
RESISTÊNCIA ÀS POLIMIXINAS EM BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS: UMA REVISÃO MICROBIOLÓGICA

POLYMYXINS RESISTANCE IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA: A MICROBIOLOGICAL REVIEW

Carvalho, Vinícius Dal'Negro¹; Cogo, Laura Lúcia²

1-Graduando do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Brasil. E-mail: vinnes2anne@gmail.com

2-Professora Doutora do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Brasil. Farmacêutica do Laboratório de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

RESUMO:

Antibióticos são substâncias químicas antimicrobianas que tem a finalidade de inibir o crescimento de microrganismos ou destruí-los. As polimixinas são antimicrobianos empregados no tratamento de infecções causadas por bacilos Gram-negativos, atuando na desestabilização da membrana externa bacteriana e causando a sua morte. O uso desse fármaco reemergiu nos últimos anos devido ao número crescente de microrganismos multirresistentes às classes de antimicrobianos comumente empregados, sendo a última escolha no tratamento de cepas resistentes. Entretanto, estudos realizados em todo mundo já relataram resistência às polimixinas, principalmente na América Latina e Ásia, evidenciando um problema de saúde pública mundial.

Palavras-chave: Polimixinas, Resistência Bacteriana, Bactérias Gram-negativas.

ABSTRACT:

Antibiotics are antimicrobial chemical substances that have the purpose of inhibiting the growth of microorganisms or destroy them. The polymyxins are antimicrobial agents used in the treatment of infections caused by Gram-negative bacilli, acting in the destabilization of the bacterial outer membrane and causing its death. The use of this drug has reemerged in recent years due to the increasing number of multiresistant microorganisms to classes of antimicrobials commonly used, being the last choice in the treatment of resistant strains. However, worldwide researches have already reported resistance to the polymyxins, mainly in Latin America and Asia, indicating a global public health problem.

Key Words: Polymyxins, Bacterial Resistance, Gram-negative Bacteria.

1. INTRODUÇÃO

Antibióticos são substâncias químicas antimicrobianas que têm por finalidade inibir o crescimento de microrganismos ou causar a sua destruição. As polimixinas são antimicrobianos polipeptídicos que atuam inativando a porção lipídica A da endotoxina presente na membrana externa da bactéria ocasionando a morte bacteriana (MENDES; BURDMANN, 2009). Essa classe de medicamentos possui cinco tipos de fármacos, porém, apenas a Polimixina B e a Polimixina E (colistina) são utilizadas clinicamente (FALAGAS *et al.*, 2010). De acordo com Oliveira e colaboradores (2009), esses dois fármacos são comparáveis tanto na eficácia clínica, quanto na toxicidade renal.

A despeito do espectro de ação, o alvo desse fármaco são as bactérias Gram-negativas. Os relatos de resistência tornaram-se um problema de saúde pública de ordem mundial, sendo cada vez mais relevantes os estudos que elucidem os mecanismos dessa resistência e que incentivem o desenvolvimento de novos medicamentos. Isso se deve ao fato de que as polimixinas são a última opção de escolha para o tratamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes às demais classes de antimicrobianos utilizados em hospitais para o tratamento de infecções oportunistas (GALES *et al.*, 2011).

O objetivo desse trabalho é revisar os mecanismos de resistência às polimixinas desenvolvidos por bactérias Gram-negativas e verificar a sua prevalência, descrevendo sucintamente as metodologias padronizadas para caracterização da resistência *in vitro* frente a esse fármaco.

2. POLIMIXINAS

2.1 Histórico

As Polimixinas foram descobertas no final dos anos 40, descritas de forma independente por pesquisadores norte-americanos e ingleses. Elas constituem um grupo de cinco compostos químicos intimamente relacionados, as Polimixinas A, B, C, D e E (MENDES; BURDMANN, 2009). Dentro desse grupo, duas substâncias apresentam aplicação terapêutica. A primeira é a polimixina B, que foi descoberta em 1947, isolada a partir de *Bacillus polymyxa*. A segunda compreende a polimixina E ou Colistina, descoberta em 1950, isolada a partir da espécie *Bacillus colistinus*. As demais não são utilizadas clinicamente devido à sua alta taxa de toxicidade (MOSTARDEIRO, 2009).

O uso das polimixinas reemergiu nos últimos anos como terapia de resgate no tratamento de bacilos Gram-negativos multirresistentes, baseado em experiências

empíricas e séries de casos. Mais recentemente, estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos têm sido realizados para melhor avaliação da ação destas drogas (ZAVASCKI *et al.*, 2010).

2.2 Estrutura Química

As polimixinas B e E são detergentes policatiônicos, cuja estrutura química básica é composta por um decapeptídeo cíclico e uma cadeia tripeptídea com um ácido graxo na extremidade, possuindo elevada porcentagem de resíduos de ácido 2,4-diaminobutírico (Dab) e uma cadeia de ácido graxo aderida ao anel heptapeptídeo, através de uma ligação amida (KVITKO, 2010). A colistina diferencia-se da polimixina B pela presença do aminoácido D-leucina no lugar de D-fenilalanina na posição seis (MENDES; BURDMANN, 2009).

Polimixina B é uma mistura de sulfatos de polipeptídeos contendo quatro componentes relacionados, polimixina B1 a B4, sendo a maioria dos componentes a polimixina B1 e polimixina B2 que contém os ácidos graxos 6-metiloctanoico e 6-metilheptanoico, respectivamente. Os quatro componentes diferem entre si apenas pelo ácido graxo (ELIAS, 2010). Trata-se de um antibiótico anfipático, conferindo, assim, uma propriedade de distribuição boa em ambientes aquosos ou não aquosos, o que resulta em boa solubilidade em água ou sangue, e em membranas lipídicas procarióticas e eucarióticas (MOSTARDEIRO, 2009).

Em termos de potência *in vitro*, sulfato de polimixina B é o mais potente composto, comparado com sulfato de colistina e colistimetato de sódio. O colestimetato de sódio (CMS) é um pró-fármaco da colistina, menos potente em comparação com o composto original e parece causar menos efeitos adversos (MENDES; BURDMANN, 2009). Ambas as moléculas possuem estruturas distintas, sendo a colistina um policação e o CMS um poliânion em pH fisiológico. Em comparação com o CMS, a colistina é duas a quatro vezes mais ativa contra *P. aeruginosa* (ELIAS, 2010).

2.3 Espectro e Mecanismo de Ação

As polimixinas em concentração $<2 \mu\text{g/mL}$, possuem excelente atividade sobre diversos bacilos Gram-negativos fermentadores e não fermentadores de glicose, principalmente contra espécies de *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp., incluindo isolados resistentes a outras classes de antibióticos (ELIAS, 2010).

O mecanismo de ação das polimixinas ainda não está completamente esclarecido. Esses fármacos atuam primariamente nas membranas externa e citoplasmática, com ação semelhante à de detergentes catiônicos simples.

As polimixinas ligam-se aos componentes do envelope celular como fosfolipídios e lipopolissacarídeos (LPS), deslocando competitivamente os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} que agem como estabilizadores da membrana, provocando ruptura da mesma, levando à perda do conteúdo celular e ocasionando morte da bactéria. Essa ação parece ser inibida na presença desses cátions divalentes (CHAMBERS, 2005).

2.4 Farmacocinética

A recomendação atual intravenosa da polimixina B ao paciente com função renal normal é de 1,5 - 2,5 mg.kg⁻¹.dia⁻¹ dividida em 2 doses, administradas em 1 hora de infusão contínua. Para pacientes com disfunção renal, a sugestão é administrar doses ajustadas que incluem decréscimo de dose diária e administração de intervalos prolongados (ELIAS, 2010).

Entretanto, alguns estudos mostraram que, após a administração das doses atualmente recomendadas, o nível sérico máximo atingido variava de 2 a 14 µg.ml⁻¹ e que a ligação protéica da droga é de cerca de 90%. Desse modo, a concentração de droga livre fica próxima ou inferior à concentração inibitória mínima (CIM) de susceptibilidade (<2 µg.ml⁻¹) (RIGATTO, 2011). Outro estudo relatou que menos de 1% de polimixina B infundida foi recuperada inalterada na urina (KWA *et al.*, 2008). As polimixinas são pouco retiradas no processo de diálise (KVITKO, 2010).

Em relação ao CMS, a depuração ocorre por via renal (aproximadamente 60% nas primeiras 24 horas), enquanto que a colistina é eliminada por vias diferentes não totalmente conhecidas (ELIAS, 2010). A distribuição da droga é escassa para líquido, trato biliar, líquido pleural e líquido sinovial (KVITKO, 2010).

2.5 Farmacodinâmica

As polimixinas *in vitro* são rapidamente bactericidas no modelo concentração dependente. Uma das evidencias que comprova esse fato está no efeito pós-antibiótico para *P. aeruginosa*, mas não para *A. baumannii*. Um estudo através da metodologia *time-kill* examinou a farmacodinâmica na polimixina B, demonstrando que um crescimento foi observado após rápida redução inicial da lise bacteriana em todas as concentrações testadas (1-16 mg/L). Um modelo *in vitro* sugeriu que a administração de polimixina três vezes ao dia poderia ser efetiva em suprimir a resistência (KVITKO, 2010).

Um estudo *in vivo* em camundongos neutropênicos, com colistina em infecções musculares e pulmonares por *P. aeruginosa*, demonstrou claramente que o perfil farmacocinético/farmacodinâmico ótimo dessa droga é o tempo da área abaixo da curva tempo/concentração inibitória mínima. Assim, ressalta-se a importância de atingir

um equilíbrio de exposição a altas concentrações da droga e tempo de exposição à mesma (ELIAS, 2010).

2.6 Efeitos Adversos

Os efeitos adversos mais importantes das polimixinas são nefrotoxicidade (principalmente insuficiência renal aguda) e neurotoxicidade. Outros efeitos descritos são alergias levando à lesão cutânea (tipo urticária), dor no local de injeção (intramuscular), tromboflebite (injeção EV), febre e eosinofilia. As informações referentes ao uso em humanos durante a gravidez são limitadas, não sendo encontradas evidências de teratogenicidade humana com uso de polimixina B. O quadro neurotóxico reverte com a suspensão da droga (NEIVA *et al.*, 2013).

3. RESISTÊNCIA ÀS POLIMIXINAS

3.1 Mecanismos de Resistência

O mecanismo de resistência às polimixinas carece de mais estudos, pois não se encontra completamente elucidado até o momento, porém, de uma forma geral, são observados dois fenótipos que caracterizam esse fenômeno. O primeiro, denominado resistência natural ou intrínseca, é provavelmente proveniente de uma mutação no genoma bacteriano que ocorre produzindo CIMs não tão elevados, geralmente próximos dos seus pontos de corte (GIRARDELLO; GALES, 2012).

O segundo fenótipo é denominado mecanismo adaptativo, no qual a bactéria, inicialmente sensível, torna-se resistente após a exposição em crescentes concentrações de polimixinas. Este mecanismo pode gerar isolados com CIMs muito elevadas, podendo ser maior que $128 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Um fenótipo oriundo desse último mecanismo pode ser revertido na ausência da pressão seletiva estabelecida pela droga (GIRARDELLO; GALES, 2012).

O principal mecanismo de resistência natural e adquirida dos Gram-negativos às polimixinas envolve modificações da membrana externa lipopolissacarídica através de alterações no lipídeo A, que é porção do LPS mais próxima dessa membrana. Isso resulta na alteração da carga negativa da superfície da célula bacteriana e na redução da afinidade com a carga positiva do antibiótico, dificultando a interação entre o fármaco e a membrana externa da célula (RIGATTO, 2011). Essas modificações do LPS são mediadas por sistemas de regulação gênica, que podem ser ativadas por fatores ambientais como concentrações elevadas de Ca^{2+} e baixas de Mg^{2+} , alterações no pH e a presença de ferro (BARIN, 2013).

A regulação gênica do desenvolvimento de resistência às polimixinas abrange

um sistema de dois componentes (“*Two Component Systems*”), utilizados por diversas espécies bacterianas para regulação da expressão de diferentes fatores de resistência e também de virulência. Eles são constituídos por uma proteína sensor de histidina quinase que sofre autofosforilação ao perceber estímulos ambientais, acarretando na ativação de uma segunda proteína citoplasmática, por uma reação de transfosforilação. A segunda proteína, então, promove a ativação ou repressão dos genes alvo, desencadeando a resistência às polimixinas (GIRARDELLO; GALES, 2012).

Várias espécies bacterianas têm desenvolvido diversos mecanismos para a modificação do lipídio A. Estudos realizados com *Salmonella enterica* foram os primeiros a demonstrar o envolvimento de alterações no lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano e diminuição da atividade às polimixinas. Posteriormente, esse comportamento foi descrito também em outros isolados de *Salmonella typhimurium*, *Yersinia pestis* e *Escherichia coli* (GIRARDELLO; GALES, 2012). Essa alteração se dá por uma adição de 4-amino-4-desoxi-L-arabinose (LAra4N) na porção do lipídio A do LPS. A biossíntese de LAra4N é mediada por *PmrA/PmrB* (PmrAB) e *PhoP/PhoQ* (PhoPQ) que são dois componentes de sistemas de regulação. Em *S. typhimurium*, o gene *mig-14* também está envolvido com a resistência a polimixinas (BARIN, 2013).

Essas alterações de LPS também foram descritas em outras espécies, inclusive entre microrganismos não fermentadores como *P. aeruginosa*. Mutações nos sistemas de dois componentes *PhoPQ*, *PmrAB* ou *Parrs* resultam na expressão constitutiva do operon do LPS modificado (*arn*), que codifica proteínas necessárias para a adição de LAra4N na porção do lipídio A do LPS. Esta modificação limita a interação com as polimixinas e reduz a absorção do fármaco pela bactéria (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013).

Essas modificações são acionadas sob baixa concentração de Mg^{2+} e após a exposição à concentrações subinibitórias de certos peptídeos antimicrobianos. Este processo envolve vários sistemas de dois componentes, incluindo os mencionados acima (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013).

O sistema *PhoPQ* também é ativado por alterações de pH e alterações nas concentrações de Ca^{2+} . Em *P. aeruginosa* este sistema também induz a transcrição de uma porina *OprH*. As alterações no sistema *PmrAB* podem estar relacionadas com a resistência estável às polimixinas, devido a ativação constitutiva do sistema que resulta na modificação permanente do lipídio A (BARIN, 2013).

Em *A. baumannii* a adição de LAra4N ainda não foi descrita. Até o momento somente alterações no operon *pmrCAB* foram observadas. Estes genes compõem um sistema de dois componentes: regulador de resposta (*pmrA*) e sensor de histidina quinase (*pmrB*). Os genes *pmrA* e *pmrB* controlam a expressão do gene *pmrC* (BARIN, 2013). A resistência está associada com o aumento da expressão do gene

pmrC, responsável por codificar a proteína que adiciona fosfoetanolamina no lipídio A. Estudo em modelo animal mostrou que em *A. baumannii* com resistência a colistina por mutação do *pmrB*, apresenta também menor virulência, capacidade competitiva e de formação de colônias. Isso talvez explique a baixa incidência e disseminação de *A. baumannii* resistente a colistina (RIGATTO, 2011).

Entre isolados de *K. pneumoniae*, a resistência às polimixinas foi relacionada como aumento da produção de cápsula polissacarídica, o que diminui a interação da droga com a superfície celular (GIRARDELLO; GALES, 2012). Os sistemas envolvidos nessa mutação são o *PmrAB* e o *PmrPQ*, além das alterações no LPS. Na espécie *Vibrio cholerae*, a resistência à polimixina é dependente de uma porina *OmpU* da membrana externa (BARIN, 2013).

3.2 Prevalência

Um estudo realizado para a determinação de ribotipos de cepas produtoras de carbapenemases observou que 10% dos isolados apresentaram resistência *in vitro* à polimixina B (SCHENKEL, 2009). Na Índia, um estudo analisou cepas de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* obtidas de pacientes hospitalizados por um período superior a 48 horas, relatando resistência em 8% dos isolados para colistina e polimixina B (SHANTHI; SEKAR, 2009). Outra pesquisa avaliou a resistência à polimixina B isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de três hospitais de Porto Alegre, obtendo-se resistência em 3,3% dos isolados (HEINECK *et al.*, 2012).

Por fim, o programa de vigilância de resistência SENTRY durante o período 2006-2009 analisou isolados clínicos de *P. aeruginosa* e de *A. baumannii* de diversos sítios de infecção coletados em várias partes do mundo. Foi observada multirresistência em 3,3% das amostras de *P. aeruginosa* e 3,2% de *A. baumannii*. As taxas de resistência à polimixina B foram de 2,9% na região Asia-Pacífico e de 1,1% na Europa, America Latina e America do Norte para *P. aeruginosa*. Em *A. baumannii* a resistência foi de 2,7% na Europa, 1,7% na America do Norte e America Latina (GALES *et al.*, 2011).

3.3 Metodologias para Caracterização da Resistência

Vários são os métodos empregados atualmente para a determinação da resistência *in vitro* das polimixinas. Entretanto, os laboratórios de análises microbiológicas do Brasil não dispõem de um guia nacional de padronização de metodologias para a realização dessas análises. Desse modo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza a utilização das técnicas padronizadas descritas no manual do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), desenvolvido

desenvolvido nos Estados Unidos. Algumas técnicas também são importadas da Europa através do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

Um estudo comparou a eficiência de alguns testes de susceptibilidade *in vitro* às polimixinas, concluindo que, apesar de o método de difusão em disco ser amplamente empregado, mostrou-se pouco confiável por apresentar resultados imprecisos, como falsa-sensibilidade e valores errôneos de áreas de crescimento bacteriano. Por sua vez, os métodos baseados na CIM mostraram resultados mais eficientes e precisos. O método automatizado *VITEK 2*[®] (bioMérieux[®]) utilizado para teste de suscetibilidade foi considerado uma ferramenta confiável e de fácil manipulação em isolados (LO-TEM-FOE *et al.*, 2007).

Em resumo, para *Pseudomonas* spp., o manual do CLSI descreve o método da difusão em disco e as técnicas baseadas na CIM para caracterização da resistência. Já para *Acinetobacter* spp., apenas são descritas as metodologias de determinação da CIM. O CLSI não relata métodos para verificação de resistência em *Enterobacteriaceae* (CLSI, 2013). Entretanto, podem ser encontrados métodos baseados na CIM para essa família na literatura do EUCAST.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As polimixinas são antimicrobianos utilizados em âmbito hospitalar contra inúmeras bactérias Gram-negativas fermentadoras e não fermentadoras. Normalmente são a última escolha no tratamento de microrganismos multirresistentes.

Em meados da década de 70, vários estudos realizados com metodologias não padronizadas, classificaram as polimixinas como fármacos nefrotóxicos, resultando no abandono desses compostos químicos da terapêutica médica. Entretanto, o surgimento de bacilos Gram-negativos multirresistentes aos antimicrobianos usualmente empregados fizeram com que essa classe de medicamentos reemergisse nos últimos anos como terapia de resgate no tratamento às infecções microbianas, baseado em experiências empíricas e estudos de caso.

Embora não esteja bem eluciada, a resistência em polimixinas tornou-se uma realidade em hospitais brasileiros e a sua detecção laboratorial continua sendo um desafio, pois os métodos de investigação mais eficientes são onerosos e necessitam de mão de obra qualificada. Isso, por sua vez, resulta na inviabilização da aquisição dessas metodologias pela maioria dos laboratórios microbiológicos.

5. REFERÊNCIAS

BARIN, J. **Avaliação da heterorresistência e resistência adaptativa à**

5. REFERÊNCIAS

BARIN, J. **Avaliação da heterorresistência e resistência adaptativa à polimixina B em isolados de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos.** 2013. 67f. Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Porto Alegre.

CHAMBERS, H.F. Antimicrobianos (continuação): Inibidores da síntese protéica e antibacterianos diversos. In: GOODMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 10ª edição. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005. p. 945-946. cap. 47.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement.** CLSI document M100-S23. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.

ELIAS, L. da S. **Fatores de risco associados à mortalidade de pacientes tratados com polimixina B endovenosa.** 2010. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

FALAGAS, M. E.; RAFAILIDIS, P. I.; MATTHAIIOU, D. K. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options. **Drug. Resist. Updat.** Oxford, v.13, n.04, p.132-138, aug. 2010.

FERNÁNDEZ, L. *et al.* Characterization of the Polimyxin B Resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob. Agents Chemother.** Washington, v.57, n.01, p.110-119, jan. 2013.

GALES, A. C.; JONES, R. N.; SADER, H. S. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the *SENTRY* Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). **J. Antimicrob. Chemother.** Oxford, v.66, n.09, p. 2070-2074, sep. 2011.

GIRARDELLO, R.; GALES, A. C. Resistência às polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções terapêuticas. **Rev. Epidemiol. Control. Infect.** Santa Cruz do Sul, v.2, n.2, p.66-69. mai. 2012.

HEINECK, B. L. *et al.* Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos em isolados de

cinetobacter spp. Em três hospitais de Porto Alegre: foco em resistência a carbapenêmicos e polimixina B. In: Salão de Iniciação Científica, 24., 2012, Porto Alegre. **Anais eletrônicos...**Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2012. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/63728/Poster_23625.pdf?sequence=2>. Acessado em: 15 mai 2013.

KVITKO, C. H. C. **Eficácia da polimixina B no tratamento de bacteremias por *Pseudomonas aeruginosa***. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

KWA, A. L. *et al.* Pharmacokinetics of polymyxin B1 in patients with multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** Oxford, v.60, p.163-7. 2008.

LO-TEN-FOE, J. R. *et al.* 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.** Washington, v.51, n.10, p. 3726-30. oct. 2007.

MENDES, C. A. C.; BURDMANN, E. A. Polimixinas: revisão com ênfase na nefrotoxicidade. **Rev. Assoc. Med. Bras.** São Paulo, v.55, n.6, p. 752-759, jul. 2009.

MOSTARDEIRO, M. M. **Uso de polimixina em pacientes submetidos a transplante: Avaliação de eficácia e nefrotoxicidade**. 2009. 53 f. Tese (Mestrado em Ciências Médicas) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo.

NEIVA, L. B. de M. *et al.* Polimixina B: efeito dose e tempo dependente na nefrotoxicidade *in vitro*. **Acta Paul. Enferm.** São Paulo, v.26, n.1, p.57-62. fev. 2013.

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Polymyxin B and colistimethate are comparable as to efficacy and renal toxicity. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** Oxford, v. 65, n. 4, p. 431-434, dez. 2009.

RIGATTO, M. H. da S. P. **Polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento da pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii***. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade

Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

SCHENKEL, T. S. ***Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC): uma nova ameaça em resistência bacteriana.** 2009. 33 f. Tese (Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Instituto de Ciências da Saúde, Centro Universitário Feevale. Novo Hamburgo.

SHANTHI, M.; SEKAR, U. Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Infections among Hospitalized Patients: Risk Factors and Outcomes. **J Assoc Physicians.** Chennai, v.57, n.636, p. 638-40, sep. 2009.

ZAVASCKI, A. P. *et al.* Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.** London, v.8, n.1, p.71-93. jan.2010.