

Polimixinas: Essenciais na era das bactérias multirresistentes

Polymyxins: Essentials for the era of multiresistant bacteria

Leandro Parussolo ^{1,3}; Lourdes Botelho Garcia ²; Maria Cristina Bronharo Tognim ²

¹ Instituto Federal de Santa Catarina - IFSC

² Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia, Universidade Estadual de Maringá – UEM

³ Autor para correspondência (*Author for correspondence*): leandroparussolo@gmail.com

Resumo

As polimixinas, polipeptídios catiônicos isolados a partir da cultura de *Bacillus polymyxa*, foram descobertas em 1947. Os principais polipeptídeos deste grupo são B e E. Seu uso clínico foi interrompido na década de 70, devido à toxicidade apresentada quando administrada em altas doses, mesmo sendo eficaz contra micro-organismos Gram-negativos. O interesse na reavaliação das polimixinas tem aumentado com o aparecimento de bactérias Gram-negativas multirresistentes, bem como pela falta de novos compostos químicos efetivos no combate destes micro-organismos. Estudos recentes sugeriram que o uso das polimixinas é relativamente seguro em dosagens recomendadas. Um dos grandes problemas encontrados é relativo à utilização dos métodos adequados para testar a sensibilidade das bactérias a estes compostos. Apesar de atualmente o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ter estabelecido recomendações para os testes, estudos mostram que há uma discordância entre os métodos a serem utilizados para a detecção da resistência às polimixinas. Portanto, a presente revisão apresenta os fatos relevantes em relação à utilização de métodos adequados para detecção da susceptibilidade, bem como a associação destes com o uso terapêutico das polimixinas.

Palavras-chave: polimixinas, toxicidade, uso terapêutico, testes de susceptibilidade.

Abstract

The polymyxin, cationic polypeptides isolated from the culture of *Bacillus polymyxa*, were discovered in 1947. The main polypeptides of this group are B and E. Its clinical use was interrupted in the 70s due to the toxicity caused when administered at high doses, even being effective against gram-negative microorganisms. The interest upon the revaluation of Polymyxins has increased with the emergence of multidrug Gram-negative bacteria, and with the lack of new chemical compounds effective in combating these microorganisms as well. Recent studies suggested that the use of Polymyxins is relatively safe when provided in adequate dosages. One of the most important problems is related to the using of adequate methods to test the sensitivity of bacteria to these compounds. Even though, currently the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) had established recommendations for the tests, studies had shown that there is a disagreement among the methods to be used for the detection of resistance to polymyxin. Therefore, this review presented the relevant facts regarding the use of appropriate methods to detect susceptibility, as well as the combination of these methodologies with the therapeutic use of polymyxin.

Keywords: polymyxins, toxicity, therapeutic use, susceptibility tests.

INTRODUÇÃO

As polimixinas foram descobertas em 1947 (Li et al., 2005), tendo seu uso disponível no final da década de 50 e início da década de 60 (Gunderson et al., 2003). Caracterizadas como polipeptídios catiônicos, são isolados a partir da cultura do micro-organismo *Bacillus polymyxa*, um bacilo Gram-positivo aeróbio isolado do solo (Hoeprich, 1970.; Li et al.,

2005; Furtado et al., 2007). Os principais polipeptídios deste grupo são denominados Polimixina A, B, C, D e E, sendo usado clinicamente apenas a Polimixina B e E (colistina) devido à elevada toxicidade dos demais (Falagas et al., 2006).

Nos anos 60, apesar dos seus graves efeitos

escolha para o tratamento de infecções graves causadas por *Pseudomonas aeruginosa* (Ryan et al., 1969). No entanto, com a síntese de agentes menos tóxicos, tais como as cefalosporinas de terceira geração com atividade antipseudomonas e os aminoglicosídeos, o uso das polimixinas foi restringido. Desta forma, mesmo sendo eficaz contra micro-organismos Gram-negativos, seu uso clínico foi interrompido na década de 70, devido à toxicidade apresentada quando administrada em altas doses (Ouder Kirk et al., 2003; Li et al., 2006).

No entanto, mesmo com o avanço da medicina moderna na descoberta de antibióticos, o aparecimento de resistência microbiana, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), tem sido considerado um grande problema, já que certas substâncias tornaram-se ineficazes para o tratamento de infecções por cepas multirresistentes (Gunderson et al., 2003; Li et al., 2006; Kallel et al., 2006), em particular, as infecções causadas por bactérias Gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* que comumente estão relacionadas com quadros infecciosos graves e apresentam resistência a multidrogas (Levin et al., 1999; Hamer, 2000; Jiménez-Mejías et al., 2000; Ouder Kirk et al., 2003; Karabinis et al., 2004; Li et al., 2006; Hawley et al., 2007).

Nos últimos anos, os carbapenens, antibióticos de escolha no tratamento de infecções por estes micro-organismos, também tem sido utilizados com cautela principalmente nos caso de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, uma vez que epidemias envolvendo resistência a esta classe têm sido relatadas (Sobieszcyk et al., 2004).

Como não têm surgido compostos químicos efetivos no combate a estes micro-organismos, aumentou o interesse na reavaliação de algumas moléculas que foram abandonadas devido a sua toxicidade (Jacobs, 2007). Com isso, as polimixinas B e E (colistina) tiveram seu uso

resgatado e vem sendo utilizado no tratamento de infecções causadas por bacilos Gram-negativos não fermentadores que, apesar de multirresistentes, continuam susceptíveis a este grupo antibiótico (Levin et al., 1999; Markou et al., 2003; Gunderson et al., 2003; Sobieszcyk et al., 2004; Yoon et al., 2004; Kallel et al., 2006; Furtado et al., 2007; Mesaros et al., 2007; Balaji et al., 2011).

Estrutura Química, Mecanismo de Ação e Espectro de Atividade das Polimixinas

As polimixinas são denominadas na literatura como um grupo básico de polipeptídeos (Li et al., 2005; Falagas et al., 2006; Furtado et al., 2007; Arnold et al., 2007).

Segundo Katz & Demain (1977) grupos de antibióticos peptídicos apresentam características definidas dentre as quais (1) são menores que proteínas; (2) podem diferir molecularmente pela presença de aminoácidos residuais; (3) podem apresentar estrutura cíclica, e poucos são lineares; (4) são geralmente resistentes a hidrólise por peptidases e proteases oriundas de animais e de plantas (a polimixina B é susceptível a ficina e papaína).

Segundo Falagas et al. (2006), as polimixinas são compostas pelo ácido 6-metil-octanoico ou 6-metil-eptanoico e aminoácidos, apresentando ainda um lipídeo ligado a cadeia de peptídeo. Este grupo é considerado anfipático e distribui-se bem em substâncias aquosas e não aquosas (Hermsen et al., 2003).

A composição química de cada membro do grupo das polimixinas depende da inserção de grupos amino livres nas posições 3 da cadeia linear, e das posições 6,7 e 10 da cadeia cíclica (figuras 1 e 2).

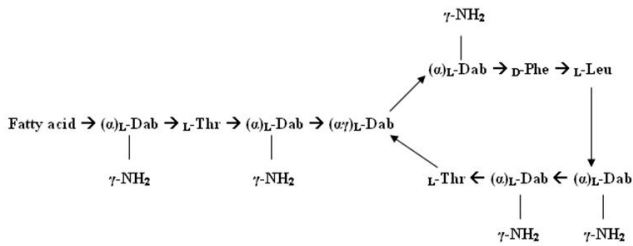


Figura 1. Estrutura química da Polimixina B (Li et al., 2006).

Figure 1. Chemical structure of Polymyxin B (Li et al., 2006).

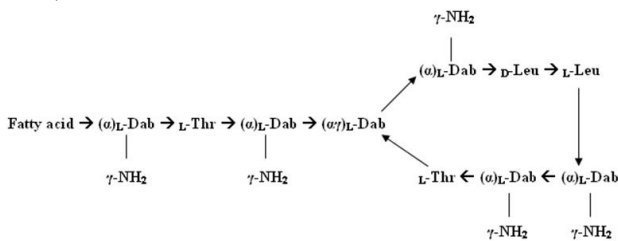


Figura 2. Estrutura química da Polimixina E (Colistina) (Li et al., 2006).

Figure 2. Chemical structure of Polymyxin E (Colistin) (Li et al., 2006).

As polimixinas produzem um efeito fisiológico que conduz a mudanças na permeabilidade da membrana e conseqüente morte da célula (Hermsen et al., 2003). São bactericidas contra várias bactérias Gram-negativas e atuam como detergentes catiônicos desestabilizando a integridade da membrana da célula bacteriana (Cathpole et al., 1997; Tam et al., 2005). O anel peptídico policatiônico das polimixinas une-se as membranas dos micro-organismos substituindo as pontes de cálcio e magnésio que estabilizam as moléculas lipopolissacarídicas (Schindler et al., 1979; Hancock, 1997; Hermsen et al., 2003; Falagas & Kasiakou, 2005).

Com isso, as interações entre as moléculas lipopolissacarídicas e a cadeia lateral de ácido graxo da polimixina facilitam a interação entre polimixina e membrana e a intercalação das moléculas do antibiótico na membrana provoca sua desorganização, com saída dos componentes celulares e morte da bactéria (Hancock, 1997; Hermsen et al., 2003).

A atividade antibacteriana das polimixinas não depende da atividade metabólica da bactéria e isso pode ser um significativo fator que

contribui para a carência de desenvolvimento de resistência bacteriana às polimixinas (Lorian, 1971; Cathpole et al., 1997).

Polimixina B e polimixina E (colistina) exibem similar espectro de atividade (Gales et al., 2001) e bacilos Gram-negativos, tais como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* são intrinsecamente susceptíveis à essas drogas (Gales et al., 2006), enquanto *Proteus spp.*, *Neisseria spp.*, organismos Gram-positivos, fungos e anaeróbios são resistentes (Hermsen et al., 2003).

Ainda nesse sentido, Cathpole et al. (1997) demonstrou que colistina não apresentou atividade contra *Providencia spp.* e *Serratia spp.* Já *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e *Klebsiella spp.* são usualmente susceptíveis às polimixinas (Gales et al., 2001; 2006).

Estudo realizado por Gales et al. (2001) demonstrou que essas drogas apresentam excelente atividade contra isolados de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL e que não exibem atividade contra alguns bacilos não fermentadores, tal como *Burkholderia cepacia*.

Resistência

As polimixinas são caracterizadas por raro desenvolvimento de resistência, sendo as drogas de escolha para tratamento de bactérias Gram-negativas multirresistentes (Hogardt et al., 2004).

A resistência dos micro-organismos às polimixinas não está completamente elucidado, podem ocorrer através dos mecanismos de mutação ou adaptação (Moore et al., 1984; Skiada et al., 2011). Estudos relatam que alterações na membrana externa da célula bacteriana, tais como redução de lipopolissacarídeos, magnésio ou cálcio, alterações lipídicas e redução dos níveis de proteínas específicas da membrana externa, são responsáveis pelo desenvolvimento

da resistência (Moore et al., 1984; Gunn et al., 1998).

Outros mecanismos de resistência às polimixinas têm sido demonstrados, em *Salmonella* com envolvimento do gene mig-14 (Brodsky et al., 2002) e em *K. pneumoniae* a presença de cápsula polissacarídica pode mediar a resistência às polimixinas (Campos et al., 2004). Já em *Yersinia spp.*, segundo Bengoechea & Skurnik (2000) a bomba de efluxo pode estar associada à resistência às polimixinas.

No entanto, de uma forma geral, as polimixinas tem sido consideradas excelentes opções terapêuticas para infecções por bactérias multirresistentes, devido ao baixo índice de resistência desses micro-organismos a essas drogas. Essa baixa taxa de resistência pode ser explicada, também pelo longo tempo que esse antimicrobiano ficou em desuso (Giardello & Gales, 2012).

Tognim et al. (2004) testaram a susceptibilidade de 826 isolados de *Acinetobacter spp.* coletados em centros médicos da América Latina, à dezesseis agentes antimicrobianos e demonstraram que, em geral, as taxas de resistência foram muito altas para a maioria dos antimicrobianos, com exceção dos carbapenems (imepenem e meropenem) e polimixina B. Somente patógenos coletados em 2001 (n=166) foram testados com polimixina B, o qual demonstrou excelente atividade (96,4% susceptibilidade). Seis isolados foram caracterizados como resistentes a polimixina B, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) \geq 4 μ g/ml.

Atualmente, em um estudo realizado a fim de determinar a susceptibilidade de Gram-negativos isolados de hemoculturas, observou-se uma baixa taxa de resistência a polimixina B, pois apenas 5,71% das amostras foram resistentes, sendo que dois dos isolados eram *E. coli*, três *Enterobacter spp.* e uma *Pseudomonas aeruginosa* (Endres et al., 2012). Ainda, nesse

mesmo sentido, Hermes (2013) avaliou a susceptibilidade de *Pseudomonas aeruginosa* à polimixina B e todos os isolados eram sensíveis à droga.

Ao avaliar a susceptibilidade de *Acinetobacter baumannii* à polimixina B, Teixeira et al. (2012) evidenciaram que apenas 9,4% dos isolados apresentaram resistência, o que foi considerado um baixo índice de resistência quando comparado a resistência desses isolados ao imipenem (68,1%). Sendo considerado como uma possibilidade terapêutica no tratamento de *Acinetobacter baumannii*.

Toxicidade, Propriedades Farmacodinâmicas e Farmacocinéticas

As mais comuns toxicidades com a administração de polimixinas são: nefrotoxicidade e neurotoxicidade (Li et al., 2005; 2006; Falagas & Kasiakou, 2006; Li et al., 2006).

A toxicidade das polimixinas pode ser sugerida em parte, por conter ácido D-amino e componente ácido graxo. Insuficiência renal representa o principal efeito adverso do uso das polimixinas. A ocorrência de hematúria, proteinúria, cilindrúria ou oligúria pode também estar associada com a administração de polimixinas (Falagas & Kasiakou, 2006).

A nefrotoxicidade de colistina tem sido associada com a estrutura química da droga e o mecanismo proposto pelo qual colistina induz esses efeitos nefrotóxicos, incluindo necrose tubular aguda, é minuciosamente relatado por esses mecanismos de ação contra bactéria Gram-negativa (Falagas et al., 2005).

Neurotoxicidade das polimixinas é consideravelmente menos freqüente que a nefrotoxicidade e usualmente mais ameno, sendo resolvido após rápida descontinuação da terapia (Falagas & Kasiakou, 2006).

Dados recentes sugerem que o uso das

usado as dosagens recomendadas, monitorando a função renal e evitando o uso de outros agentes nefrotóxicos (Falagas et al., 2006).

Garnacho-Montero et al. (2003) avaliaram a eficácia e segurança de colistina administrada intravenosamente como terapia para pneumonia associada a ventilação causada por *A. baumannii* resistente à multidrogas e concluiu que esta é uma opção eficaz, pois a terapia com colistina foi segura e atingiu sucesso clínico.

Estudo realizado por Levin et al. (1999) em pacientes com infecções nosocomiais causadas por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes a multidrogas foram tratados com colistina, nefrotoxicidade não foi causa de descontinuação do tratamento e nenhuma desordem neuromuscular foi observada, sendo esta uma boa opção terapêutica no tratamento de infecções severas causadas por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes a multidrogas.

Linden et al. (2003) avaliaram o uso parenteral de colistina em pacientes de UTI com infecções por cepas de *P. aeruginosa* resistentes à multidrogas e observaram uma moderada eficácia apesar da preocupação com a toxicidade, demonstrando um aumento no valor potencial como terapia de última escolha, ou seja, em infecções severas. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Falagas et al. (2005) onde nefrotoxicidade foi observada em 14,3% dos pacientes e a evidência de neurotoxicidade não foi observada quando tratados com antibiótico com espectro contra patógenos Gram-negativos concomitante com colistimetato de sódio intravenoso.

Dentre os fármacos, a polimixina E (colistina) apresenta potencial nefrotóxico inferior ao da polimixina B, porém, em contrapartida, a ação bactericida da polimixina B é mais expressiva (Hermsen et al., 2003).

Holloway et al. (2006) observaram a cura de 76% pacientes tratados com polimixina B, a qual foi

efetivamente usada no tratamento de pacientes com infecção por *A. baumannii* multidroga resistente. Neurotoxicidade foi observada em 6% dos pacientes e nefrotoxicidade em 21% dos pacientes, valores similares às taxas previstas em estudos encontrados na literatura.

Estudo na Grécia realizado por Michalopoulos et al. (2005), no qual tratamento com administração de colistina em pacientes com infecções adquiridas em UTI causadas por bactérias Gram-negativas resistentes à multidrogas, demonstrou melhora em 74,4% dos pacientes. Falha renal aguda foi desenvolvida por 18,6% dos pacientes durante tratamento, principalmente por pacientes com história de falha renal crônica, concluindo que colistina pode ser relativamente segura e efetiva no tratamento de pacientes com infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes.

Agentes potencialmente nefrotóxicos são associados com alta toxicidade em pacientes com função renal anormal, mesmo com dosagens ajustadas. No entanto, função renal prejudicada não pode ser atribuída unicamente à toxicidade das polimixinas (Michalopoulos et al., 2005).

Devido à toxicidade das polimixinas, poucos estudos sobre sua farmacocinética e farmacodinâmica foram realizados, sendo estes realizados há muitos anos envolvendo injeções intramusculares, não recomendadas atualmente ou ainda envolviam populações restritas como pacientes com fibrose cística, não podendo ser extrapolados para outras sub-populações de pacientes (Hermsen et al., 2003; Arnold et al., 2007).

Mais informações com relação à farmacocinética e farmacodinâmica das polimixinas em várias sub-populações de pacientes são necessárias para otimizar os regimes de dosagens afim de alcançar máxima eficácia e mínima toxicidade (Li & Nation, 2006).

Li et al. (2001) avaliaram propriedades farmacodinâmicas de sulfato e metanosulfonato de colistina *in vitro* em *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pacientes com fibrose cística, e sulfato de colistina demonstrou rápida atividade bactericida com completa erradicação do microrganismo, demonstrando alta potência em relação ao metanosulfato.

Sulfato de colistina e colistimetato não são absorvidos pelo trato gastrointestinal com administração oral. Em soluções aquosas, colistimetato é hidrolizado e forma uma complexa combinação de derivados parcialmente sulfometilados e colistina (McMillan & Pattison, 1969).

Em relação à polimixina B, estudos *in vitro* demonstram aumento na toxicidade com tempo prolongado de exposição, sendo que altas doses administradas menos frequentemente podem minimizar a toxicidade (Li et al., 2005). Nesse mesmo sentido, Neiva et al. (2013) avaliando a nefrotoxicidade *in vitro* de polimixina B concluiu que a citotoxicidade se mostrou dose dependente, aumentando com a maior exposição e maior dose do antibiótico.

Sader & Jones (2008) em estudo com uso de polimixina B por infusão contínua e infusão intermitente, concluíram que o uso intravenoso de polimixina B em doses intermitentes (duas doses 60-120 minutos) é conveniente, efetivo e seguro no tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes.

Testes de Susceptibilidade

A verificação da susceptibilidade *in vitro* das bactérias aos agentes antimicrobianos pode ser avaliada por diferentes metodologias. O Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) descreve técnicas padronizadas a serem utilizadas, porém no caso das polimixinas este instituto tem nos últimos anos descrito diferentes condutas laboratoriais no intuito de que os resultados *in vitro* possam ser aplicados

in vivo com segurança.

Apesar de ser utilizada *in vivo* para tratamentos de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* multirresistentes desde os anos 2000, somente em 2006 o CLSI estabeleceu normas para o teste de *Acinetobacter spp.* apenas por métodos dilucionais e, a partir de 2007 foram estabelecidas as normas para o teste de *Pseudomonas aeruginosa* pelo método de difusão em disco e pelos métodos de diluição (CLSI, 2006; 2007).

Apesar das metodologias padronizadas serem estabelecidas pelo CLSI, estudos mostram que há uma discordância entre os métodos a serem utilizados para a detecção da resistência às polimixinas. Essa confusão ocorre pelo fato de que são raros os artigos que fazem uma associação clinico-laboratorial do uso das polimixinas.

Apesar do método de disco difusão, no qual se utiliza um disco de 10 µg de sulfato de colistina e 300 unidades para poli B, ser um método mais simples de fácil execução pelos laboratórios clínicos, segundo Gales et al. (2001), resultados do teste de disco difusão devem ser confirmados com um método de diluição, pois colistina e polimixina B, em função de seu alto peso molecular, não difundem muito bem em ágar, sendo o método de difusão, dessa maneira, menos preciso.

Além disso, como as polimixinas têm sido utilizadas como última opção terapêutica em infecções graves por *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, um outro problema permeia a prática laboratorial quando da determinação da susceptibilidade às polimixinas, pois as diferentes marcas de Ágar Muller Hinton (meio padronizado para a realização dos testes de susceptibilidade) apresentam alta variabilidade de cátions, o que influencia nos resultados dos testes (Giardello et al., 2012)

Atualmente não há padronização para avaliar a susceptibilidade *in vitro* as polimixinas pelo método de disco-difusão para diversas bactérias. Assim é recomendado a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio das técnicas de microdiluição em caldo ou Agar diluição.

Em estudo realizado por Reis et al. (2003), os resultados dos testes de susceptibilidade de *Acinetobacter spp.* à polimixina B pelas técnicas de ágar diluição e disco difusão foram discrepantes. Isolados resistentes à polimixina B pelo método de ágar diluição foram caracterizadas como sensíveis pelo método de disco difusão. Confirmando, assim, que o método de disco difusão é incerto para detecção de isolados de *Acinetobacter spp.* com susceptibilidade reduzida às polimixinas.

Lo-Tem-Foe et al. (2007) avaliaram métodos de sensibilidade para colistina em isolados clínicos. Comparando os métodos de ágar diluição e Etest® ao método de referência, microdiluição em caldo, constatou resultados altamente concordantes, enquanto que o método de disco difusão apresentou altos índices de erro e um baixo nível de reprodutibilidade entre medidas subsequentes de um mesmo isolado. Concluindo, dessa forma, que o método de disco difusão não é confiável para medir susceptibilidade à colistina.

Em contrapartida, Sampaio et al. (2008) em um consenso em detecção de resistência bacteriana, não recomendam a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para polimixinas por Etest® em função da subjetividade da leitura.

Hogardt et al. (2004) compararam o método de microdiluição em caldo com o método de ágar diluição, “padrão ouro”, para determinar a atividade da polimixina. Usando o método de ágar diluição com polimixina E (colistina), este, produziu altos MICs, predizendo uma alta frequência de resistência à polimixina. Com

uma variação máxima compartilhada de 44%, a correlação entre ambos métodos mostrou-se insatisfatória. Com a vantagem de custo efetivo e rapidez, e rapidez, o método de microdiluição mostra-se confiável para determinar susceptibilidade *in vitro* da polimixina.

Assim, os clínicos dependem muito das informações fornecidas pelo laboratório de microbiologia clínica para o tratamento de pacientes gravemente enfermos, e a aplicação de métodos de susceptibilidade adequados, realizados em condições ideais devem ser estabelecidos para que o sucesso terapêutico aconteça efetivamente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de infecções por microrganismos multirresistentes é um dos maiores problemas identificados atualmente principalmente em UTI. A falta de novos compostos químicos efetivos no combate a estes microrganismos levaram ao resgate de substâncias anteriormente consideradas muito tóxicas como é o caso das polimixinas para o uso clínico.

Atualmente pode-se dizer que as polimixinas compreendem um grupo de antimicrobianos que apresentam uma eficácia terapêutica em infecções causadas por Gram-negativos multirresistentes e que podem ser administradas de forma segura desde que utilizados regimes de dosagens adequados para cada indivíduo.

Mesmo com os testes de susceptibilidade padronizados por comitês internacionais, estudos mostram discrepâncias entre os métodos a serem utilizados para a detecção da resistência às polimixinas, e isso implica na terapêutica, pois o sucesso clínico depende da susceptibilidade testada por métodos adequados.

Dessa forma é conveniente que mais estudos sejam realizados abordando a associação clínico-laboratorial com intuito de estabelecer os métodos mais adequados para a detecção da

susceptibilidade às polimixinas associando a farmacocinética e farmacodinâmica da droga, para que conseqüentemente obtenha-se máxima eficácia terapêutica e mínima toxicidade.

REFERÊNCIAS

- ARNOLD, T.M.; FORREST, G.; MESSMER, K.J. 2007. Polymyxin antibiotics for gram-negative infections. **Am J Health Syst Pharm**, 64:819-826.
- BALAJI, V.; JEREMIAH, S.S.; BALIGA, P.R. 2011. Polymyxins: Antimicrobial susceptibility concerns and therapeutic options. **Indian J Med Microbiol.**, 29:230-242.
- BENGOECHEA, J.A.; SKURNIK, M. 2000. Temperatura-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. **Mol Microbiol.**, 37(1):67-80.
- BRODSKY, I.E.; ERNST, R.K.; MILLER, S.I.; FALKOW, S. 2002. mig-14 is a *Salmonella* gene that plays a role in bacterial resistance to antimicrobial peptides. **J Bacteriol.**, 184(12):3203-3213.
- CAMPOS, M.A.; VARGAS, M.A.; REGUEIRO, V.; LOMPART, C.M.; ALBERTI, S.; BENGOECHEA, J.A. 2004. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. **Infect Immun.**, 72(12): 7107-7114.
- CATHPOLE, C.R.; ANDREWS, J.M.; BRENWALD, N.; WISE, R. 1997. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. **J Antimicrob Chemother.**, 39:255-260.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; **16th Informat Sup.**, 26: M100-S16.
- _____. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **17th Informat Sup.**, 27: M100-S17.
- ENDRES, C.T.; SILVA, G.T.; TESSARI, J.P.; RIBEIRO, V.B.; ALVES, M.D.; BEHLE, T.F.; ZAVASCKI, A.P. 2012. Avaliação da concentração inibitória mínima de polimixina B em bacilos Gram-negativos isolados de hemoculturas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **Rev HPCA.**, 32 (supl.): 291.
- FALAGAS, M.E.; FRAGOULIS, K.N.; KASIAKOU, S.K.; SERMAIDIS, G.J.; MICHALOPOULOS, A. 2005. Nephrotoxicity of intravenous colistin: a prospective evaluation. **Int J Antimicrob Agents.**, 26:504-507.
- FALAGAS, M.E.; KASIAKOU, S.K.; TSIODRAS, S.; MICHALOPOULOS, A. 2006. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: a review of the recent literature. **Clin Med Res.**, 4(2):138-146.
- FALAGAS, M.E.; RIZOS, M.; BLIZIOTIS, I.A.; RELLOS, K.; KASIAKOU, S.K.; MICHALOPOULOS, A. 2005. Toxicity after prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. **BMC Infect Dis.**, 5:1-8.
- FALAGAS, M.E.; KASIAKOU, S.K. 2005. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. **Rev Anti Infect Agents**, 40:1333-1341.
- _____. 2006. Toxicity of the polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. **Crit Care**, 10(1): R27-40.
- FURTADO, G.H.C.; D'AZEVEDO, P.A.; SANTOS, A.F.; GALES, A.C.; PIGNATARI, A.C.; MEDEIROS, E.A. 2007. Intravenous polymyxin B for the treatment of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Int J Antimicrob Agents**, 30: 315-319.
- GALES, A.C.; JONES, R.N.; SADER, H.S. 2006. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54731 clinical isolates of gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). **Clin Microbiol Infect.**, 12(4):315-321.
- GALES, A.C.; REIS, A.O.; JONES, R.N. 2001. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. **J Clin Microbiol.**, 39(1):183-190.
- GARNACHO-MONTERO, J.; ORTIZ-LEYBA, C.; JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, F.J.; BARRERO-ALMODÓVAR A.E.; GARCÍA-GARMENDIA, J.L.; BERNABEU-WITTELI, M.; GALLEGU-LARA, S.L.; MADRAZO-OSUNA, J.J. 2006. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilador-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. **Clin Infect Dis.**, 36:1111-1118.
- GIARDELLO, R.; GALES, A.C. 2012. Resistência às polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções

terapêuticas. **Rev Epidemiol Control Infect.**, 2(2):66-69.

GIARDELLO, R.; BISPO, P.J.; YAMANAKA, T.M.; GALES, A.C. 2012. Cation concentration variability of four distinct mueller-hinton agar brands influences polymyxin B susceptibility results. **J Clin Microbiol.**, 50:2414-2418.

GUNDERSON, B.W.; IBRAHIM, K.H.; HOVDE, L.B.; FROMM, T.L.; REED, M.D.; ROTSCHAFER, J.C. 2003. Synergistic activity of colistin and ceftazidime against multiantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in Vitro pharmacodynamic model. **Antimicrob Agents Chemother**, 47(3):905-909.

GUNN, J.S.; LIM, K.B.; KRUEGER, J.; KIM, K.; GUO, L.; HACKETT, M.; MILLER, S.I. 1998. PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance. **Mol Microbiol.**, 27(6):1171-1182.

HAMER, D.H. 2000. Treatment of nosocomial pneumonia and tracheobronchitis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with aerosolized colistin. **Am J Respir Crit Care Med.**, 162:328-330.

HANCOK, R.E.W. 1997. Peptide Antibiotics. **Lancet**, 349:418-422.

HAWLEY, J.S.; MURRAY, C.K.; JORGENSEN, J.H. 2007. Development of colistin-dependent *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex. **Antimicrob Agents Chemother**. 51:4529-4530.

HERMES, D.M. **Avaliação da heteroresistência à polimixina B em isolados de Pseudomonas aeruginosa.** 2013. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina: Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

HERMSEN, E.D.; SULLIVAN, C.J.; ROTSCHAFER, J.C. 2003. Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics and clinical applications. **Infect Dis Clin North Am.**, 17:545-562.

HOEPRICH, P.D. 1970. The polymyxins. **Med Clin North Am.**, 54:1257-1265.

HOGARDT, M.; SCHMOLDT, S.; GÖTZFRIED, M.; ADLER, K.; HEESEMANN, J. 2004. Pitfalls of polymyxin antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients. **J Antimicrob Chemother**, 54:1057-1061.

HOLLOWAY, K.P.; ROUPHAEL, N.G.; WELLS, J.B.; KING, M.D.; BLUMBERG, H.M. 2006. Polymyxin

B and doxycycline use in patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in the intensive care unit. **Ann Pharmacother**, 40:1939-1945.

JACOBS, F. 2007. Parenteral colistin: finally a useful drug? **Int J Antimicrob Agents**, 29(2):12.

JIMÉNEZ-MEJÍAZ, M.E.; BECERRIL, B.; MÁRQUEZ-RIVAS, F.J.; PICHARDO, C. CUBEROS, L.; PACHÓN, J. 2000. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with intravenous colistin sulfomethate sodium. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, 19:970-971.

KALLEL, H.; BAHLOUL, M.; HERGAFI, L.; AKROUT, M.; KETATA, W.; CHELLY, H.; HAMIDA, C.B.; REKIK, N.; HAMMANI, A.; BOUAZIZ, M. 2006. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. **Int J Antimicrob Agents**, 8(4):366-369.

KARABINIS, A.; PARAMYTHIOTOU, E.; MYLONA-PETROPOULOU, D.; KALOGEROMITROS, A.; KATSARELIS, N.; KONTOPIDOU, F.; POULARAS, I.; MALAMOU-LADA H. 2004. Colistin for *Klebsiella pneumoniae* – associated sepsis. **Clinical Infectious Diseases**, 38:7-9.

KATZ, E.; DEMAINE, A.L. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. **Bacteriol Rev.**, 41(2):449-474.

LEVIN, A.S.; BARONE, A.A.; PENÇO, J.; SANTOS, M.V.; MARINHO, I.S.; ARRUDA, E.A.; MANRIQUE, E.I.; COSTA, S.F. 1999. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Paeruginosa* and *A. baumannii*. **Clin Infect Dis.**, 28:1008-1011.

LI, J.; TURNIDGE, J.; MILNE, R.; NATION, R.L.; COULTHARD, K.; COULTHARD, K. 2001. In-vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. **Antimicrob Agents Chemother**, 45(3):781-785.

LI, J.; COULTHARD, K.; MILNE, R.; NATION, R.L.; CONWAY, S.; PECKHAM, D.; ETHERINGTON, C.; TURNIDGE, J. 2003. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. **J Antimicrob Chemother**, 52:987-992.

LI, J.; NATION, R.L.; MILNE, R.W.; TURNIDGE, J.D.; COULTHARD K. 2003. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography.

Antimicrob Agents Chemother, 47(4):1364-1370.

_____. 2005. Evaluation of colistin as na agent against multi-resistant gram-negative bacteria. **Int J Antimicrob Agents**, 25:11-25.

LI, J.; NATION, R.L.; TURNIDGE, J.D.; MILNE, R.W.; COULTHARD, K.; RAYNER, C.R.; PATERSON, D.L. 2006. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infetions. **Lancet Infect Dis.**, 6:589-601.

LI, J.; NATION, R.L. 2006. Old polymyxins are back: Is resistance close? **Clin Infect Dis.**, 43:663-664.

LINDEN, P.K.; KUSNE, S.; COLEY, K.; FONTES, P.; KRAMER, D.J.; PATERSON, D. 2003. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Clin Infect Dis.**, 37:E154-60.

LORIAN, V. 1971. The mode of action of antibiotics on gram-negative bacilli. **Arch Int Med.**, 128:623-632.

LO-TEM-FOE, J.R.; DE SMET, A.M.; DIEDEREN, B.M.; KLUYTMANS, J.A.; VAN KEULEN, P.H. 2007. Comparative evaluation of the *Vitek 2*, disk diffusion, Etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistina in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. **Antimicrob. Agents Chemother**, 51(10):3726- 30.

MARKOU, N.; APOSTOLAKOS, H.; KOUMOUDIQU, C.; ATHANASIOU, M.; KOUTSOUKOU, A.; ALAMANOS, I.; GREGORAKOS, L. 2003. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant gram-negative bacilli in critically ill patients. **Crit Care**, 7(5):R78-83.

MCMILLAN, F.H.; PATISON, L.C. 1969. Sodium colistimethate. Dissociations of aminomethanesulfonates in aqueous solution. **J Pharm Sci**, 58:730-737.

MESAROS, N.; NORDMANN, P.; PLÉSIAT, P.; ROUSSEL-DELVALLEZ, M.; VAN ELDERE J.; GLUPCZYNSKI, Y.; VAN LAETHEM, Y.; JACOBS, F.; LEBECQUE P.; MALFROOT A.; TULKENS, P.M.; VAN BAMBEKE F. 2007. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millenium. **Clin Microbiol Infect Dis.**, 13:560-578.

MICHALOPOULOS, A.S.; TSIODRAS, S.; RELLOS, K.; MENTZELOPOULOS, S.; FALAGAS, M.E. 2005. Colistin treatment in patients with ICU-acquired

infections caused by multiresistant gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. **Clin Microbiol Infect.**,11(2):115-121.

MOORE, R.A.; CHAN, L.; HANCOCK, R.E. 1984. Evidence for two distinct mechanisms of resistance to polymyxin B in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, 26:539-545.

NEIVA, L.B.M.; FONSECA, C.D.; WATANABE, M.; VATTIMO, M.F.F. 2013. Polimixina B: efeito dose e tempo dependente na nefrotoxicidade in vitro. **Acta Paul Enferm**, 26(1):57-62.

OUDEKIRK, J.P.; NORD, J.A.; TURETT, G.S.; KISLAK, J.W. 2003. Polymyxin B nephrotoxicity and efficacy against nosocomial infections caused by multiresistant gram-negative bacteria. **Antimicrob Agents Chemother**, 47(8):2659-2662.

REIS, A.O.; LUZ, D.A.M.; TOGNIM, M.C.B.; SADER, H.S.; GALES, A.C. 2003. Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next? **Emerg Infect Dis.**, 9(8):1025-1027.

RYAN, K.J.; SCHAINUCK, L.I.; HICKMAN, R.O.; STRIKER, G.E. 1969. Colistimethate toxicity: report of a fatal case in a previously healthy child. **JAMA**, 207(11):2099-101.

SADER, H.S.; JONES, R.N. 2008. Continuous versus intermittent infusion of polymyxin B in the treatment of infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria. **Int J Antimicrob Agents**, 31:80-82.

SAMPAIO, J.L.M.; D'AZEVEDO, P.A.; BARTH, A.; FIGUEIREDO, A.; DARINI, A.L.C.; GALES, A.C., ZOCCOLI, C.M.; LEVY, C.E.; DIAS, C.A.G.; MARQUES, E.A.; SANTOS, K.R.N.; COSTA, L.M.D.; TEIXEIRA, L.M. 2008. Consenso em detecção de resistência bacteriana aos antimicrobianos em bacilos gram-negativos. **Microbiologia in foco**, 3:18-27.

SCHINDLER, M.; OSSBORN, M.J. 1979. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. **Biochemistry**, 18(20):4425-4430.

SHOJI, J.; KATO, T.; HINOO, H. 1977. The structure of polymyxin T1 (studies on antibiotics from the genus *Bacillus*. XXII). **J Antibiot.**, 30(12):1042-1048.

SKIADA, A.; MARKOGIANNAKIS, A.; PLACHOURAS, D.; DAIKOS, G.L. 2011. Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. **Int J Antimicrob Agents**, 37:187-193.



SOBIESZCZYK, M.E.; FURUYA, E.Y.; HAY, C.M.; PANCHOLI P.; DELLA-LATTA, P.; HAMMER, S.M.; KUBIN, C.J.; 2004. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant gram-negative respiratory tract infections. **J Antimicrob Chemother**, 54:566-569.

TAM, V.H.; SCHILLING, A.N.; VO, G.; KABBARA, S.; KWA, A.L.; WIEDERHOLD, N.P.; LEWIS, R.E. 2005. Pharmacodynamics of polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob Agents Chemother**, 49(9):3624-3630.

TEIXEIRA, A.B.; HERMES, D.M.; BARIN, J.; LOPES, D.P.; AYRES, J.; MARTINS, E.F.; BARTH, A.L. 2012. Perfil de susceptibilidade para imipenem, polimixina B e tigeciclina através da técnica de microdiluição em caldo para isolados do gênero *Acinetobacter baumannii*. **Rev HCPA**, 32 (Supl.):289.

TOGNIM, M.C.B.; ANDRADE, S.S.; SILBERT, S.; GALES, A.C.; JONES, R.N.; SADER, H.S. 2004. Resistance trends of *Acinetobacter* spp. in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strains: five-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Int J Infect Dis**, 8:284-291.

YOON, J.; URBAN, C.; TERZIAN, C.; MARIANO, N.; RAHAL, J.J. 2004. In Vitro double and triple synergistic activities of polymyxin B, imipenem, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob Agents Chemother**, 48(3):753-757.

Recebido em 3 de dezembro de 2011. Aprovado em 16 de abril de 2014.