., BUTTERLY, D., COYNE, D. W., GASSMAN, J. J., KAUFMAN, A. M., KAYSEN, G.A., LEWIS, J. A., SCHWAB, S. J. Impact of dialysis dose and membrane on infection-related hospitalization and death: **Results of the HEMO Study** v. 14(7), p 1863-70. Jul. 2003.
- ALLON, M., DAUGIRDAS, J. T., DEPNER, T. A., GREENE, T., ORNT, D., SCHWAB, S. J. Effect of change in vascular access on patient mortality in hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 47: p. 469– 477. 2006.
- ALLON, M. Current management of vascular access. **Clin J Am Soc Nephrol.** v.2. p. 786-800. 2007.
- ALLON, M. Treatment guidelines for dialysis catheter-related bacteremia: an update. **Am J Kidney Dis.** p. 54:13. 2009.
- AL-SOLAIMAN, Y., ESTRADA E., ALLON, M. The Spectrum of Infections in Catheter-Dependent Hemodialysis Patients. **Clin J Am Soc Nephrol.** v. 6. p. 2247–2252. 2011.
- AL-WAKEEL J. S., et al. Dual femoral vein catheterization as vascular access for hemodialysis. **Angiology.** v. 49 (7), jul. 1998.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care for Patients With Diabetes Mellitus. **Diabetes Care,** V. 25 (1), jan. 2002.
- ANDREW, S. L., JOSEF C. Khronic Kidney Disease. **The Lancet** .v. 379, Issue 9811, 14–20 Jan., p 165–180. 2012.
- ANNE, L., HU, M., CHAN, K., COLIN, L. et al. Potential problem with polarization immunoassay cross-reactivity to vancomycin degradation product CDP-1: its detection in sera of renally impaired patients. **Therap Drug Monitor.** Philadelphia, v. 11, p. 585-591, set., 1989.

- ARIANO, R. E., FINE, A., SITA, D. S., REXRODE, S., ZELENITSKY, S. A. Adequacy of a vancomycin dosing regimen in patients receiving high-flux hemodialysis. **Am J Kidney Dis.** v. 46, p 681-687. 2005.
- AL-WAKEEL. J.S., MILWALLI, A. H., MALIK, G. H., et al. Dual femoral vein catheterization as vascular access for hemodialysis. **Angiology.** v. 49, number 7. jul.1998.
- ARAÚJO, M. R. E. Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados. **J Infect Control.** v.1(1). p. 08-19. 2012.
- BARTH, R. H., DEVINCENZO, N. Use of vancomycin in high-flux hemodialysis: experience with 130 courses of therapy. **Kidney Int.** v. 50:929–36. 1996.
- BAGDASARIAN, N., HEUNG M., MALANI, P. N. Infectious Complications of Dialysis Access Devices. **Infect Dis Clinic of North Amer.** v. 26 (1), p. 127–141, mar. 2012.
- BASTOS, M. G., BREGMAN, R., KIRSZTAJN, G. M.. Doença Renal Crônica: Frequente e Grave, mas também prevenível e tratável. **Assoc Med Bras.** v. 56 (2), p 248-253. 2010.
- BATTS, D. H., LAVIN, B.S., ELIOPOULOS, G.M. Quinupristin/dalfopristin and linezolid: spectrum of activity and potential roles in therapy--a status report. **Curr Clin Top Infect Dis.** v.21: p.227. 2001.
- BECHER, B. N., et al. Using renal transplantation to evaluate a simple approach for predicting the impact of end-stage renal disease therapies on patient survival: observed/expected life span. **Am j Kidney Dis.**, v. 35, p 653-659. 2000.
- BERMAN, S. J. Infections in patients with end-stage renal disease. An overview. **Infect Dis Clin North Am.** v.15, p 709-20, vii. 2001.
- BETJES, M. G. Prevention of catheter-related bloodstream infection in patients on hemodialysis. **Nat Rev Nephrol.** v. 07, p 257–265. 2011.
- BLOEMBERGEN, W.E., PORT, F.K.: Epidemiological perspective on infections in chronic dialysis patients. **Adv Ren Replace Ther.** v. 03, p 201-207. 1996.
- BOMMER, J. Prevalence and socio-economic aspects of chronic kidney disease. **Nephrol Dial Transplant.** v.17, Suppl 11, p 8-12. 2002.
- BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman:** as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH, 2010.
- BRYSKIER, A. Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals. Washington, D.C: **ASM Press**, 2005.
- CANAUD B. Hemodialysis catheter-related infection: time for action. **Nephrol Dial Transpl.** v. 14: p. 2288-2290. 1999.
- CANTÚ, T. G., YAMANAKA-YUEN, N. A., LIETMAN, P. S. Serum Vancomycin Concentrations: Reappraisal of Their Clinical Value. **Clin Infect Dis.** v. 18 (4) p. 501-515. 1994.
- CARTON, J. A., MARADONA, J. A., NUÑO, F. J., FERNANDEZ-ALVERES, R., PÉREZ-GONZALEA, F., ASENSI, V.: Diabetes mellitus and bacteraemia: A comparative study between diabetic and non-diabetic patients. **Eur J Med.** v. 01, p 281–287. 1992.

CAVALCANTI, A. B., GONCALVES, A. R., ALMEIDA, C. S., et. al.. Teicoplanin versus vancomycin for proven or suspected infection. **Cochrane Database Syst Rev.** 2010.

CENDOROGLO, M., JABER, B. L., BALAKRISHNAN, V. S., *et al*: Neutrophil apoptosis and dysfunction in uremia. **J Am Soc Nephrol.** v. 10, p 93–100. 1999.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) Pyrogenic reactions and gram-negative bacteremia in patients in a hemodialysis center. Atlanta: US Department of Health and Human Services, CDC, Epidemic Investigation Report no. EPI, p 91-37. 1991. **Bennett & Brachman's Hospital Infections.** Philadelphia – USA. ed. Lippincott. 5^aed. 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Vital signs: central line-associated blood stream infections—United States, 2001, 2008, and 2009. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** v.60, p 243–248. 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC): Invasive methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections among dialysis patients—United States, 2005. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** v. 56, p 197–199. 2007.

CHANDRA, R. K.: Nutrition, Immunity, and infection: present knowledge and future direction. **Lancet.** v. 01, p 688-691. 1983.

CHAPIN-ROBERTSON, EDBERG. LORIAN V. **Antibiotics in Laboratory Medicine.** Lippincott Williams & Wilkins, 5^a ed. Philadelphia, USA. 2005.

CHEESBROUGH, J. S., FINCH, R. G., BURDEN, R. P. A prospective study of the mechanisms of infection associated with hemodialysis catheters. **J Infect Dis.** v.154, p 579–589. 1986.

CHENG, C. W., HSU, P. C., YANG, C. C., et al. Influence of early daptomycin therapy on treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia with high vancomycin minimum inhibitory concentrations. **Int J Antimicrob Agents.** v. 41: p. 293. 2013.

CHERVU, I., KIERSZTEJN, M., ALEXIEWICZ, J., *et al*: Impaired phagocytosis in chronic renal failure is mediated by secondary hyperparathyroidism. **Kidney Int.** v. 41, p 1501–1505. 1992.

CHOI, E. Y., HUH, J. W., LIM, C. M., et al. Relationship between the MIC of vancomycin and clinical outcome in patients with MRSA nosocomial pneumonia. **Intensive CareMed.** v. 37, p 639–647. 2011.

CHONCHOL, M.. Neutrophil Dysfunction and Infection Risk in End-Stage Renal Disease. **Seminars in Dialysis.** v.19, No 4, p. 291–296. July–August, 2006.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. **CLSI document M100-S16.** Wayne, PA: CLSI, 2006.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement.* CLSI document M100-S24. **Clin and Laborat Stand Instit.** Pennsylvania. USA. 2014.

- CLEMENS, E. C., et al. Relationships between vancomycin minimum inhibitory concentration, dosing strategies, and outcomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. v.71. p. 408–414. 2011.
- COHEN, G., HAAG-WEBER, M., HORL, W. H.: Immune dysfunction in uremia. **Kidney Int Suppl**. v. 62, p S79–S82.1997.
- COLLINS, A. J., FOLEY, R. N., HERZOG, C., et al. US Renal Data System 2012 annual data report. **Am J Kidney Dis**. v. 61(1)(suppl 1), p e1 - e480. 2013.
- COOPER GL, GIVEN DB. The development of vancomycin.. Vancomycin: a comprehensive review of 30 years of clinical experience. **New York: Park Row**. p.1-6. 1986.
- CORESH, J., et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. **JAMA**. v. 298, p 2038–2047. 2007.
- CORNE, P., MARCHANDIN, H., MACIA, J. C., JONQUET, O. Treatment failure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis with linezolid. **Scand J Infect Dis**.v.37 (11-12): p. 946. 2005.
- COSGROVE, S. E., FOWLER, V. G. JR: Management of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clin Infect Dis**. v. 46 [Suppl 5], p S386–S393. 2008.
- COUTINHO, S. C. **Avaliação de desempenho do método microbiológico do tipo difusão em ágar utilizado na detecção de resíduos de antimicrobianos em leite**. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- DALRYMPLE, L. S. Infection-Related Hospitalizations in Older Patients With ESRD. **Amer J of Kidn Dis**. v. 56 (3). p. 522–530. sep. 2010.
- DARKO, W., MEDICIS, J. J., SMITH, A., GUHAROY, R. LEHMANN, D. E. Mississippi mud no more: cost-effectiveness of pharmacokinetic dosage adjustment of vancomycin to prevent nephrotoxicity. **Pharmacother**. v. 23. p.643–650. 2003.
- DAUGIRDAS, John T. **Manual de diálise**/ editorial de John T. Daugirdas, Peter G. Blake, Todd S. Ing; revisão técnica Miguel Carlos Riella; tradução Telma Lúcia de Azevedo Hennemann. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- DAVIES, D. F., SHOCK, N. W.. Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. **J Clin Invest**. v. 29, p 496-507. 1950.
- DENTON, M., KERR, K. G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. **Clin Microbiol Rev**. v.11(1):57-80. 1998.
- DEPNER, T. A. Prescribing hemodialysis: a guide to urea modeling. **Boston: Kluwer Academic**. 1991.
- DOPIRAK, M., HILL, C., OLEKSIW, M., et al. Surveillance of hemodialysis-associated primary bloodstream infections: the experience of ten hospital-based centers. **Infect Control Hosp Epidemiol**. v. 23, p 721-724. 2002.
- DREW, R. H., PERFECT, J. R., SRINATH, L., KURKIMILIS, E., et al. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections with quinupristin-dalfopristin in patients

intolerant of or failing prior therapy. For the Synercid Emergency-Use Study Group. **J Antimicrob Chemother.** v. 46(5): p. 775. 2000.

EKNOYAN, G., LAMEIRE, N., BARSOUM, R., et al: The burden of kidney disease: Improving global outcomes. **Kidney Int.** v. 66, p 1310–1314. 2004.

ENGEMANN, J. J., et al. Clinical outcomes and costs due to *Staphylococcus aureus* bacteremia among patients receiving long-term hemodialysis. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** v.26, p 534–539. 2005.

ESMANHOTO, C. et al . Microrganismos isolados de pacientes em hemodiálise por cateter venoso central e evolução clínica relacionada. **Acta paul. enferm.,** São Paulo , v. 26, n. 5, 2013.

FAN, PY, SCHWAB, SJ. Vascular access: Concepts for the 1990s. **J Am Soc Nephrol.** v.3:1. 1992.

FAVERO, M. S., PETERSEN, N. J., BOYER, K. M., CARSON, L. A., BOND, W. W. Microbial contamination of renal dialysis systems and associated health risks. **Trans Am Soc Artif Intern Organs;** v. 20A, p 175A-183A. 1974.

FELDMAN, L, EFRATI, S, EVIATAR, E, et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. **Kidney Int.** v. 72. p.359. 2007.

FINCH, R. G., ELIOPOULOS, G. M. Safety and efficacy of glycopeptide antibiotics. **J Antimicrob Chemother.** v.55 Suppl 2:ii5. 2005.

FITZGIBBON, L. N., Management of Gram-Positive Coccal Bacteremia and Hemodialysis. **Am J Kidney Dis.;** v. 57(4), p 624-640. 2011.

FLEMING. G. M. Renal replacement therapy review. Past, present and future **Organogenesis.** 7:1, 2-12; jan/feb/mar .2011.

FOLLIN, S. L., MUELLER, B. A., SCOTT, M. K., CARFAGNA, M. A., KRAUS, M. A.: Falsely elevated serum vancomycin concentrations in hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 27, p 67–74. 1996.

FOROUZESH, A., MOISE, P. A., SAKOULAS, G. Vancomycin ototoxicity: a reevaluation in an era of increasing doses. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 53, p 483–486. 2009.

FOWLER, V. G. Jr., BOUCHER, H. W., COREY, G. R., et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med;** v. 355: p.653–65. 2006.

FREEMAN, C. D., QUINTILIANI, R., NIGHTINGALE, C. H.: Vancomycin therapeutic drug monitoring: Is it necessary? **Ann Pharmacother.** v. 27, p 594-598. 1993.

HENRICH, W. H. **Princípios e Prática de diálise.** 4ª ed. Editora: Dilivros. RJ. 2011.

GAFOR, ABDUL HALIM ABDUL. Antibioqram for Haemodialysis Catheter-Related Bloodstream Infections. **International Journal of Nephrology.**, Article ID 629459, 6 pages. Volume 2014.

GARNIER, F., CHAINIER, D., WALSH, T., et al. A 1 year surveillance study of glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* strains in a French hospital. **J Antimicrob Chemother.** v. 57, p 146–149. 2006.

GAUNA, T. **Infecção de corrente sanguínea em pacientes renais crônicos com cateter venoso central.** 2013. 83 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento) - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande. 2013.

GAUNA, T. T., OSHIRO, E., LUZIO, Y. C., et al. Bloodstream infection in patients with end-stage renal disease in a teaching hospital in central-western Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop.**v. 46(4): p. 426-432, Jul-Aug, 2013.

GILAD, J., et al. Surveillance of chronic haemodialysis-associated infections in southern Israel. **Clin. Microbiol. Infect.** v. 11, p 547–552. 2005.

GO, A. S., CHERTOW, G. M., FAN, D., MCCULLOCH, C. E., HSU, C. Y.: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. **N Engl J Med.** v.351, p 1296– 1305. 2004.

GOLAN, D., e col. Princípios de Farmacologia. **A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia.** Guanabara Koogan, 3ª edição, 2009.

GONÇALVES, Elsa A P; et al. Effect of temporary catheter and late referral on hospitalization and mortality during the first year of hemodialysis treatment. **Artificial Organs** 2004, v. 28(11). p.1043-1049, Blackwell Publishing, Inc. 2004.

GOOSSENS, H., LIPSITCH, M. Global burden of antimicrobial resistance. **Johns Hopkins Adv Stud Med.** v.6(7C):S644 51. 2006.

GREINER, W., RASCH, A., KOHLER, D., SALZBERGER, B., FATKENHEUER, G., LEIDIG, M. Clinical outcome and costs of nosocomial and community-acquired *Staphylococcus aureus* bloodstream infection in haemodialysis patients. **Clin Microbiol Infect.** v.13(3), p 264-268. 2007.

GRIFFITH, R. S. Introduction to vancomycin. **RevInfectDis.** v.03 (Suppl), p S200–204. 1981.

GROTHER, C., et al. Incidence of Bloodstream Infection Among Patients on Hemodialysis by central Venous Catheter. **Rev. Latino-Am. Enfermagem** . Jan-Feb; v. 18(1):73-80. 2010.

HAAG-WEBER, M., HORL, W. H. Dysfunction of polymorphonuclear leucocytes in uremia. **Semin Nephrol.** v.16, p 192. 1996.

HAGIHARA, M., SUTHERLAND, C., NICOLAU, D. P. Development of HPLC Methods for the Determination of Vancomycin in Human Plasma, Mouse Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid. **Journal of Chromatographic Science.** Niles, p. 1–7, jul., 2012.

HANNAH, E. L., STEVENSON, K. B., LOWDER, C. A., et al. Outbreak of hemodialysis vascular access site infections related to malfunctioning permanent tunneled catheters: making the case for active infection surveillance. **Infect Control HospEpidemiol.** v. 23, p 538-541. 2002.

HAQUE, N. Z., ZUNIGA, L. C., PEYRANI, P., et al. Relationship of vancomycin minimum inhibitory concentration to mortality in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus hospital-acquired, ventilator-acquired, or health-care associated pneumonia. **Chest** 138:1356–1362. 2010.

HENDERSON, D. K. Managing methicillin-resistant staphylococci: A paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. **The American Journal of Infection Control**. v.34(5). p. 46-53. 2006.

HERSHEL, R., MICHAEL L. **Fisiologia Médica – Uma Abordagem integrada**. Porto Alegre. RS. Editora AMGH. 2012.

HIDAYAT, L. K., HSU, D. I., QUIST, R., SHRINER, K. A., WONG-BERINGER, A.: High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: Efficacy and toxicity. **Arch Intern Med**. v. 166, p 2138-2144. 2006.

HIMMELFARB, J., HAKIM, R.M.: Biocompatibility and risk of infection in haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**. v.09, p S138. 1994.

HIMMELFARB, J., M.D., IKIZLER, T. A., M.D. Hemodialysis. **N Engl J Med**. v. 363, p 1833-1845. 2010.

HIRAMATSU, K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. **Lancet Infect Dis**.v.1. p. 147–55. 2001.

HOEN, B., PAUL-DAUPHIN, A., HESTIN, D., KESSLER, M. Epibacidal: A multicenter prospective study of risk factors for bacteremia in chronic hemodialysis patients. **J Am SocNephrol**. v. 9, p. 869-876. 1998.

HOLLAND, T. L.,; ARNOLD, C., . FOWLER Jr. V. G., Clinical Management of *Staphylococcus aureus* Bacteremia A Review. **JAMA**. Oct. v. 312, Number 13. 2014.

HÖRL, W. H.: Neutrophil function and infections in uremia. **Am J Kidney Dis**. v. 33, p xlv–xlvi. 1999.

HOWDEN, B. P., JOHNSON PD, WARD PB, et al. Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Antimicrob Agents Chemother**. v. 50: p. 3039–47. 2006.

HOWDEN, B. P., WARD, P. B., CHARLES, P.G., et al. Treatment outcomes for serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced vancomycin susceptibility. **Clin Infect Dis**. v. 38, p 521-528. 2004.

HOWDEN, B. P. et al. Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. **Clin Microbiol Rev**. vol. 23 p. 99-139. Jan. 2010.

HORAN, T. C., et al. CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. **Am J Infect Control**. v. 36:p. 309-32. 2008.

HUSSAIN, Z., STOAKES, L., MASSEY, V., DIAGRE, D., FITZGERALD, V., EL SAYED, S., et al. Correlation of oxacillin MIC with *mecA* gene carriage in *coagulase-negative staphylococci*. **J Clin Microbiol**. Feb; v. 38, p 752–754. 2000.

- INRIG, J. K., *et al.* Relationship between clinical outcomes and vascular access type among hemodialysis patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.** v. 01, p 518–524. 2006.
- ISHANI, A., COLLINS, A. J., HERZOG, C. A., FOLEY, R. N.: Septicemia, access and cardiovascular disease in dialysis patients: The USRD Wave 2 study. **Kidney Int.** v. 68, p 311-318. 2005.
- JABER, B. L., CENDOROGLO, M., BALAKRISHNAN, V. S., *et al.*: Apoptosis of leukocytes: Basic concepts and implications in uremia. **Kidney Int.** v. 59(Suppl 78), p S197–S205. 2001.
- JAMES, M. T., HEMMELGARN, B. R., TONELLI, M. Early recognition and prevention of chronic kidney disease. **Lancet.** v. 375, p 1296–309. abr. 2010.
- JAMES, M. T., HEMMELGARN, B. R., WIEBE, N., *et al.*, for the Alberta Kidney Disease Network. Glomerular filtration rate, proteinuria, and the incidence and consequences of acute kidney injury: a cohort study. **Lancet.** v. 376, p 2096–103. 2010.
- JASON, A. CROMPTON, *et al.* Outcomes with daptomycin in the treatment of *Staphylococcus aureus* infections with a range of vancomycin MICs. **J Antimicrob Chemother.** v.65: 1784–1791. 2010.
- JARLOV, J. O., BUSCH-SORENSEN, C., ESPERSEN, F. Evaluation of different methods for the detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 1997; 40: 241 – 249.
- JEFFRES, M. N., ISAKOW, W., DOHERTY, J. A., MICEK, S. T., KOLLEF, M. H.. A retrospective analysis of possible renal toxicity associated with vancomycin in patients with health care-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia. **Clin Ther.** v. 29, p 1107–1115. 2007.
- JEFFRES, M. N., *et al.* Predictors of Mortality for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Health-Care-Associated Pneumonia: Specific Evaluation of Vancomycin Pharmacokinetic Indices. **Chest.** v. 130(4). p. 947-955. 2006.
- JENKINS, T. C., *et al.* Impact of Routine Infectious Diseases Service Consultation on the Evaluation, Management, and Outcomes of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. **Clin Infect Dis.** v.46 (7). p. 1000-1008. 2008.
- JONES, R. N.: Microbiological features of vancomycin in the 21st century: Minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. **Clin Infect Dis.** v.42 [Suppl 1], p S13–S24. 2006.
- JUNG, Y., *et al.* Area under the concentration–time curve to minimum inhibitory concentration ratio as a predictor of vancomycin treatment outcome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **Int. J. Antimicrob. Agents.** v. 43 (2), p. 179–183. 2013.
- KALIMUDDIN, S., *et al.* Vancomycin versus daptomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia due to isolates with high vancomycin minimum inhibitory concentrations: study protocol for a phase IIB randomized controlled trial. **Trials.** v. 15: p. 233. 2014.

KAZUAKI, M., et al. Practice guidelines for therapeutic drug monitoring of vancomycin: a consensus review of the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. **J Infect Chemother.** v.19, p 365–380. 2013.

KEANE, W. F., EKNOYAN, G. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. **Am J Kidney Dis.** v. 33 p 1004-1010. 1999.

KEPLER, J. International comparisons. United States Renal Data System. 2010 Annual Data Report: atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States, vol 2. **Atlas of ESRD.** 2010. http://www.usrds.org/2010/pdf/v2_12.pdf (acessado 13/01/2015).

KESSLER, M., HOEN, B., MAYEUX, D., HESTIN, D., FONTENAILLE, C. Bacteremia in patients on chronic hemodialysis: a multicenter prospective survey. **Nephron;** v. 64; p 95-100. 1993.

KHAN, I. H., CATTO, G. R. D., Long-term complications of dialysis. **Kidney International.** v. 43 (Suppl. 41), p 143–148. 1993.

KHOTAEI, G. T., JAM, S., SEYEDALINAGHI, S., MOTAMED, F., NEJAT, F., et al. Monitoring of serum vancomycin concentrations in pediatric patients with normal renal function. **Acta Medica Iranica** v. 48, p 91–94. 2010.

KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES (KDIGO)CKD WORK GROUP. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney Int.** v. 03 Suppl .3, p 1-150. 2013.

MARR, K. A., et al. Incidence and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis patients. **Kidney International** v. 54, p 1684–1689. 1998.

KIM, D. I., IM, M. S., CHOI, J. H., LEE, J., CHOI, E. H., LEE, H. J. Therapeutic monitoring of vancomycin according to initial dosing regimen in pediatric patients. **Korean J Pediatr.** v.53, p 1000-1005. 2010.

KLEVENS, R.M., EDWARDS, J.R., ANDRUS, M.L., PETERSON, K.D., DUDECK, T.C., HORAN, T.C. Dialysis surveillance report: National Healthcare Safety Network—data summary for 2006. **Semin Dial,** v. 21, pp. 24–28. 2008.

KOHLHEPP, S. J., GILBERT, D. N., LEGGETT, J. E. Influence of Assay Methodology on the Measurement of Free Serum Ceftriaxone Concentrations . **Antimicrobial agents and chemotherapy.** p. 2259–2261. Sept. 1998.

KONEMAN, E.W.; ALLEN,S.D.; JANDA,W.M; SCHERECKENBERGER, P. C; WINN ,W. C. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido.** 6ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KULLAR, R., DAVIS, S. L., LEVINE, D. P., RYBAK, M. J.. Impact of vancomycin xposure on outcomes in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: support for consensus guidelines suggested targets. **Clin Infect Dis.** v. 52, p 975–981. 2011.

KULLAR, R., DAVIS, S. L., TAYLOR, T. N., et al. . Effects of targeting higher vancomycin trough levels on clinical outcomes and costs in a matched patient cohort. **Pharmacotherapy.** v. 32 (3):p.195–201. 2012.

KUREISHI, A , JEWESSON, P J , BARTLETT K H. et al. Application of a modified bioassay for monitoring serum teicoplanin and vancomycin in febrile neutropenic patients. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 34(9). p. 1642–1647. Sep; 1990.

LACSON, E. Jr, WANG, W., LAZARUS, J. M., HAKIM, R, M. Change in vascular access and mortality in maintenance hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 54. p. 912–921. 2009.

LAFRANCE, J. P., *et al.* Vascular access-related bloodstream infections in First Nations, community and teaching Canadian dialysis units, and other center-level predictors. **Nephron Clin. Pract.** v.114, p c204-c212, 2010.

LAI, C. F., *et al.* Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with higher all-cause mortality in hemodialysis patients. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.** v. 06, p 167–174. 2011.

LAMP, K. C., RYBAK, M. J., BAILEY, E. M., KAATZ, G. W. In vitro pharmacodynamic effects of concentration, pH, and growth phase on serum bactericidal activities of daptomycin and vancomycin. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 36, p 2709–2714. 1992.

LAPLANTE, K. L., RYBAK, M. J. Impact of high-inoculum *Staphylococcus aureus* on the activities of nafcillin, vancomycin, linezolid, and daptomycin, alone and in combination with gentamicin, in an *in vitro* pharmacodynamic model. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 48, p 4665–4672. 2004.

LAWRENCE, K. R., ADRA, M., GILLMAN, P. K. Serotonin toxicity associated with the use of linezolid: a review of postmarketing data. **Clin Infect Dis.** v. 42: p. 1578–83. 2006.

LEADER, W. G., CHANDLER, M. H. H., CASTIGLIA, M.: Pharmacokinetic optimization of Vancomycin therapy. **Clin Pharmacokinetics.** v. 28, p 327-342. 1995.

LEFROCK, J. L., ELLIS, C. A., TURCHIK, J. B., WEINSTEIN, L. Transient bacteremia associated with sigmoidoscopy. **N Engl J Med.** v. 289(9). p. 467-9. Aug. 1973.

LEMAOULT, J., SZABO, P., WEKSLER, M. E. Effect of age on humoral immunity, selection of the B-cell repertoire and B-cell development. **Immunol Rev.** v. 160.p. 115-26. Dec. 1997.

LEONARD, S. N., RYBAK, M. J.: Evaluation of vancomycin and daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and heterogeneously vancomycin-intermediate *S. aureus* in an *in vitro* pharmacokinetic/pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. **J Antimicrob Chemother.** v. 63, p 155-160. 2009.

LEVEY, A. S. et al., National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. **Ann Intern Med.** v. 139, p 137-147. 2003.

LEVEY, A. S., ECKARDT, K. U., TSUKAMOTO, Y., et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). **Kidney Int.** v. 67 (6), p 2089-2100. 2005.

LEVINE, D. P.: Vancomycin: a history. **Clin Infect Dis.** v. 42(Suppl 1), p S5–S12. 2006.

LEWIS, S. L., VAN EPPS, D. E.: Neutrophil and monocyte alterations in chronic dialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 09, p 381–395. 1987.

LINDEMAN, R. D., TOBIN, J., SHOCK, N. W.. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. **J Am Geriatr Soc.** v. 33, p 278-85. 1985.

LIU, C., BAYER, A., COSGROVE, S. E., DAUM, R. S., et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. **Clin. Infect. Dis.**v. 52: p.18–55. 2011.

LIU, C., CHAMBERS, H. F. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. **Antimicrob Agents Chemother.** v.47: p.3040–5. 2003.

LOCATELLI, F., MANZONI, C., DI FILIPPO, S.. The importance of convective transport. **Kidney Int Suppl.** p 115-120. 2002.

LODISE, T. P., GRAVES, J., EVANS, A., et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 52, p 3315–3320. 2008.

LODISE, T. P., MILLER, C. D., GRAVES, J., et al. Predictors of high vancomycin MIC values among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **J Antimicrob Chemother.** v. 62, p 1138–1141. 2008.

LODISE, T. P., PATEL,N., LOMAESTRO, B. M., et al.. Relationship between initial vancomycin concentration–time profile and nephrotoxicity among hospitalized patients. **Clin Infect Dis.**v.49 (4): p.507–514. 2009.

LOPEZ, D. M., MARTINEZ, J. A., et al. Clinical characterization of breakthrough bacteraemia: a survey of 392 episodes. **J Intern Med.** v. 258. p. 172-180. 2005.

LORIAN V. **Antibiotics in Laboratory Medicine.** Lippincott Williams & Wilkins, 5^a ed. Philadelphia, USA. 2005.

LOWY, F.D. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation.** v. 111, p 1265-1273. 2003.

LU, P. L., TSAI, J. C., CHIU, Y. W., CHANG, F. Y., CHEN, Y. W., HSIAO, C. F., SIU, L. K.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. **Nephrol Dial Transplant.** v. 23(5): p. 1659-65. 2008.

LUGON, J. R. Doença Renal Crônica no Brasil: um problema de saúde pública. Sociedade Brasileira de Nefrologia e Divisão de Nefrologia, Departamento de Medicina, Universidade Federal Fluminense. **J Bras Nefrol.**v.31 (Supl 1). p.2-5. 2009.

LYSAGHT. M. J. Maintenance Dialysis Population Dynamics: Current Trends and Long-Term Implications **J Am Soc Nephrol.** v. 13, p. S37–S40. 2002.

MATSUMOTO, K., et al. Practice guidelines for therapeutic drug monitoring of vancomycin: a consensus review of the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. **J Infect Chemother.** v. 19, p. 365–380. 2013.

MACGOWAN, A. P. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and therapeutic drug monitoring of glycopeptides. **Ther Drug Monit.** v.20, p 473-477. 1998.

- MACLAYTON, D. O., SUDA, K. J., COVAL, K. A., YORK, C. B., GAREY, K. W.: Case-control study of the relationship between MRSA bacteremia with a vancomycin MIC of 2 microg/mL and risk factors, costs, and outcomes in inpatients undergoing hemodialysis. **Clin Ther.** v. 28, p 1208-1216. 2006.
- MANLEY, H. J., HUKU, M. A., DYKSTRA, M. A., BEDENBAUGH, A. V. Antibiotic prescribing evaluation in an outpatient hemodialysis clinic. **J Pharm Technology. Cincinnati.** v.18, p 128–132, junho 2002.
- MARENGO, L. L., et al. Vancomycin: the need to suit serum concentrations in hemodialysis patients. **Braz J Infect Dis.** v. 14(2), p. 203-208. 2010.
- MARR, K. A., SEXTON, D. J., CONLON, P. J., COREY, G. R., SCHWAB, S. J., KIRKLAND, K. B. Catheter-related bacteremia and outcome of attempted catheter salvage in patients undergoing hemodialysis. **Ann Intern Med.** v. 127. p. 275-280. 1997.
- MARR, K. A., et al. Incidence and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis patients. **Kidney Int.** v. 54, p 1684-1689. 1998.
- MARRA AR, CAMARGO LF, PIGNATARI AC et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. **J Clin Microbiol.** V 49(5):1866-71. 2011
- MASON, E.O., LAMBERTH, L. B., HAMMERMAN, W. A., HULTEN, K. G., VERSALOVIC, J., KAPLAN, S.L. Vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* vary by detection method and have subtly increased in a pediatric population since 2005. **J. Clin. Microbiol.** v. 47, p. 1628–1630. 2009.
- MATTERN, W. D., HAK, L. I., LAMANNA, R. W., TEASLEY, K. M., LAFFELL, M. S.: Malnutrition, altered immune function, and the risk of infection in maintenance hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 01, p 206-218. 1982.
- MATZKE, G. R., MCGORY, R. W., HALSTENSON, C. E., KEANE, W. F. Pharmacokinetics of vancomycin in patients with various degrees of renal function. **Antimicrob Agents Chemother.**v. 25, p 433–437. 1984.
- MATZKE, G. R., ZHANEL, G. G., GUAY, D. R. P. Clinical pharmacokinetics of vancomycin. **Clin Pharmacokinet.** v.11, p 257–282. 1986.
- MENDES, R. E., DESHPANDE, L.M., CASTANHEIRA, M., DIPERSIO, J. First report of cfr-mediated resistance to linezolid in human staphylococcal clinical isolates recovered in the United States. **Antimicrob Agents Chemother.**v.52(6): p.2244. 2008.
- MERGENHAGEN, K. A., BORTON, A. R. Vancomycin Nephrotoxicity: A Review. **J Pharmay Pract.** V. 27 (6) p. 545-553. 2014.
- MERMEL, L. A., et al. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis.**; v. 49:1–45. 2009.
- MINNAGANTI, V. R., CUNHA, B. A.: Infections associated with uremia and dialysis. **Infect Dis Clin North Am.** v. 15, p 385–406, viii. 2001.
- MOELLERING, J. R. R. C., FISHMAN, N. Antimicrobial resistance prevention initiative: proceedings of an expert panel on resistance. **Am J Med.** v119(6A):S1 76. 2006.

MOELLERING, R.C. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. **Ann Intern Med.** c.138(2): p. 135. 2003.

MOELLERING, R. C. JR. Vancomycin: a50-yearreassessment. **Clin InfectDis.** v. 42 (Suppl1), p S3–4. 2006.

MOELLERING, R. C.: Monitoring serum vancomycin levels: Climbing the mountain because it is there? **Clin Infect Dis.** v. 18, p 544-546. 1994.

MOHR, J. F., MURRAY, B. E. Point: Vancomycin is not obsolete for the treatment of infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clin Infect Dis.** Jun. v. 15; 44(12):1536-42. 2007.

MOISE-BRODER, P. A., SAKOULAS, G., FORREST, A., SCHENTAG, J. J. Vancomycin *in vitro* bactericidal activity and its relationship to efficacy in clearance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 51, pp. 2582–2586. 2007.

MOISE-BRODER, P. A., FORREST, A., BIRMINGHAM, M. C., SCHENTAG, J.J. Pharmacodynamics of vancomycin and other antimicrobials in patients with *Staphylococcus aureus* lower respiratory tract infections. **Clin Pharmacokinet.** v. 43, p 925–942. 2004.

MOISE-BRODER, P. A. et al. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy. **Clin Infect Dis.**v. 38. p.1700-1705. 2004.

MOORE, C. L., OSAKI-KIYAN, P., HAQUE, N. Z., et al. Daptomycin versus vancomycin for bloodstream infections due to methicillin resistant *staphylococcus aureus* with a high vancomycin minimum inhibitory concentration: a case–control study. **Clin Infect Dis.** v. 54: p. 51–58. 2012.

MOORE, M. R., PERDREAU-REMYNGTON, F., CHAMBERS, H. F. Vancomycin treatment failure associated with heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a patient with endocarditis and in the rabbit model of endocarditis. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 47: p. 1262–6. 2003.

MURRAY, B. E., NANNINI, E. C. Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), streptogramins (quinupristin-dalfopristin), and lipopeptides (daptomycin). In: Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., editors. **MANDELL, DOUGLAS, AND BENNETT'S. Principles and Practice of Infectious Diseases.** 7th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier; p 449–468. 2010.

MURRAY, K. P., ZHAO, J., DAVIS, S. L. Early use of daptomycin versus vancomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia with vancomycin MIC > 1 mg/ml: a matched cohort study. **Clin Infect Dis.** v. 56: p.1562–1569. 2013.

MUSTA, A. C., RIEDERER, K., SHEMES, S., et al. Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: trends over 11 years. **J Clin Microbiol.** v.47, p 1640–1644. 2009.

NASSAR, G. M., AYUS, J. C. Clotted arteriovenous grafts:Asilent source of infection. **Semin Dial.** v. 13. p.1–3. 2000.

NASSAR, G. M., AYUS, J. C.: Infectious complications of the hemodialysis Access. **Kidney Int.** v. 60, p 1-13. 2001.

- NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis.** v. 39 (2 suppl 1), p S1–266. 2002.
- NEELY, M. N., et al. Are Vancomycin Trough Concentrations Adequate for Optimal Dosing? v. 58 (1). p. 309–316. **Antimic Agents and Chemoth.** Jan. 2014.
- NUNN, M. O., CORALLO, C. E., AUBRON, C., POOLE, S., DOOLEY, M. J., CHENG, A. C. Vancomycin dosing: assessment of time to therapeutic concentration and predictive accuracy of pharmacokinetic modeling software. **Ann Pharmacother.** v.45. p. 757–63. 2011.
- O'GRADY, N. P., ALEXANDER, M., BURNS, L. A., et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **Clin Infect Dis.** v. 52, p e162–93. 2011.
- O'GRADY, NAOMI P, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **CDC-USA. MMWR, Recommendations and reports.** v. 51(RR10). p. 1-26. 2002.
- PALDER S. B., et al. Vascular access for hemodialysis: patency rates and results of revision. **Ann Surg.** v. 202, p 235-239. 1985.
- PALENZUELA, L., HAHN, N. M., NELSON, R. P. Jr, et al. Does linezolid cause lactic acidosis by inhibiting mitochondrial protein synthesis? **Clin Infect Dis.** v 40: p. 113–6. 2005.
- PALOTTA, K. E., MANLEY, H. J. Vancomycin use in patients requiring hemodialysis: a literature review. **Semin Dial.** v.21:63-70. 2008.
- PARRILLO, J. E. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. **N Engl J Med.** v. 328. p. 1471-1477. may, 1993.
- PATEL, N., et al. Vancomycin: we cant' get here there from here. **Clin Infect Dis.** v.52:969-74. 2011.
- PATEL, P. R., KALLEN, A. J., ARDUINO, M. J.. Epidemiology, surveillance, and prevention of bloodstream infections in hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis.** v. 56, p 566–577. 2010.
- PATRUTA, S. I., EDLINGER, R., SUNDER-PLOSSMANN, G., HÖRL, W. H.: Neutrophil impairment associated with iron therapy in hemodialysis patients with functional iron deficiency. **J Am Soc Nephrol.** v. 09, p 655–663. 1998.
- PEA, F., FURLANUT, M., NEGRI, C., et al. Prospectively validated dosing nomograms for maximizing the pharmacodynamics of vancomycin administered by continuous infusion in critically ill patients. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 53, p 1863–1867. 2009.
- PERRY, C. M., JARVIS, B. LINEZOLID: a review of its use in the management of serious gram-positive infections. **Drugs.**; v.61. p. 525–51. 2001.
- POHLOD, D. J., SARAVOLATZ, L. D., SOMERVILLE, M. M. Comparison of fluorescence polarization immunoassay and bioassay of vancomycin. **J Clin Microbiol.** v. 20(2): p.159–161. Aug. 1984.

POOLE, C.V., CARLTON, D., BIMBO, L., ALLON, M. Treatment of catheter-related bacteremia with an antibiotic lock protocol: Effect of bacterial pathogen. **Nephrol Dial Transplant.** v. 19: p. 1237-1244. 2004

POWE, N. R., JAAR, B., FURTH, S. L., HERMANN, J., BRIGGS, W.: Septicemia in dialysis patients: incidence, risk factors, and prognosis. **Kidney Int.** v. 55, p 1081–1090. 1999.

PRITCHARD, L. , et al. Increasing Vancomycin Serum Trough Concentrations and Incidence of Nephrotoxicity. **The American journal of medicine.** v. 123 (12). p. 1143–1149. dec. 2010.

PATEL, P. R., et al. Epidemiology, Surveillance, and Prevention of Bloodstream Infections in Hemodialysis Patients. **American Journal of Kidney Diseases**, Vol 56, No 3, pp 566-577. September, 2010.

PRYKA, R. D. Vancomycin serum concentration monitoring: A continued debate. **Ann Pharmacother.** v. 28(12). p. 1397-9. Dec. 1994.

RASTOGI, A¹, NISSENSON, A. R. The future of renal replacement therapy. **Adv Chronic Kidney Dis.** v.14(3), p 249-255. Julho 2007.

RAHMATI-BAHRAM, A., MAGEE, J. T., JACKSON, S. K. Effect of temperature on aminoglycoside binding sites in *Stenotrophomonas maltophilia*. **J. Antimicrob. Chemother.** v. 39 (1). p.19-24. 1997.

REED, S. D., *et al.* Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** v. 26, p 175–183. 2005.

RHEE, K. Y., GARDINER, D. F., CHARLES, M. Decreasing in-vitro susceptibility of clinical *Staphylococcus aureus* isolates to vancomycin at the New York Hospital: quantitative testing redux. **Clin. Infect. Dis.**, v. 40, pp. 1705–1706. 2005.

RICH, A., ELLERSHAW, J., AHMADL, R. Palliative care involvement in patients stopping Haemodialysis. **Palliative Medicine.** v. 15, p 513–514. 2001.

RICHARDS, M. J., EDWARDS, J. R., CULVER, D. H., GAYNES, R. P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. **National Nosocomial Infections Surveillance System. Crit Care Med.** v. 27, p 887–892. 1999.

RIELLA, MIGUEL CARLOS. **Princípios de Nefrologia e Distúrbios hidroeletrólicos.**; 4 ed. Editora Guanabara Koogan. 2003.

RINGOIR, S., SCHOOTS, A., VANHOLDER, R.: Uremic toxins. **Kidney Int.** v.24, p S4–S9. 1988.

ROMÃO JÚNIOR, J. E. Doença Renal Crônica: Definição, epidemiologia e classificação. **J Bras Nefrol.** v. 36 (supl.1), p 1-3. 2004.

ROWE, J. W., ANDRES, R., TOBIN, J. D., NORRIS, A. H., SHOCK, N. W. The effect of age on creatinine clearance in men: a cross-sectional and longitudinal study. **J Gerontol.** v.31, p 155-63. 1976.

RUBINSTEIN, E., KEYNAN, Y. Vancomycin revisited – 60 years later. **Front. Public Health.** v. 2, Article 217. October 2014.

RYBAK, M. J. The pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of vancomycin. **Clin Infect Dis.** v. 42(Suppl 1), p S35–9. 2006.

RYBAK, M., LOMAESTRO, B., ROTSCHAFFER, J. C., et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. **Am J Health Syst Pharm.** v. 66, p 82–98. 2009.

SAKOULAS, G., GOLD, H. S., COHEN, R. A., VENKATARAMAN, L., MOELLERING, R., ELIOPOULOS, G.M.: Effects of prolonged vancomycin administration on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a patient with recurrent bacteraemia. **J Antimicrob Chemother.** v. 57, p 699–704. 2006.

SAKOULAS, G., MOELLERING, J. R. R. C., ELIOPOULOS, G. M. Adaptation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the face of vancomycin therapy. **Clin Infect Dis.** v.42:S40 51. 2006.

SAKOULAS, G., MOISE-BRODER, P. A., SCHENTAG, J., FORREST, A., MOELLERING, R. C. J. R., ELIOPOULOS, G. M.: Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia **J Clin Microbiol.** v.42, p 2398-2402. 2004.

SÁNCHEZ G. M., DE LA TORRE, M. A., MORALES, G., PELÁEZ, B., et al. Clinical outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. **JAMA.** v..303(22): p. 2260. 2010.

SAXENA, A. K., et al. Vascular Access Related Infections in Hemodialysis Patients. Saudi. **J Kidney Dis Transplant.** v.16(1). p.46-71. 2005.

SCHWAB, SJ, BEATHARD, G. The hemodialysis catheter conundrum: Hate living with them, but can't live without them. **Kidney Int.** v. 56. p.1. 1999.

SCHWALBE, R. S., STAPLETON, J. T., GILLIGAN, P. H.. Emergence of vancomycin resistance in *coagulase-negative staphylococci*. **N Engl J Med.** v. 31, p 316:927. 1987.

SELVEY, L. A., WHITBY, M., JOHNSON, B. Nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: is it any worse than nosocomial methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteremia? **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** v. 21, p 645–648. 2000.

SENNEVILLE, E., LEGOUT, L., VALETTE, M., et al. Effectiveness and tolerability of prolonged linezolid treatment for chronic osteomyelitis: a retrospective study. **Clin Ther;** v. 28: p.1155–63. 2006.

SESSO, R. C., LOPES, A. A. THOMÉ, F. S. et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2013 - Análise das tendências entre 2011 e 2013. **J Bras Nefrol.** v.;36(4):p.476-481. 2014.

SHORR, A. F., KUNKEL, M. J., KOLLEF, M. Linezolid versus vancomycin for *Staphylococcus aureus* bacteraemia: pooled analysis of randomized studies. **J Antimicrob Chemother;** v. 56: p.923–9. 2005.

SHITANDI, A.; GATHONI, K. Evaluation of the *Bacillus calidolactis* plate for post 35 screening assay of b-lactam antimicrobial residues in Kenyan dairies. **Food Control.** v.16, p. 227–230, 2005.

SMELTZER, S. C., BARE, B. G. **Brunner & Suddarth**. Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica. Ed. Guanabara. 12ª edição. p. 2404. 2011.

SMITH, T. L., PEARSON, M. L., WILCOX, K. R., et al; for the Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group: Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med**. v. 340, p 493-501. 1999.

SONG, Y. G., KIM, H. K., ROE, E. K., LEE, S. Y., AHN, B. S., KIM, J. H., et al. Therapeutic Drug Monitoring of Vancomycin in Korean Patients. **Infect Chemother**. v.36, 311-318. 2004.

SORIANO, A., MARCO, F., MARTINEZ, J.A., et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clin Infect Dis**. v. 46, p 193–200. 2008.

SORIANO, A., MARTINEZ, J. A., MENSA, J. , MARCO, F., ALMELA, M., MORENO-MARTINEZ, A., SANCHEZ, F., MUNOZ, I., JIMENEZ DE ANTA, M. T., SORIANO, E.: Pathogenic significance of methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clin Infect Dis**. v. 30, p 368-373. 2000.

STANLEY, D., MCGRATH, B. J., LAMP, K. C., RYBAK, M. J. Effect of human serum on killing activity of vancomycin and teicoplanin against *Staphylococcus aureus*. **Pharmacotherapy**. v.14, p 35–39. 1994.

STEINKRAUS, G., WHITE, R., FRIEDRICH, L.. Vancomycin MIC creep in non–vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001–05 J. **Antimicrob. Chemother.**, v. 60, pp. 788–794. 2007.

STEPHEN C. EDBERG, S. C., BOTTENBLEY, C. J., GAMU, K. Use of Sodium Polyanethol Sulfonate to Selectively Inhibit Aminoglycoside and Polymyxin Antibiotics in a Rapid Blood Level Antibiotic Assay. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p. 272-274. August 1981.

STEVENS, L. A., LEVEY, A. S. Current status and future perspectives for CKD testing. **Am J Kidney Dis**. v. 53 (suppl 3), p S17–26. 2009.

STEVENS. D. L., HERR, D., LAMPIRIS, H., HUNT, J. L., BATTS, D.H., HAFKIN, B. Linezolid versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Clin Infect Dis**. v. 34(11): p.1481. 2002.

TAAL, M. W. et al. **Brenner and Rector's The Kidney**. Elsevier Saunders. 9ªed. Philadelphia, EUA. 2012.

TAKESUE Y., et al. Clinical characteristics of vancomycin minimum inhibitory concentration of 2 µg/ml methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with bacteremia. **J Infect Chemother**. Feb. v.17(1):52-7. 2011.

TAKESUE, Y., NAKAJIMA, K., TAKAHASHI, Y., et al. Clinical characteristics of vancomycin minimum inhibitory concentration of 2 µg/ml methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with bacteremia. **J Infect Chemother**. v.17, p 52–57. 2010.

TANRIOVER B, CARLTON D, SADDEKNI S, et al: Bacteremia associated with tunneled dialysis catheters: Comparison of two treatment strategies. **Kidney Int**. v. 57. p.2151-2155. 2000.

TAYLOR, G. D., MCKENZIE, M., BUCHANAN-CHELL, M., CABALLO, L., CHUI, L., KOWALEWSKA-GROCHOWSKA, K.: Central venous catheters as a source of hemodialysis-related bacteremia. **Infect Control Hosp Epidemiol.** v. 19 (9), p 643–646. 1998.

TAYLOR, G., GRAVEL, D., JOHNSTON, L., EMBIL, J., HOLTON, D., PATON, S. Prospective surveillance for primary bloodstream infections occurring in Canadian hemodialysis units. **Infect Control Hosp Epidemiol.** v. 23(12), p 716-720. 2002.

TAYLOR, G., GRAVEL, D., JOHNSTON, L., *et al.* Incidence of bloodstream infection in multicenter inception cohorts of hemodialysis patients **Am J Infect Control**, v.32, pp. 155–160. 2004.

TEIXEIRA, L. R., Sasse, S. A., Villarino, M.A., *et al.* Antibiotic Levels in Empyemic Pleural Fluid. **Chest.**;v.117(6):1734-1739. 2000.

TENOVER, F. C., MOELLERING, R. C. J. R: The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. **Clin Infect Dis.** v. 44, p 1208-1215. 2007.

TENOVER ,Fred C, Sinner Scott W, Robert E. Segal, Vanthida Huang, Shandline S. Alexandre, John E. McGowan, Jr, Melvin P. Weinstein. Characterisation of a *Staphylococcus aureus* strain with progressive loss of susceptibility to vancomycin and daptomycin during therapy. **Int J Antimicrob Agents.** v. 33(6): p. 564–568. June. 2009.

THOMAS-HAWKINS, CHARLOTTE PHD, RN; ZAZWORSKY, DONNA MS, RN, CCM, FAAN, Student Nurse Journey - Renal System Educational Resour. **Chronic Kidney Disease Self-Management of Chronic Kidney Disease.** Vol. 105, No. 10. October 2005.

TOKARS, J. I. A prospective study of vascular access infections at seven outpatient hemodialysis centers. **Am. J. Kidney Dis.** v.37, p 1232–1240, 2001.

TOKARS, J. I., MILLER, E. R., STEIN, G. New national surveillance system for hemodialysis-associated infections: initial results. **Am J Infect Control.** v. 30, p 288-95. 2002.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. **Annual data report:** Atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the united states. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2010.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. **Annual data report:** Atlas of end-stage renal disease in the United States. Incidence and prevalence. 2004.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. **Annual Data Report:** Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, Bethesda, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2007.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. **Annual Data Report:** *Atlas of End Stage Renal Disease in the United States.* Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2009.

VAN HAL, S. J., LODISE, T. P., PATERSON, D. L. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* Infections: a systematic review and meta-analysis. **Clin Infect Dis.** Mar; v. 54(6). p.755-71. 2012.

- VAN HAL, S. J., PATERSON, D. L., GOSBELL, I. B. Emergence of daptomycin resistance following vancomycin-unresponsive *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a daptomycin-naive patient—a review of the literature. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**; v. 30: p. 603–10. 2011.
- VANDECASTEELE, S. J., BOELAERT, J. R., DE VRIESE, A. S.: *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: what a nephrologist should know. **Clin J Am Soc Nephrol** v. 04, p 1388–1400. 2009.
- VANDECASTEELE, S. J., DE VRIESE, A. S. Recent changes in vancomycin use in renal failure. **Kidney Int.** v. 77, p 760–764. 2010.
- VANDECASTEELE, S. J., DE VRIESE, A. S. Review: vancomycin dosing in patients on intermittent haemodialysis. **Semin Dial.** v. 24, p 50–55. 2011.
- VANDECASTEELE, S. J., DE VRIESE, A.S., BOELAERT, J. R. *Staphylococcus aureus* Infections in Hemodialysis: What a Nephrologist Should Know. **Clin J Am Soc Nephrol** . v. 04, p 1388–1400. 2009.
- VANHOLDER, R., RINGOIR, S. Infectious morbidity and defects of phagocytic function in end-stage renal disease: A review. **J Am Soc Nephrol.** v. 03, p 1541–1554.1993.
- VANHOLDER, R., RINGOIR, S., DHONDT, A., HAKIM, R.: Phagocytosis in uremic and hemodialysis patients: A prospective and cross sectional study. **Kidney Int** v. 39, p 320–327. 1991.
- VASCULAR ACCESS 2006 WORK GROUP. Clinical practice guidelines for vascular Access. **Am. J. Kidney Dis.** v.48 (suppl. 1), p S176 – S247. 2006.
- VASSALOTTI, J. A., STEVENS, L. A., LEVEY, A. S. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the National Kidney Foundation. **Am J Kidney Dis.**v.50, p 169–80. 2007.
- VELASCO, E. R. BYINGTON, C. A. S. MARTINS, M. SCHIRMER, L. M. C. DIAS, AND V. M. S. C. GONÇALVES, Comparative study of clinical characteristics of neutropenic and non-neutropenic adult cancer patients with bloodstream infections, **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, vol. 25, no. 1, p. 1–7. 2006.
- VELASCO, E., et al., Bloodstream infection surveillance in a cancer centre: a prospective look at clinical microbiology aspects, **Clinical Microbiology and Infection**, vol. 10, no. 6, pp. 542–549, 2004.
- VIJAYAN ANITHA. Vascular access for continuous renal replacement therapy. **Seminars in Dialysis**- v. 22, n° 2 (mar-apr) pp. 133-136. 2009.
- VITÓRIA, M. P., CLIPES, M. V. **Determinação dos níveis séricos de vancomicina em pacientes em hemodiálise**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Vitória. 2013.
- WANG, S. A., LEVINE, R. B., CARSON, L. A., et al: An outbreak of gram-negative bacteremia in hemodialysis patients traced to hemodialysis machine waste drain ports. **Infect Control Hosp Epidemiol.** v. 20, p 746-751, 1999.
- WATANAKUNAKORN, C. Mode of action and in-vitro activity of vancomycin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** v.14(D), p 7-18. 1984.

WEIGELT, J., ITANI, K., STEVENS, D., LAU, W., DRYDEN, M., KNIRSCH, C., Linezolid CSSTI Study Group SO. Linezolid versus vancomycin in treatment of complicated skin and soft tissue infections. **Antimicrob Agents Chemother.** v49(6): p. 2260. 2005.

WEIJMER, M. C., VERVLOET, M. G., TER WEE, P. M. Compared to tunnelled cuffed haemodialysis catheters, temporary untunnelled catheters are associated with more complications already within 2 weeks of use. **Nephrol Dial Transplant.** v.19, p 670–677. 2004.

WERTH, J. B., BARBER, K. E., IRELAND, C. E., RYBAK, M. E. Evaluation of Ceftaroline, Vancomycin, Daptomycin, or Ceftaroline plus Daptomycin against Daptomycin-Nonsusceptible Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an *In Vitro* Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model of Simulated Endocardial Vegetations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 58. n° 6, p. 3177–3181. June 2014.

WESTON, A., GOLAN, Y., HOLCROFT, C., SNYDMAN, D. R. The efficacy of daptomycin versus vancomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infection in patients with impaired renal function. **Clin Infect Dis.**v. 58(11): p.1533. 2014.

WICK, G., GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. Primary and secondary alterations of immune reactivity in the elderly: impact of dietary factors and disease. **Immunol Rev.** v. 160. p. 171-84. Dec. 1997.

WONG-BERINGER, A., et al. Vancomycin-associated nephrotoxicity: a critical appraisal of risk with high-dose therapy. **Internat. J. of Antimicrob. Agents.** v. 37 (2). p. 95–101. Feb. 2011.

WILHELM-LEEN, E. R., HALL, Y. N. K., TAMURA, M., CHERTOW, G. M. Frailty and chronic kidney disease: the Third National Health and Nutrition Evaluation Survey. **Am J Med.** v. 122, p 664–671.e2. 2009.

WOOD, M. J. The comparative efficacy and safety of teicoplanin and vancomycin. **Antimicrob Chemother.**v. 37(2): p. 209. 1996.

WUNDERINK, R. G., NIEDERMAN, M. S., KOLLEF, M. H., SHORR, A. F., KUNKEL, M. J., BARUCH, A., et al. Linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia: a randomized controlled Study. **Clin Infect Dis.** v.54, p 621–629. 2012.

XUE, H. Hemodialysis Access Usage Patterns in the Incident Dialysis Year and Associated Catheter-Related Complications. **Am J Kidney Dis.** v. 61(1). p. 123-130. 2012.

YACH, D., HAWKES, C., GOULD, C. L., HOFMAN, K. J. The global burden of chronic diseases: overcoming impediments to prevention and control. **JAMA.** v. 291, p 2616–22. 2004.

YOON, Y. K., KIM, J. Y., PARK, D. W., SOHN, J. W., KIM, M. J. Predictors of persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients treated with vancomycin. **J Antimicrob Chemother.** v. 65, p 1015–1018. 2010.

YOON, Y. K., PARK, D. W., SOHN, J. W., et al. Multicenter prospective observational study of the comparative efficacy and safety of vancomycin versus teicoplanin in patients with health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 58 (1): p. 317-324. 2014.

YE, Z. K., LI, C., SUO-DI Z. Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring of Vancomycin: A Systematic Review. **PLOS ONE**. V. 9 (6). Jun. 2014

YE, Z. K., TANG, H., SUO-DI Z. Benefits of Therapeutic Drug Monitoring of Vancomycin: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLOS ONE**. V. 8 (10) Oct. 2013.

11. ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 – Identificação do Responsável pela execução da pesquisa:

Título: Bacteremia em pacientes submetidos à hemodiálise na Grande Vitória, ES: aspectos microbiológicos e terapêuticos

Pesquisador Responsável: Kênia Valéria dos Santos

Se TCC incluir nome do aluno(a) Participante: NÃO SE APLICA

Contato com pesquisador responsável: Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória, ES. Fone: (27) 9227-0908 – 3335-7297 – 3242-1027

2 – Informações ao participante ou responsável:

1) Você está sendo convidado a participar livre e voluntariamente de uma pesquisa intitulada “Bacteremia em pacientes submetidos à hemodiálise na Grande Vitória, ES: aspectos microbiológicos e terapêuticos” proposta por profa. Dra. Kênia Valéria dos Santos do departamento de Patologia do CCS/UFES. É uma pesquisa de natureza científica, com duração prevista de 18 meses.

2) Pretende-se com esta pesquisa contribuir para o alcance da melhor conduta terapêutica no manejo das infecções sanguíneas em pacientes atendidos em serviços de hemodiálise da Grande Vitória / ES, monitorando a concentração sanguínea do antibiótico vancomicina e determinando os antibióticos mais efetivos para tratar tais infecções.

3) Antes de aceitar participar da pesquisa, leia atentamente as explicações que informam sobre o procedimento:

3.1) Serão coletadas 03 pequenas amostras de sangue, através da veia ou do cateter. Coletaremos também um pouco de secreção nasal, passando suavemente um tipo de “cotonete” em sua narina. Todo este material será enviado ao laboratório de microbiologia da UFES que realizará os exames para identificar as bactérias e os antibióticos mais indicados para eliminá-las.

3.2) O material será coletado por um enfermeiro quando o médico suspeitar de infecção. Todas as coletas serão feitas nas dependências da Clínica Capixaba do Rim, unidades, Vitória, Serra e Cariacica e demorará aproximadamente 30 minutos.

4) Você poderá se recusar a participar da pesquisa ou poderá abandonar o procedimento em qualquer momento, sem nenhuma penalização ou prejuízo.

5) A sua participação na pesquisa será como voluntário, [ou a do menor ou incapaz pelo qual você é responsável], não recebendo nenhum privilégio, seja ele de caráter financeiro ou de qualquer natureza. Entretanto, lhe serão garantidos todos os cuidados necessários a sua

participação de acordo com seus direitos individuais e respeito ao seu bem-estar físico e psicológico.

6) A sua participação [ou a do menor ou incapaz sob sua responsabilidade] poderá envolver os seguintes riscos ou desconfortos: Punção da veia para coleta do sangue para exames. Estes procedimentos já fazem parte da rotina de tratamento médico nos casos de suspeita de infecção do cateter e são indicados independentemente de sua participação nesta pesquisa.

7) Prevêem-se como benefícios da realização dessa pesquisa a identificação das bactérias mais frequentes nas infecções do sangue dos pacientes que fazem hemodiálise e os antibióticos mais apropriados contra estas infecções, ajudando a dar o melhor tratamento para o paciente.

8) Serão garantidos o sigilo e privacidade aos participantes [ou seu responsável], assegurando-lhes o direito de omissão de sua identificação ou de dados que possam comprometer-lo. Na apresentação dos resultados não serão citados os nomes dos participantes.

9) Os resultados obtidos com a pesquisa serão apresentados em eventos ou publicações científicas. O material da pesquisa será usado para os propósitos desta pesquisa, mas poderão futuramente ser usados para outras pesquisas na referida Instituição.

10) Você poderá, a qualquer momento, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Ufes (CEP-Ufes) que fica no Centro de Ciências da Saúde - Prédio da Direção do Centro – Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES. Tel. 3335-7211. Ou ainda por e-mail cep@ccs.ufes.br

Confirmando ter sido informado e esclarecido sobre o conteúdo deste termo. A minha assinatura abaixo indica que concordo em participar desta pesquisa e por isso dou meu livre consentimento.

_____, ____ de ____ de _____

(local e data)

Nome do participante: _____

Assinatura do participante ou responsável: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

12. ANEXO II



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 01 de novembro de 2011.

De: Prof. Dr. Aduino Emmerich Oliveira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. (a) Kênia Valéria dos Santos
Pesquisador (a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado **“Bacteremia em pacientes submetidos à hemodiálise na Grande Vitória, ES: aspectos microbiológicos e terapêuticos.”**

Senhor (a) Pesquisador (a),

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. 219/11 intitulado **“Bacteremia em pacientes submetidos à hemodiálise na Grande Vitória, ES: aspectos microbiológicos e terapêuticos”** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 26 de outubro de 2011.

Lembramos que, cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,


Coordenador do
Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/UFES