

Ana Bela Sousa Freitas

# O Farmacêutico Hospitalar e a Monitorização Sérica e Farmacocinética da Gentamicina: dos requisitos à otimização e individualização da terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Junho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Bela Sousa Freitas

# O Farmacêutico Hospitalar e a Monitorização Sérica e Farmacocinética da Gentamicina: dos requisitos à otimização e individualização da terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Junho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

*Eu, Ana Bela Sousa Freitas, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010149161, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular. Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer informação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.*

*Coimbra, 23 de Junho de 2015.*

*A aluna*

---

*(Ana Bela Sousa Freitas)*

## **Monografia**

O Farmacêutico Hospitalar e a Monitorização Sérica e Farmacocinética da Gentamicina: dos requisitos à otimização e individualização da terapêutica

A orientadora da Monografia

---

(Professora Doutora Ana Cristina Bairrada Fortuna)

A aluna

---

(Ana Bela Sousa Freitas)

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Fortuna, pela dedicação, pela disponibilidade e pelo apoio incansável.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aos seus funcionários e docentes, mestres na arte de transmitir saberes e valores.

Aos meus colegas e às minhas amigas, pelo companheirismo e pelo espírito de entreaajuda.

À minha família e ao meu namorado, por serem sempre o meu pilar. Pelo ânimo e força que me transmitem, por serem a razão de eu ter conseguido chegar até aqui.

A todos quantos me acompanharam e motivaram ao longo destes cinco anos.

Muito Obrigada!

## RESUMO

A monitorização da terapêutica medicamentosa (TDM, do inglês *Therapeutic Drug Monitoring*) conjuga três componentes fundamentais: a avaliação das concentrações séricas de fármacos, a análise de parâmetros farmacocinéticos (PK) e farmacodinâmicos (PD) e a interpretação clínica dos resultados, com base na análise fisiopatológica do doente em causa. Esta prática visa, sobretudo, a individualização da farmacoterapia, atendendo às especificidades de cada doente e de cada fármaco, garantindo que é o doente em si que está a ser tratado e não apenas o resultado laboratorial.

Divide-se, genericamente, em três etapas fundamentais: fase pré-analítica na qual o médico realiza conscienciosamente a requisição de monitorização do fármaco, após interpretação da situação clínica e do fármaco em causa, podendo até ser esta requisição sugerida pelo farmacêutico; fase analítica na qual se procede à colheita e análise laboratorial da amostra plasmática, em intervalos de tempo pré-definidos, com particular ênfase na determinação da concentração do fármaco; e a fase de interpretação farmacocinética, tendo em conta os dados clínicos do doente para que haja uma intervenção favorável na decisão clínica. O contributo do farmacêutico hospitalar, nestas diferentes etapas, afigura-se essencial para a obtenção de resultados aplicáveis e, conseqüentemente, para o aumento da sobrevivência do doente.

No sentido de rentabilizar recursos, a TDM aplica-se a fármacos cuja concentração plasmática se relaciona com os efeitos farmacológicos (terapêuticos e/ou laterais) e que são dotados de características que dificultam grandemente a uniformização da posologia.

Esta monografia centra-se na descrição da monitorização da terapêutica medicamentosa, desde os requisitos básicos até à sua concretização na prática clínica, no caso particular da gentamicina, passando por todas as etapas necessárias e enfatizando o papel do farmacêutico hospitalar para o sucesso desta metodologia. A gentamicina é um antibiótico largamente utilizado no tratamento de infeções bacterianas severas, particularmente em unidades de cuidados intensivos. Pela margem terapêutica estreita que apresenta, pelo seu potencial oto e nefrotóxico e pelas resistências adquiridas pelos principais microrganismos responsáveis pelas infeções nosocomiais, a TDM afigura-se uma prática singular para o sucesso desta terapêutica.

**Palavras-chave:** Monitorização da terapêutica medicamentosa; farmacocinética; farmacodinâmica; individualização da terapêutica; farmacêutico hospitalar; gentamicina.

## ABSTRACT

Therapeutic Drug Monitoring (TDM) assembles three fundamental components: the assessment of drug's concentrations in serum, the analysis of pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) profiles and the clinical interpretation of the results, based on the pathophysiological conditions of the patient. This practice is aimed mainly at the individualization of pharmacotherapy, meeting the specific needs of each patient and each drug, ensuring that the focus is the patient and not only laboratory results.

Generally, TDM includes three main stages: the pre-analytical phase in which the physician conscientiously performs the request, taking into account the clinical situation and the drug in question, and this request may even be suggested by the hospital pharmacist; the analytical phase in which plasma (or serum) samples are collected at predefined times post-dosing and subsequently analyzed to determine drug's concentration; and, finally, the phase of pharmacokinetics interpretation, taking into account the clinical data of the patient so that there is a favorable clinical intervention in decision. The contribution of the hospital pharmacist, in different stages, is essential to achieve relevant results and increase the patient survival.

In order to capitalize resources, TDM is employed to drugs with narrow therapeutic range, displaying a well-known relationship between drug plasma concentrations and pharmacological effects (therapeutic and/or lateral) and that exhibit characteristics that greatly difficult the application of the same dosage regimen, independently of the patient.

This work focuses on the description of TDM from the basic requirements to their implementation in clinical practice, particularizing the gentamicin case, describing all the required steps and emphasizing the role of the hospital pharmacist for the success of the therapeutic monitoring of gentamicin. Gentamicin is an antibiotic widely used to treat severe bacterial infections particularly in intensive care units. Given its narrow therapeutic index, its ototoxic and nephrotoxic potential and the development of resistance mechanism by the main microorganisms responsible for nosocomial infections, the TDM is currently a singular practice for the success of this therapy.

**Keywords:** Therapeutic Drug Monitoring; pharmacokinetics; pharmacodynamics; individualization of therapy; hospital pharmacist; gentamicin.

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AMG** – Aminoglicosídeos

**AUC** – Area under the plasma concentration versus time curve (área sob a curva)

**CMI** – Concentração Mínima Inibitória

**C<sub>máx</sub>** – Concentração Máxima

**C<sub>min</sub>** – Concentração Mínima

**EDTA** – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

**IC** – Insuficiência Cardíaca

**IH** – Insuficiência Hepática

**IM** – Intramuscular

**IR** – Insuficiência Renal

**IV** – Intravenosa

**K<sub>el</sub>** – Constante de eliminação

**PD** – Farmacodinâmica

**PK** – Farmacocinética

**TDM** – *Therapeutic Drug Monitoring* (Monitorização terapêutica de fármacos)

**TFG** – Taxa de Filtração Glomerular

**t<sub>1/2</sub>** – Tempo de semi-vida

**V<sub>d</sub>** – Volume de Distribuição



## ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. MONITORIZAÇÃO DE FÁRMACOS NA PRÁTICA CLÍNICA.....	9
3. A GENTAMICINA E A SUA MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA .....	11
3.1. Mecanismo de ação.....	12
3.2. Desenvolvimento de resistência à gentamicina .....	13
3.3. Toxicidade .....	15
3.4. Propriedades farmacocinéticas e posologia.....	16
4. PROCEDIMENTO E METODOLOGIA DA MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA GENTAMICINA.....	18
4.1. Fase pré-analítica .....	19
4.1.1. Efetivação do pedido .....	19
4.1.2. Plano de recolha das amostras .....	19
4.1.3. Preparação das amostras .....	22
4.2. Fase analítica.....	23
4.3. Fase pós-analítica.....	24
4.3.1. Determinação de parâmetros farmacocinéticos.....	25
4.3.2. Interpretação dos resultados .....	26
5. CONCLUSÃO .....	28
6. BIBLIOGRAFIA .....	29
7. ANEXOS .....	32

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Propriedades farmacocinéticas da gentamicina.....	17
<b>Tabela 2</b> - Seleção dos doentes candidatos à TDM da gentamicina e respetivos tempos de colheita da amostra .....	21
<b>Tabela 3</b> - Tempos de colheita da amostra para a TDM da gentamicina e margens terapêuticas desejadas para os dois esquemas posológicos possíveis.....	22
<b>Tabela 4</b> - Equações para determinação da $K_{el}$ , $t_{1/2}$ e $V_d$ .....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura molecular da gentamicina.....	11
---	----

## I. INTRODUÇÃO

A conjuntura económica atual, que reúne esforços no sentido de reduzir ao máximo os gastos hospitalares, e o uso cada vez mais pronunciado de fármacos potentes, determinam a implementação de medidas custo-efetivas que auxiliem o uso racional dos medicamentos. Torna-se capital a adoção de estratégias que permitam otimizar as terapêuticas. Uma diminuição do tempo necessário para a obtenção dos efeitos terapêuticos desejados bem como da frequência e gravidade dos efeitos adversos, aliadas à simplificação dos regimes farmacoterapêuticos, por redução da frequência e/ou do número de tomas, estão na base de uma melhoria na adesão à terapêutica e, conseqüentemente, do aumento da sobrevida do doente, associada ao mínimo custo possível.

A monitorização da terapêutica medicamentosa (TDM, do inglês *therapeutic drug monitoring*) é uma prática clínica que conjuga os princípios da farmacocinética (PK) e da farmacodinâmica (PD) na medição da concentração de um fármaco no plasma (mais comum), no soro ou no sague venoso, em intervalos de tempo pré-definidos <sup>[1,2]</sup>.

Esta ciência teve origem nos anos 60, com a publicação dos primeiros estudos de PK associados a teorias matemáticas para a definição dos resultados e conseqüências da terapêutica instituída. Deste então, a farmacocinética clínica foi ganhando relevo até que, nos anos 70 surgiu a designada TDM, quando se verificou que a administração de fenitoína a doentes epiléticos, baseada no ajuste posológico com base na concentração plasmática do fármaco, proporcionava um maior controlo das crises e menores efeitos adversos em relação à terapêutica *standard* baseada apenas no peso corporal do indivíduo <sup>[3,4]</sup>. Assim, as unidades hospitalares de farmacocinética clínica ganharam relevo, proporcionando uma nova projeção para o farmacêutico hospitalar na medida em que determinaram uma evolução significativa da profissão, que se distanciou da prática tradicional com foco apenas no medicamento para uma abordagem na qual o doente se constitui como a principal preocupação.

Levada a cabo por uma equipa multidisciplinar, da qual se destaca o farmacêutico hospitalar como um elemento interventivo em várias etapas, a TDM tem como principal objetivo a individualização da terapêutica medicamentosa, com manutenção das concentrações séricas dentro da margem terapêutica adequada para a obtenção da resposta clínica desejada (máxima eficácia terapêutica) e minimização dos efeitos adversos. Para tal, é necessário conjugar a avaliação da concentração sérica do fármaco com informação clínica relevante do doente.

Com esta monografia pretendo investigar e descrever a logística associada à concretização do processo de monitorização terapêutica da gentamicina, desde os pré-requisitos, passando pelas diversas etapas e culminado na otimização da terapêutica num determinado doente, conseguida graças à perfeita articulação de todos os passos, ressaltando o papel do farmacêutico hospitalar para elevar esta prática ao seu expoente máximo. As particularidades da gentamicina serão simultaneamente salientadas uma vez que determinam a monitorização terapêutica deste fármaco, com base nas concentrações séricas de cada indivíduo.

## 2. MONITORIZAÇÃO DE FÁRMACOS NA PRÁTICA CLÍNICA

Vários estudos têm sido realizados com o propósito de demonstrar o valor clínico da TDM sendo que, na maior parte dos mesmos esse objetivo foi alcançado, sobretudo nos que se referem aos antibióticos aminoglicosídeos (AMG), onde se inclui a gentamicina <sup>[5]</sup>. Por exemplo, num estudo multicêntrico realizado em 232 doentes hospitalizados com o objetivo de investigar a relevância clínica da TDM dos AMG, compararam-se duas estratégias de administração: a *standard*, na qual a dose inicial foi estabelecida empiricamente pelo médico e só se recorria à TDM sob pedido, e a TDM ativa, na qual esta metodologia foi utilizada para definir a dose logo no início do tratamento <sup>[6]</sup>. A última estratégia revelou proporcionar um período de hospitalização inferior e diminuição da nefrotoxicidade desenvolvida pelos doentes.

Na atualidade, a monitorização de determinados fármacos na prática clínica constitui, indubitavelmente, uma ferramenta chave para o sucesso de algumas terapêuticas, da qual muitos hospitais já não prescindem. A média de hospitais que realizam TDM na Europa é de 25%, segundo a Associação Europeia de Farmacêuticos Hospitalares, e em Portugal cerca de 35,7% dos hospitais realizam TDM, estando estas realidades muito distantes do que acontece nos Estados Unidos da América, onde 95% dos hospitais o fazem <sup>[7,8]</sup>.

A realização da TDM pressupõe a coexistência de determinados critérios, sem os quais a efetividade da monitorização não seria adequada nem exequível <sup>[1,2,3,9]</sup>:

- Assunção de que existe uma relação entre a concentração plasmática do fármaco e a resposta farmacológica (terapêutica e tóxica);
- Dificuldade em obter evidência clínica acerca dos efeitos terapêuticos e/ou tóxicos com base na relação dose-resposta;
- Conhecimento da margem terapêutica do fármaco, a qual representa um intervalo de valores para os quais a probabilidade de se obter a resposta terapêutica desejada

é relativamente alta e a probabilidade de se verificar toxicidade é relativamente baixa. Uma margem terapêutica estreita constitui um critério de inclusão do fármaco;

- Existência de variabilidade inter e/ou intra-individual nos parâmetros PK de absorção, distribuição e eliminação, influenciada por fatores fisiopatológicos, genéticos e ambientais;
- Inexistência de um metabolito ativo do fármaco, pela influência que poderá exercer nos resultados;
- Existência de um laboratório que disponha de métodos analíticos adequados, proporcionando a obtenção de resultados fiáveis (precisos, exatos, específicos e sensíveis) e aplicáveis (rapidez e praticabilidade clínica);
- Existência e exequibilidade de metodologias farmacocinéticas para determinar os parâmetros PK e definir as doses e regimes posológicos individualizados.

Por outro lado, a TDM baseada na monitorização sérica dos fármacos, não está indicada para fármacos de ampla margem terapêutica (ex: penicilinas), que modifiquem parâmetros biológicos passíveis de serem monitorizados (ex: tensão arterial, glicémia, coagulação sanguínea) ou com efeitos farmacológicos facilmente identificáveis (ex: efeito analgésico), uma vez que a sua realização não acrescenta informação relevante para a decisão clínica, representando um consumo de recursos desnecessário. Deste modo, podem citar-se alguns fármacos e classes farmacoterapêuticas que, por reunirem um ou mais dos requisitos supramencionados são candidatos à TDM: antibióticos AMG (amicacina, gentamicina, neomicina, netilmicina, tobramicina) e glicopeptídeos (vancomicina); antiepiléticos (ácido valpróico, carbamazepina, fenobarbital, fenitoína); imunossuppressores (ciclosporina, ácido micofenólico, tacrolímus, sirolímus); lítio; teofilina; digoxina. Cabe ao médico e ao farmacêutico conseguir identificar, *a priori*, quais os fármacos e os doentes que devem ser monitorizados.

O cumprimento fiel de todas as etapas, desde a fase pré-analítica até à interpretação final dos resultados, é fundamental e necessário para alcançar os objetivos da TDM, contudo não é suficiente. Para que se verifiquem efeitos práticos é necessário que as propostas efetuadas sejam aceites e, para tal, tem de haver uma relação de confiança entre o médico e a equipa responsável por este trabalho. A intervenção do farmacêutico hospitalar, na articulação das várias etapas da monitorização e no estabelecimento de uma relação estreita com os médicos e outros profissionais de saúde (enfermeiros e técnicos de laboratório), afigura-se

imprescindível para que os resultados obtidos sejam aplicáveis e possam ser usados da melhor forma para a otimização da farmacoterapia.

### 3. A GENTAMICINA E A SUA MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA

Apesar dos avanços verificados na medicina moderna, a elevada taxa de mortalidade associada a infeções graves permanece um problema global. Em 1963, Weinstein e seus colaboradores isolaram um dos antibióticos mais importantes da classe dos AMG, com atividade significativa contra a *Pseudomonas aeruginosa*, a gentamicina <sup>[10]</sup>.

Estruturalmente, os AMG são constituídos por dois ou mais aminoaçúcares que variam dentro de cada família, unidos por uma ligação glicosídica ao núcleo hexose ou aminociclitol <sup>[10]</sup>. No caso da gentamicina esta hexose corresponde à 2 – desoxiestreptamina (Figura 1). Graças às suas propriedades policatiónicas, a gentamicina, é bastante solúvel em água e, uma vez dotada de características básicas, forma sais na presença de ácidos <sup>[6]</sup>.

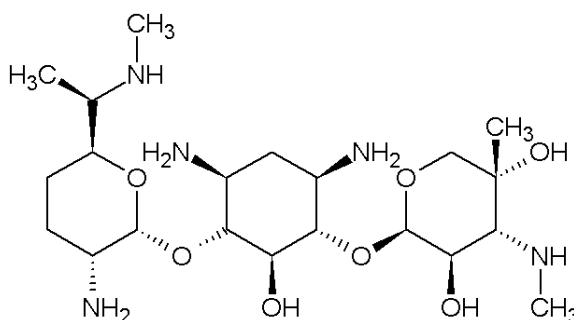


Figura 1 - Estrutura molecular da gentamicina.

A gentamicina é largamente utilizada nos cuidados intensivos hospitalares para o tratamento de infeções graves (sépsis, infeções respiratórias, endocardites e infeções urinárias) por microrganismos aeróbios gram negativos dos quais se destacam a *Pseudomonas*, o *Acinetobacter* e a *Escherichia coli* <sup>[11]</sup>. Alguns cocos e bacilos gram positivos aeróbios são também sensíveis, como por exemplo os *Staphylococcus* e *Enterococcus*, quando a gentamicina se associa a um inibidor da síntese da parede bacteriana (por exemplo os antibióticos β-lactâmicos), como resultado de um efeito sinérgico entre ambos. A associação destes dois grupos de antimicrobianos deve ser feita com precaução, uma vez que se inativam mutuamente *in vivo* por interação da gentamicina com o anel β – lactâmico <sup>[10,11]</sup>. O espetro de ação da gentamicina encontra-se sumariado no Anexo I.

Uma fração significativa da falha da terapêutica antimicrobiana em doentes com infeções severas deve-se à incorreta utilização destes fármacos na população em geral, o que

ditou o desenvolvimento de protocolos que visam a racionalização da antibioterapia. Segundo o relatório “Portugal – Prevenção e Controlo de Infeções e Resistências aos Antimicrobianos em Números 2014”, o nosso país ocupa o nono lugar em 30 países europeus com maior consumo de antibióticos e apresenta das mais elevadas taxas de resistência antimicrobiana pelos principais microrganismos causadores de infeções em meio hospitalar, de onde se destaca o *Staphylococcus aureus* <sup>[12]</sup>. Existem evidências de um elevado número de exposições a doses subterapêuticas de vários antibióticos, incluindo a gentamicina, o que tem conduzido ao aparecimento de inúmeras resistências <sup>[5]</sup>. Tomemos como exemplo o que se verifica com a *E. coli*, considerada o agente etiológico mais comuns das infeções do trato urinário, que tem vindo a adquirir um largo espectro de resistência à gentamicina e aos restantes AMG <sup>[13]</sup>. Segundo um estudo realizado num hospital iraniano, a resistência deste microrganismo à gentamicina é de 21%, determinada pelo método de difusão em disco, e a concentração mínima inibitória (CMI), ou seja, a concentração mínima de antibiótico necessária para inibir o crescimento bacteriano do microrganismo em causa, determinada pelo método da diluição em Agar, foi de 66,19%, a mais alta registada de entre todos os AMG testados <sup>[13]</sup>. Deste modo, a administração do antibiótico correto, no tempo adequado e na dose certa apresentam-se como fatores decisivos para o sucesso da terapêutica.

### 3.1. Mecanismo de ação

O efeito bactericida da gentamicina resulta da sua ligação irreversível à subunidade ribossomal 30s, bloqueando a leitura do mRNA na fase inicial da síntese proteica, provocando, possivelmente, a destabilização da parede bacteriana <sup>[10]</sup>. Este efeito é concentração-dependente, ou seja, a eficácia da terapêutica é determinada pela concentração máxima ( $C_{máx}$ ) de fármaco, que corresponde à concentração máxima atingida na corrente sanguínea após a administração de uma dose de fármaco, sendo, por isso, recomendada a administração de doses mais elevadas em intervalos de tempo mais prolongados <sup>[14]</sup>. A entrada através da membrana externa da bactéria ocorre pela passagem através de porinas, recorrendo ao transporte de eletrões para transpor a membrana citoplasmática. A atividade bactericida da gentamicina diminui (com conseqüente aumento da CMI) na presença de catiões divalentes (ex:  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) e em situações que levem a uma diminuição do potencial elétrico da membrana bacteriana dificultando a sua penetração (ex.: meio ácido, ambiente hiperosmolar e anaerobiose) <sup>[14]</sup>. Por outro lado, a gentamicina apresenta um efeito pós-antibiótico que pode ir de 30 minutos até 7h pós administração, dependendo da concentração e do tempo de

exposição <sup>[10,14]</sup>. Estudos *in vitro* demonstram que o efeito pós-antibiótico máximo ocorre quando existe uma exposição do microrganismo a níveis de antibiótico 5-10 vezes superiores ao da sua CMI, durante um período de tempo de aproximadamente 2h <sup>[10]</sup>. Desta forma,  $C_{\text{máx}}$  elevadas são determinantes nas duas primeiras horas pós-administração, podendo depois a concentração sérica ser inferior à CMI que, face ao efeito pós-antibiótico apresentado pela gentamicina, a sua ação bactericida continua a ocorrer, daí se recomendar a administração de doses mais elevadas em intervalos de tempo mais prolongados <sup>[14]</sup>.

Os parâmetros PK/PD desejados para as situações em que se recorre à antibioterapia estão relacionados com a CMI do microrganismo em causa. Deste modo, a determinação atempada da CMI constitui um ponto importante para a TDM da gentamicina, principalmente quando estamos a lidar com microrganismos resistentes.

Os antibióticos são classificados de acordo com diferentes índices PK/PD, que permitem descrever a sua eficácia. Estes índices incluem: (1) os tempo-dependentes cujas eficácias são relatadas de acordo com o tempo no qual a concentração de antimicrobiano livre se mantém acima da CMI; (2) os concentração-dependentes cuja eficácia está relacionada com o rácio entre a  $C_{\text{máx}}$  atingida durante um intervalo posológico e a CMI ( $C_{\text{máx}}/CMI$ ); (3) os concentração e tempo dependentes cuja eficácia está relacionada com o rácio entre a área sobre a curva (AUC) do gráfico concentração *versus* tempo (0-24h), correspondente à fração não ligada de fármaco, e a CMI ( $AUC_{0-24}/CMI$ ) <sup>[6]</sup>. Assim, a gentamicina pode ser classificada de acordo com dois destes indicadores de eficácia:  $C_{\text{máx}}/CMI$ , quase exclusivamente relacionado com o volume de distribuição ( $V_d$ ) e  $AUC_{0-24}/CMI$ , relacionado com o  $V_d$  mas também com a *clearance*, teoricamente importante, pois uma *clearance* aumentada poderá reduzir substancialmente a AUC, mas a  $C_{\text{máx}}$  manter-se inalterada <sup>[15]</sup>.

O rácio  $AUC_{0-24}/CMI$  esperado para a gentamicina varia entre 80 e 100 e o rácio  $C_{\text{máx}}/CMI$  varia entre 8 e 10, sendo que, à medida que diminui a suscetibilidade bacteriana (aumento da CMI), a  $C_{\text{máx}}$  necessária para alcançar um rácio PK/PD ideal aumenta proporcionalmente <sup>[6]</sup>. Estas características corroboram que o conceito de administrar doses elevadas, segundo um regime de administração única diária, é favorável para prevenir a seleção de subpopulações resistentes.

### 3.2. Desenvolvimento de resistência à gentamicina

Dos mecanismos de resistência à gentamicina importam citar: a presença de enzimas (acetil, adenil e fosfotransferases) no espaço periplasmático ou na membrana plasmática da

bactéria que modificam a estrutura do fármaco, impossibilitando a sua ligação ao ribossoma <sup>[14]</sup> e a diminuição da concentração intracelular de antibiótico pela existência de bombas de efluxo na membrana citoplasmática, que parecem ser sobre-expressas após contacto prolongado com concentrações baixas de gentamicina, e pela redução da permeabilidade da membrana externa. Destes dois mecanismos, o primeiro é o mais importante por ser aquele que confere um maior grau de resistência, sendo que quanto maior for a concentração da enzima maior será a taxa de resistência <sup>[14]</sup>.

Certas bactérias apresentam resistência após uma exposição inicial à gentamicina, podendo resistir a uma segunda dose de fármaco. Trata-se de uma resistência concentração e pH-dependente (maior a pH alcalino), conhecida como “resistência adaptativa” com uma duração aproximadamente de 5h <sup>[16]</sup>.

De modo a evidenciar a problemática inerente às resistências adquiridas à gentamicina, que corrobora a importância da monitorização sérica deste antibiótico, podem citar-se alguns exemplos de estudos realizados recentemente nos quais se evidenciaram as taxas de resistência a este AMG pelos principais microrganismos causadores de infeções graves. Em 2011 as taxas de resistência à gentamicina por parte da *E. coli*, *Klebsiella* e *Enterobacter* foram, respetivamente, 8,6%, 10,9% e 15,6%, segundo “Australian Group on Antimicrobial Resistance” <sup>[17]</sup>. Um estudo realizado na Turquia entre 2008 e 2011, revelou que o *Acinetobacter baumannii*, um dos principais agentes responsáveis por infeções nosocomiais oportunistas que afeta frequentemente o trato urinário e as vias respiratórias, desencadeando pneumonias severas, apresentou uma taxa de resistência à gentamicina de 96% (2008) e 87% (2011) <sup>[18]</sup>.

O *S.aureus* e a *P.aeruginosa* são os principais agentes causadores de infeções severas em indivíduos com fibrose quística <sup>[15]</sup>. Estes doentes apresentam, normalmente, uma *clearance* mais rápida e um maior  $V_d$ , o que por si só dita a necessidade de monitorização da terapêutica antimicrobiana. Entre 2001 e 2011 foi realizado um estudo com o objetivo de avaliar as alterações no perfil de resistência dos principais microrganismos responsáveis pelas infeções em doentes com fibrose quística. Esse estudo concluiu que a resistência do *S.aureus* à gentamicina diminuiu (41,8% em 2001 e 21% em 2011), ao passo que a resistência da *P.aeruginosa* aumentou no mesmo período de tempo <sup>[19]</sup>. No que respeita aos casos de sépsis, um estudo recente feito em crianças, no Irão, revela que as taxas de resistência à gentamicina da *Pseudomonas* e do *Acinetobacter*, são de 30% e 11,5%, respetivamente <sup>[20]</sup>.



Torna-se assim evidente a premente necessidade da monitorização sérica da gentamicina de forma a evitar concentrações subterapêuticas que apenas contribuam para o desenvolvimento de resistências bacterianas.

### 3.3. Toxicidade

A gentamicina, tal como todos os AMG, é caracterizada por possuir uma margem terapêutica estreita e um perfil típico de efeitos adversos, que inclui a ototoxicidade (coclear e vestibular) e nefrotoxicidade, os quais surgem maioritariamente em terapêuticas prolongadas ou com a administração de doses elevadas.

A nefrotoxicidade adjacente à terapêutica verifica-se em cerca de 5 a 10% dos doentes e explica-se pelo facto da gentamicina se acumular nos lisossomas das células tubulares proximais que, ao lisarem, libertam enzimas que provocam necrose tubular, com vasoconstrição local e diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) <sup>[21]</sup>. O quadro clínico resultante é uma insuficiência renal (IR) aguda que poderá progredir, com a continuidade da terapêutica, até uma situação de oligúria ou anúria, embora muito raramente. Pode ser confundida, clinicamente, com uma IR causada por uma infeção severa generalizada, sendo a TDM útil para a distinção destas duas realidades <sup>[3]</sup>. Trata-se de um efeito reversível pois, ao contrário das células cocleares, as células tubulares renais têm capacidade de regeneração. O intervalo de tempo que a molécula permanece na urina parece ser o fator com maior ponderação para o grau de acumulação e não propriamente a concentração urinária. O aumento da concentração plasmática de creatinina ou a diminuição da sua *clearance* e a presença de enzimas lisossómicas na urina constituem evidências de toxicidade renal. Parece haver uma relação entre a variação circadiana e a TFG, assim, está provado que a administração de gentamicina entre as 24h e as 7h é mais propícia ao desenvolvimento de nefrotoxicidade do que a qualquer outra hora do dia <sup>[14,15]</sup>. O uso simultâneo de anti-inflamatórios não esteroides, diuréticos, cisplatina, ciclosporina e vancomicina poderá potenciar este efeito. Por forma a evitar o aparecimento de nefrotoxicidade, recomendam-se administrações com intervalos alargados (idealmente uma administração única diária) preferencialmente no início da tarde e durante o menor período de tempo clinicamente viável <sup>[15, 16]</sup>.

A toxicidade coclear, precedida muitas vezes de zumbidos, desenvolve-se fundamentalmente em duas fases: uma inicial reversível, em que diminui a audição para as frequências altas que, com a continuidade da terapêutica, evolui para uma fase caracterizada por danos irreversíveis mais graves que afetam a audição ao nível da frequência da fala <sup>[21]</sup>. Ao

nível do aparelho auditivo, a gentamicina é ainda capaz de danificar o aparelho vestibular causando sintomas como náuseas, vômitos e vertigens. Ao contrário da nefrotoxicidade, a ototoxicidade é, na maioria dos casos, subclínica e praticamente não existe forma de monitorização antes do despoletar dos sintomas <sup>[15]</sup>. A coadministração de furosemida pode agravar este efeito <sup>[14]</sup> e, pelo contrário, a administração concomitante de melatonina parece ter um efeito protetor na prevenção da ototoxicidade <sup>[22]</sup>.

Excecionalmente, com maior risco para os doentes com hipocalcémia, hipomagnesiémia ou com terapêuticas concomitantes de anestésicos ou relaxantes musculares, pela potenciação dos seus efeitos, pode ocorrer bloqueio neuromuscular <sup>[14,15]</sup>. Isto ocorre devido à interrupção da libertação de acetilcolina na fenda pré-sináptica, por interferência na absorção do cálcio <sup>[23]</sup>. Uma paralisia secundária poderá ser revertida com a administração intravenosa (IV) de gluconato de cálcio <sup>[14]</sup>. Por forma a evitar este efeito administrações rápidas de doses elevadas por via IV e intraperitoneal devem, sempre que possível, ser evitadas <sup>[15,16]</sup>.

### 3.4. Propriedades farmacocinéticas e posologia

Devido à elevada polaridade e peso molecular, a gentamicina não é bem absorvida por via oral, sendo as vias intramuscular (IM) e IV as de eleição para a obtenção de um efeito sistémico <sup>[10,23]</sup>.

Graças às suas propriedades hidrofílicas, a gentamicina apresenta um pequeno  $V_d$ , estando confinada, sobretudo, ao espaço extracelular <sup>[15]</sup>. Este antibiótico distribui-se rapidamente para o fluído extracelular e para os tecidos mais irrigados (rins, fígado e pulmões), sendo o seu grau de penetração razoável com exceção do sistema nervoso central e do humor vítreo, nos quais é significativamente mais baixo <sup>[10]</sup>. A gentamicina é ainda capaz de atravessar a placenta e atingir o feto. O  $V_d$  está aumentado e a  $C_{máx}$  diminuída em doentes com sépsis, queimaduras graves, febre, insuficiência cardíaca congestiva, peritonite, nutrição parentérica e no período imediatamente posterior ao parto <sup>[15,16]</sup>. De facto, um dos fatores que justifica uma atenção redobrada nos doentes com infeções graves é a alteração hemodinâmica que apresentam e que é responsável pela modificação dos parâmetros PK dos fármacos administrados, nomeadamente do  $V_d$  e da *clearance*, o que poderá conduzir a doses sub-terapêuticas ou toxicidade quando os antibióticos são usados em doses *standard* <sup>[5]</sup>. A hipoalbuminémia, presente em muitos destes doentes, conduz a um aumento da fração de fármaco livre com perigo de toxicidade e o extravasamento capilar pode aumentar

substancialmente o  $V_d$  de moléculas hidrofílicas, como é o caso da gentamicina [6]. A hipoperfusão renal, como resultado da falha de múltiplos órgãos, conduz a uma diminuição da *clearance* da gentamicina com conseqüente toxicidade. O contrário também está descrito, poderá haver aumento da capacidade funcional dos rins e da eliminação dos fármacos, conduzindo a concentrações subterapêuticas [5].

A gentamicina não sofre biotransformação hepática [23], sendo a sua eliminação maioritariamente renal por filtração glomerular na forma não modificada, a qual está substancialmente diminuída quando a função renal está afetada, por exemplo nos insuficientes renais, nos recém-nascidos e nos idosos. Por outro lado, a *clearance* está aumentada nas crianças, nas grávidas e em doentes com fibrose quística [15].

O tempo de semi-vida ( $t_{1/2}$ ) da gentamicina - definido como o tempo necessário para que a sua concentração plasmática se reduza para metade - é curto e a ligação às proteínas plasmáticas é negligenciável. Na tabela I, apresentam-se as características farmacocinéticas da gentamicina em indivíduos saudáveis.

**Tabela I** - Propriedades farmacocinéticas da gentamicina [15,16].

	<b>Excreção urinária na forma não modificada</b>	<b>Tempo de semi-vida (horas)</b>	<b>Ligação às proteínas plasmáticas</b>	<b>Volume de distribuição (L/Kg)</b>
<b>Gentamicina</b>	95%	2,5 (normal) – 48 (IR)	<5%	0,22 – 0,3

Posto isto, pode-se enumerar um conjunto de condições que podem originar variabilidade no perfil PK da gentamicina, após administração da mesma dose em diferentes indivíduos, levando a que a resposta obtida possa ser extremamente heterogénea, sendo possível a obtenção de efeitos terapêuticos, ineficácia e/ou toxicidade. Atendendo às condições debilitantes da maioria dos doentes que são tratados com gentamicina, qualquer erro na dose poderá ser fatal, dada a pequena diferença entre a concentração mínima efetiva e a concentração mínima tóxica deste antibiótico. Assim sendo, os principais fatores responsáveis pela referida variabilidade inter-individual estão relacionados com o doente: idade, peso, género, raça, herança genética (por exemplo nas enzimas metabólicas e transportadores envolvidos na excreção renal). A variabilidade intra-individual está associada a condições fisiopatológicas, particularmente falências orgânicas [IR, insuficiência cardíaca (IC), insuficiência hepática (IH)], infeções agudas graves, obesidade, equilíbrio hiroeletrolítico, hemodiálise e interações farmacológicas [3,10].

Em termos posológicos, a gentamicina pode ser administrada de acordo com um **esquema convencional**, no qual a dose total diária é fracionada em 2 ou 3 administrações ou segundo um **esquema alargado** de dose única diária.

O esquema alargado implica a administração de doses superiores, podendo conduzir a alterações PK da gentamicina, nomeadamente a um aumento do  $t_{1/2}$  e redução da *clearance*. Neste caso, a fase de distribuição torna-se mais proeminente o que poderá dificultar a determinação da  $C_{máx}$  durante a monitorização [6]. Está comprovado que este esquema posológico reduz o risco de nefrotoxicidade [13] e promove pequenas melhorias de eficácia, pois reduz possíveis variações no  $V_d$  e no  $t_{1/2}$ , face aos regimes convencionais em doses múltiplas, tirando partido máximo dos seus benefícios com a realização da monitorização da gentamicina na prática clínica. Contudo, não foram encontradas diferenças em relação à toxicidade vestibular e coclear nem na taxa de mortalidade [15]. Outra evidência que confirma a preferência pelo esquema alargado face ao esquema convencional é o facto de algumas espécies, nomeadamente a *P. aeruginosa* e *S. aureus*, apresentarem subpopulações pouco sensíveis à gentamicina. Está descrito que a obtenção de  $C_{máx}$  elevadas, proporcionadas pela realização de uma administração única diária, por forma a atingir rácios  $C_{máx}/CMI$  satisfatórios, representa uma estratégia importante para o sucesso da terapia, pois as subpopulações sensíveis destas espécies apresentam uma média de CMI na ordem dos 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [15].

#### 4. PROCEDIMENTO E METODOLOGIA DA MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA GENTAMICINA

Tendo em consideração a elevada taxa de mortalidade associada a infeções graves, a extensa variabilidade PK da gentamicina, a problemática das resistências a este antibiótico, conforme evidenciado na secção 3.2 da presente monografia, e os benefícios comprovados da aplicação da TDM nos doentes em geral, está assim justificado o interesse e necessidade da realização de TDM em doentes críticos medicados com gentamicina. Nos doentes com situações menos problemáticas o principal interesse da TDM consiste na prevenção de toxicidade, contudo, nos doentes em estado grave, para além de prevenir toxicidade, a TDM pretende, sobretudo, evitar doses subterapêuticas e maximizar a eficácia.

De forma geral, os procedimentos subjacentes à TDM, que têm vindo a ser desenvolvidos pelo farmacêutico hospitalar nas unidades de farmacocinética clínica, incluem três fases, nas quais este profissional de saúde intervém ativamente: fase pré-analítica; fase analítica e fase pós analítica ou de interpretação farmacocinética.

#### **4.1. Fase pré-analítica**

O processo de TDM inicia-se com a realização de um pedido, por parte do médico ou por sugestão do farmacêutico aquando da validação da terapêutica, realizado de forma pertinente e conscienciosa. Nesta etapa devem ser recolhidos os dados que vão facilitar a interpretação das concentrações na fase pós-analítica.

##### **4.1.1. Efetivação do pedido**

No sentido de racionalizar os recursos, deverá haver uma rigorosa seleção do binómio situação fisiopatológica/fármaco que deverá ser alvo de monitorização, tendo em conta os critérios mencionados no ponto 2. De entre as subpopulações de doentes mais propícias à monitorização da gentamicina salientam-se, pela variabilidade inter-individual que apresentam nos processos de PK, os doentes pediátricos, geriátricos, oncológicos e com risco elevado de infeção <sup>[9]</sup>.

Existem várias situações sobre as quais poderá recair a decisão de requerer a monitorização da terapêutica a nível hospitalar. Para a gentamicina as que possuem maior relevo são: prevenção de toxicidade; determinação da CMI, sobretudo nos casos em que se está a lidar com microrganismos resistentes; individualização da terapêutica numa fase precoce do tratamento ou depois de uma alteração da dose por forma a se atingir a relação  $C_{\text{máx}}/CMI$  desejada; diagnóstico de um subtratamento (a TDM permite distinguir entre ineficácia terapêutica, não adesão e efeitos adversos que mimetizam uma doença subjacente); avaliação da influência de modificações nas características do doente, incluindo as fisiológicas e fisiopatológicas como a IH, IR e IC.

Saliente-se, nesta etapa, o papel do farmacêutico hospitalar na sensibilização dos outros profissionais de saúde para a importância da farmacocinética clínica, formando e treinando todos os intervenientes de forma a promover a correta aplicação do processo <sup>[2]</sup>.

##### **4.1.2. Plano de recolha das amostras**

Uma vez efetivado o pedido para a realização da TDM da gentamicina a um determinado doente, importa garantir que a colheita da amostra biológica proporcione informação clínica relevante, quando analisada através de uma metodologia analítica adequada. O farmacêutico hospitalar tem um papel interventivo na definição dos tempos de amostragem,

por forma a garantir que as colheitas sejam realizadas nos momentos mais adequados à obtenção de resultados relevantes. Desta forma, o farmacêutico hospitalar deverá ser responsável por transmitir esses conhecimentos ao enfermeiro que irá realizar a colheita da amostra.

O tempo de amostragem é um ponto crítico da monitorização das concentrações séricas e varia de acordo com o fármaco, fundamentalmente com o seu  $t_{1/2}$ , e com as razões clínicas subjacentes à monitorização <sup>[4]</sup>. Atendendo a que a administração da gentamicina é feita, rotineiramente, em intervalos de tempo regulares e que, durante esses intervalos, ocorrem variações nas suas concentrações plasmáticas, muito determinadas pelos processos PK, o tempo no qual a amostra deverá ser obtida deve ser estrategicamente estabelecido <sup>[2]</sup>.

O mais usual é efetuar-se a monitorização quando a concentração do fármaco se encontra no estado estacionário (*steady state*), no qual a velocidade de absorção iguala a velocidade de eliminação. O tempo necessário para atingir este equilíbrio varia consoante o  $t_{1/2}$  dos fármacos, estando estabelecido como 5 vezes o  $t_{1/2}$  depois do início da terapêutica <sup>[1,3]</sup>. Para fármacos com  $t_{1/2}$  curto, como a gentamicina ( $t_{1/2}$  de 2,5h), o equilíbrio atinge-se rapidamente, ao passo que, para fármacos com  $t_{1/2}$  longo o equilíbrio atinge-se ao fim de um intervalo de tempo superior. Daí que, estes últimos devam ser monitorizados também antes de se atingir o *steady state* por forma a garantir a ausência de toxicidade, em doses iniciais, nos indivíduos com insuficiências orgânicas que afetem o metabolismo e/ou a excreção renal <sup>[1,3]</sup>.

O tempo de colheita mais adequado, para a maioria dos fármacos, é aquele no qual a concentração do fármaco é mínima ( $C_{\min}$ , também designada concentração no vale) e que corresponde à concentração sérica mais baixa durante um intervalo posológico; na prática implica a colheita da amostra imediatamente antes da administração subsequente. Contudo, a  $C_{\max}$  (também designada concentração no pico), pode, por vezes, também ser utilizada, como por exemplo no caso de administrações IV de antibióticos, quando existem suspeitas de não adesão à terapêutica ou falha da terapêutica <sup>[3]</sup>. Em casos de suspeita de toxicidade ou na administração de doses carga (dose administrada no início do tratamento com o objetivo de se atingirem níveis séricos mais elevados, e por consequência, um efeito clínico mais rápido) a amostragem deve ser feita no imediato.

Deste modo, a seleção dos doentes para a monitorização da gentamicina deve ser feita tendo em conta o tempo de amostragem que proporcionará resultados úteis, conforme sumariado na tabela 2. A concentração no vale fornece informações relativamente à segurança da terapêutica, sendo útil para garantir que a eliminação da gentamicina é adequada. A

concentração no pico sugere informação acerca da eficácia, ou seja, é importante para garantir a obtenção de uma atividade bactericida adequada.

**Tabela 2** - Seleção dos doentes candidatos à TDM da gentamicina e respetivos tempos de colheita da amostra<sup>[5,6]</sup>.

	<b>Candidatos</b>
<b>Medição no pico</b>	Doentes com situações associadas a um aumento do $V_d$ ou hemodinamicamente instáveis.
<b>Medição intermédia</b>	Doentes que apresentam uma concentração no vale indetetável, com esquema posológico alargado.
<b>Medição no vale</b>	Doentes cujo regime terapêutico excede as 48h, de modo a minimizar a toxicidade.

Inevitavelmente, os tempos de amostragem e as concentrações desejadas para a gentamicina variam de acordo com o esquema posológico implementado (convencional ou em dose única diária), os quais estão esquematizados na tabela 3. Como a eficácia e toxicidade da gentamicina dependem das  $C_{m\acute{a}x}$  atingidas, tanto a determinação da concentração mínima como da máxima tornam-se essenciais<sup>[15]</sup>.

Na prática, para os protocolos de administração única diária, a monitorização das  $C_{m\acute{a}x}$  é evitada na medida em que, como referido anteriormente, a administração inicial de doses elevadas torna a fase de distribuição mais proeminente, dificultando a monitorização<sup>[15]</sup>. Assim, é necessário recorrer à medição das concentrações intermédias, quando a colheita no vale conduzir à obtenção de concentrações indetetáveis, impossibilitando a determinação dos parâmetros farmacocinéticos necessários para a individualização da terapêutica. Para regimes de múltiplas administrações diárias, a monitorização é feita quer para as concentrações mínimas, quer para as máximas. Quando se pretende monitorizar a  $C_{m\acute{i}n}$ , a colheita deve ser feita, no máximo, 30 minutos antes da administração da próxima dose. A colheita para doseamento da  $C_{m\acute{a}x}$  pode efetuar-se em qualquer tempo de amostragem, desde que decorra 30-60 minutos após o início da perfusão por administração IV ou 60-90 minutos após administração IM, garantindo a ausência de interferências resultantes da fase de distribuição<sup>[9]</sup>.

Tabela 3 - Tempos de colheita da amostra para a TDM da gentamicina e margens terapêuticas desejadas para os dois esquemas posológicos possíveis <sup>[2,9,15]</sup>.

Esquema posológico	Concentração no vale		Concentração intermédia		Concentração no pico	
	Tempo de amostragem	Concentração desejável	Tempo de amostragem	Concentração desejável	Tempo de amostragem	Concentração desejável
Convencional (2 – 5 mg/kg a cada 8h ou 12h via IM)	30 min antes da próxima dose	0,5-2 µg/mL			30-60 min após a dose IV e 60-90 min após a dose IM	5-10 µg/mL
Alargado (7mg/Kg/dia via IM)	30 min antes da próxima dose	<1 µg/mL	6-14h após fim da perfusão	3-5 µg/mL		16-24 µg/mL

#### 4.1.3. Preparação das amostras

Conhecendo a hora da última administração e as características do fármaco em questão, o enfermeiro procede à colheita da amostra, seguindo as orientações fornecidas pelo farmacêutico hospitalar relativamente aos tempos de amostragem e às condições de armazenamento mais adequadas, que será analisada pelo técnico de laboratório. A preferência em relação aos tubos de recolha do sangue recai, regra geral, sobre os que não possuem gel, uma vez que evitam a adsorção da amostra ou a deslocação da ligação às proteínas <sup>[25]</sup>. Recolhe-se o sangue para um microtubo, efetuando-se centrifugação imediata com obtenção do soro. Quando se pretende analisar o plasma ou o sangue total (no caso dos fármacos que têm concentrações mais elevadas nos eritrócitos), recolhe-se a amostra para um tubo com anticoagulante [heparina-lítio ou Ácido Etilenodiamino Tetra- Acético (EDTA)] <sup>[9]</sup>. Amostras que não possam ser analisadas no imediato devem ser conservadas de acordo com a estabilidade do fármaco.

As concentrações da gentamicina são doseadas no soro ou no plasma e, tendo em conta que a heparina inibe os AMG, é essencial que os tubos heparinizados sejam evitados para colher as amostras de sangue de doentes, devendo-se optar por outro anticoagulante como por exemplo o EDTA <sup>[3,14,23]</sup>.



## 4.2. Fase analítica

Nesta fase, o técnico de laboratório executa um protocolo experimental para determinar a concentração total de fármaco, que inclui a fração livre (responsável pela interação com o recetor) e a fração ligada às proteínas plasmáticas <sup>[2]</sup>. Por não permitir inferir acerca do risco de toxicidade associado, este procedimento constitui um risco nas situações em que a fração livre possa estar aumentada, nomeadamente por deslocamento do fármaco por outro com maior afinidade para as proteínas plasmáticas ou em casos de IR e hipoalbuminémia (que, conforme referido anteriormente são situações comuns nos doentes com infeções graves). Contudo, dada a quase nula ligação da gentamicina às proteínas plasmáticas, este facto não representa uma ameaça para o sucesso da sua monitorização.

Qualquer que seja a metodologia selecionada para analisar a amostra, aquela tem de ser previamente validada no que diz respeito à seletividade, exatidão, precisão, robustez, reprodutibilidade, linearidade, limite de deteção e de quantificação, de forma a obter-se o conhecimento integrado das capacidades do procedimento analítico e da fiabilidade dos resultados <sup>[3,4]</sup>.

Os métodos cromatográficos são os de referência para a TDM, pela elevada sensibilidade e seletividade que possuem. Destes importa salientar a cromatografia líquida de elevada resolução (HPLC), a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida acoplada a detetor de espectroscopia de massa (LC-MS). Todavia, os procedimentos mais comumente utilizados, pela maior rapidez, simplicidade, disponibilidade e menor custo, são imunoensaios, nomeadamente *Enzyme-Linked Immunosorbant Assay* (ELISA), *Fluorescence Polarization Immunoassay* (FPIA) e *Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique* (EMIT) <sup>[3]</sup>. No entanto, face à menor seletividade em relação aos métodos cromatográficos, os imunoensaios podem ser falseados pela presença de interferentes que estabeleçam reações cruzadas com os anticorpos, incluindo substâncias endógenas da matriz biológica, constituintes dos recipientes de recolha da amostra, metabolitos do fármaco ou outros fármacos que estejam a ser coadministrados ao doente <sup>[4]</sup>.

O doseamento da gentamicina poderá ser realizado num analisador *Beckman Coulter*<sup>®</sup>, recorrendo a um imunoensaio enzimático homogéneo competitivo. O fundamento deste ensaio baseia-se na utilização de uma enzima, a  $\beta$ -galactosidase, geneticamente manipulada em dois fragmentos inativos, um dos quais está conjugado com o analito (que corresponde à gentamicina). O analito da amostra compete com o analito conjugado com um dos fragmentos da enzima, para o sítio de ligação de um anticorpo. Se existir analito na amostra, o anticorpo

liga-se a este e as duas unidades da enzima reassociam-se espontaneamente. Uma vez unidos os dois fragmentos, a enzima torna-se ativa e capaz de degradar um substrato específico, gerando uma mudança de cor que pode ser lida por espectofotometria. Caso não exista analito na amostra, o anticorpo liga-se ao analito acoplado ao fragmento da enzima, que perde a capacidade de reassociar-se e mantém-se inativa. A quantidade de enzima ativa e, consequentemente, a alteração da absorvância que induz, são diretamente proporcionais à quantidade de fármaco presente na amostra <sup>[24]</sup>.

O *kit* de reagentes necessário para este ensaio é composto por dois tampões, um que contém um aceitador de enzima, anticorpo monoclonal de rato anti-gentamicina, e outro que contém o dador de enzima conjugado com gentamicina. Ambos devem ser armazenados entre 2-8°C antes da abertura e, após reconstituição permanecem estáveis durante 30 dias <sup>[24]</sup>.

A amostra de gentamicina permanece estável no soro ou no plasma durante 7 dias, quando armazenada 2-8°C, e durante 4 semanas quando armazenada a -20°C, sendo esta informação fundamental para que a quantificação seja exata <sup>[24]</sup>.

A principal limitação deste ensaio prende-se com a possibilidade de se obterem concentrações de gentamicina sobrestimadas por diferentes razões: a amostra contém anticorpos anti-*E.coli*  $\beta$ -galactosidase ou anticorpos anti-rato humanos, o que acontece num ínfimo número de doentes, ou por contaminação com o remanescente de reagentes contendo gentamicina <sup>[24]</sup>.

### 4.3. Fase pós-analítica

Esta última fase é a mais desafiante de todo o processo analítico, especialmente para o farmacêutico hospitalar, pois é aqui que se faz a determinação e interpretação de parâmetros PK aplicados às concentrações obtidas na fase analítica, tendo em conta as informações relevantes relacionadas com o doente, recolhidas na fase pré-analítica <sup>[2, 25]</sup>.

Primeiramente, os valores obtidos para as concentrações plasmáticas são comparados com aqueles definidos pelas margens terapêuticas estabelecidas para cada fármaco, procedendo-se, posteriormente, aos ajustes que se afigurarem necessários. Nesta etapa também se determina a frequência com que deve ser realizada a TDM (regra geral, quanto mais comprometido for o estado de saúde do doente mais frequente terá de ser a monitorização, dentro da viabilidade clínica).

### 4.3.1. Determinação de parâmetros farmacocinéticos

A PK de um fármaco inclui um conjunto de etapas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) que podem ser alteradas por diversos fatores relacionados com o indivíduo, com as características do próprio fármaco ou mesmo com aspetos ambientais.

Os parâmetros de maior relevo para caracterizar a PK da gentamicina e, frequentemente utilizados na TDM e individualização do regime posológico, incluem o  $V_d$ , a *clearance*, a constante de eliminação ( $K_{el}$ ) e o  $t_{1/2}$ .

O  $V_d$  relaciona a dose administrada com a concentração plasmática de fármaco, conforme evidenciado na equação da tabela 4, sendo aplicado na prática clínica para o cálculo da dose inicial (ou dose de carga) que permita a obtenção de concentrações plasmáticas desejadas [26]. O seu valor depende do peso corporal do indivíduo, o qual frequentemente tem de ser tido em conta no momento de ajustar a dose. Por exemplo, aquando do ajuste da dose de um fármaco lipofílico a um doente obeso, o peso corporal do indivíduo deve ser considerado, porém, se se tratar de um fármaco hidrofílico, como é o caso da gentamicina, deve-se considerar o peso ideal do doente para evitar o risco de sobredosagem.

A *clearance* corresponde ao volume de sangue (ou plasma) que é depurado de fármaco pelos órgãos eliminadores do organismo por unidade de tempo, ao passo que a  $K_{el}$  diz respeito à quantidade ou fração de fármaco que é eliminada do organismo por unidade de tempo, estando ambos relacionados com o  $t_{1/2}$ . O conhecimento do  $t_{1/2}$  é muito útil para calcular os intervalos posológicos e prever quando o *steady state* será atingido.

A capacidade dos órgãos eliminadores do organismo para a excreção de fármacos varia com a idade dos doentes (recém-nascidos, crianças, adultos, idosos). Nos doentes hospitalizados recorre-se frequentemente à *clearance* da creatinina (substância endógena eliminada passivamente por filtração glomerular) para estimar a função renal e a *clearance* do fármaco. Desta forma, em casos de compromisso renal, os processos de secreção e reabsorção estão diminuídos na mesma extensão que a TFG o que possibilita o uso do valor da *clearance* da creatinina para proceder ao ajuste de doses de fármacos excretados por via renal, como é o caso da gentamicina. Contudo, apesar da *clearance* da creatinina continuar a ser utilizada para o ajuste inicial das doses, a relação entre a *clearance* da gentamicina e a *clearance* da creatinina não se encontra ainda bem estabelecida [15].

**Tabela 4** - Equações para determinação da  $K_{el}$ ,  $t_{1/2}$  e  $V_d$  [26].

Constante de eliminação	Tempo de semi-vida	Volume de distribuição
$K_{el} = clearance/V_d$	$t_{1/2} = 0,693 \times V_d/clearance$	$V_d = dose/C_{plasm}$

O cálculo dos parâmetros PK para posterior ajuste de doses, realizado pelo farmacêutico hospitalar, pode ser feito recorrendo a vários modelos PK que constituem aproximações matemáticas. Existem três tipos principais de abordagens: a independente, a populacional e a *bayesiana*. No modelo independente é o doente que está no centro do estudo, não sendo utilizados dados populacionais. Implica a colheita frequente de amostras para estimar a AUC e caracterizar a fase de eliminação, sendo por isso o menos utilizado [15]. A abordagem populacional consiste numa aproximação muito útil para a definição de parâmetros PK individuais e populacionais, recorrendo ao uso de modelos de efeitos mistos que permite um análise de dados em simultâneo e num único passo. O modelo estatístico mais extensamente utilizado é o modelo *bayesiano*. Este permite, através de programas informáticos, estimar a probabilidade de se obter um parâmetro PK tendo em consideração a concentração plasmática medida no doente e a PK populacional, utilizando apenas uma concentração plasmática, melhorando, conseqüentemente, a relação custo-efetividade da TDM [2]. Esta estimativa garante resultados consistentes, uma vez que minimiza os riscos inerentes à técnica analítica e aos erros de medição [9], contudo não é adequada para a monitorização de novos fármacos ou de grupos populacionais com perfil não estudado, dada a necessidade de informações da PK populacional obtidas através de fontes bibliográficas representativas [6].

#### 4.3.2. Interpretação dos resultados

A interpretação clínica da monitorização deve ser realizada por profissionais conhecedores dos princípios da PK da gentamicina e de informação pertinente relacionada com o doente – dados demográficos (idade, sexo, etnia), doenças e medicação concomitantes, posologia medicamentosa, qual o propósito da monitorização – e com a metodologia, onde se inclui os tempos de colheita da amostra bem como a presença de potenciais interferentes [2]. Esta informação torna-se essencial porque, a margem terapêutica de cada fármaco constitui apenas uma referência importante para a determinação das concentrações séricas do

medicamento, mas não possui carácter vinculativo, dada a imprevisível variabilidade inter e/ou intra-individual dos diferentes parâmetros PK.

O farmacêutico hospitalar é o profissional de saúde de eleição para a realização desta interpretação, uma vez que é possuidor de conhecimentos técnico-científicos que lhe permitem aliar a informação resultante da avaliação PK, por ele efetuada, com as características da gentamicina e o estado fisiopatológico do doente, conhecido através da disponibilização dos dados clínicos recolhidos.

A informação resultante desta etapa deverá ser transmitida pelo farmacêutico, de forma clara, concisa e profissional, ao médico pois será crucial para tomada de decisão no que respeita ao ajuste da dose e do regime posológico, a qual irá proporcionar o uso racional da gentamicina, na medida em que otimizará a eficácia, aumentará a segurança, por diminuição dos efeitos adversos, e reduzirá o tempo de internamento, culminando numa melhoria da qualidade de vida do doente e numa recuperação, a longo prazo, do investimento realizado para a concretização da TDM. A intervenção do farmacêutico hospitalar continua, no sentido de acompanhar a monitorização da resposta clínica do doente, partilhando com o médico a decisão acerca do regime posológico mais adequado <sup>[2]</sup>.

## 5. CONCLUSÃO

A TDM representa uma prática clínica em crescimento, a qual requer uma equipa de profissionais (desde o médico, ao farmacêutico, o enfermeiro e o técnico de laboratório) com uma formação sólida e uma comunicação interdisciplinar entre os diferentes intervenientes, sendo que o farmacêutico hospitalar apresenta um papel de destaque com intervenção significativa em várias etapas do processo. A ele cabe-lhe intervir na tomada de decisão para realização da TDM e no estabelecimento dos tempos de colheita das amostras (fase pré-analítica); a interpretação dos dados analíticos do doseamento plasmático, a realização do ajuste farmacocinético, a elaboração do relatório a apresentar ao médico com propostas fundamentadas relativamente ao ajuste de doses e o auxílio na tomada de decisão em relação ao regime posológico a adotar (fase pós-analítica).

A correta implementação da TDM, atendendo aos fatores de inclusão e exclusão citados ao longo desta monografia, promove a qualidade de vida do doente, na medida em que garante a eficácia e segurança do regime farmacoterapêutico, conseguindo-se simultaneamente uma otimização do custo-benefício associado à terapêutica medicamentosa. Isto só se torna possível uma vez que a monitorização alia a avaliação da concentração do fármaco com a informação fisiopatológica relevante do doente.

Surgem como fatores críticos da TDM o tempo de amostragem, a carência de seletividade de algumas metodologias, nomeadamente dos imunoensaios, na presença de interferentes, e a dificuldade em validar margens terapêuticas, as quais devem estar bem definidas, obtidas preferencialmente através de ensaios clínicos controlados e randomizados.

A gentamicina é um antibiótico que tem vindo a ser utilizado no tratamento de infeções graves causadas por microrganismos multirresistentes. As subpopulações de doentes em que o fármaco é utilizado, caracterizadas por uma extensa variabilidade intra e inter-individual nos parâmetros PK, a sua estreita margem terapêutica e as resistências verificadas na maior parte dos microrganismos responsáveis pelas infeções nosocomiais, circunscrevem a necessidade de monitorização, de modo a promover tratamentos seguros e eficazes, com resistências mínimas e a custos controlados.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- [1] GHICULESCU, R.A. - **Therapeutic drug monitoring: which drugs, why, when and how to do it.** Australian Prescriber. Vol. 31, n.º 2 (2008). p. 42-44.
- [2] GROSS, A.S. - **Best practice in therapeutic drug monitoring.** British Journal of Clinical Pharmacology. Vol.46 (1998). p. 95-99.
- [3] KANG, J.S., LEE, M.H. - **Overview of Therapeutic Drug Monitoring.** The Korean Journal of Internal Medicine. Vol. 24, n.º1 (2009). p. 1-8.
- [4] BOWERS, L.D. - **Analytical goals in therapeutic drug monitoring.** Clinical Chemistry 44, n.º2 (1998). p. 375-380.
- [5] WONG, G., SIME, F.B., LIPMAN, J., ROBERTS, J.A. - **How do we use therapeutic drug monitoring to improve outcomes from severe infections in critically ill patients?** BMC Infectious Disease (2014). p. 1-11.
- [6] ROBERTS, J.A., NORRIS, R., PATERSON, D.L., MARTIN, J.H. - **Therapeutic drug monitoring of antimicrobials.** British Journal of Clinical Pharmacology. Vol. 73, n.º1 (2011). p. 27-30.
- [7] FRONTINI, R., MIHARIJA-GALA, T., SYKORA, J. - **EAHP survey on hospital pharmacy in Europe: parts 4 and 5. Clinical services and patient safety.** European Journal of Hospital Pharmacy. Vol. 20 (2013). p. 69-73.
- [8] FRONTINI, R., MIHARIJA-GALA, T., SYKORA, J. - **EAHP survey 2010 on hospital pharmacy in Europe: part 1. General frame and staffing.** European Journal of Hospital Pharmacy. Vol. 19 (2012). p. 385-387.
- [9] CARRONDO, A. P. - **Boletim do Cim: Monitorização Terapêutica de Fármacos.** Ordem dos Farmacêuticos, 2010. [Acedido a 23 de Junho de 2014]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer\_pt/docs/Doc6277.pdf>
- [10] **Farmacêutico hospitalar e a monitorização de fármacos.** p. 1-35 [Acedido a 5 de Janeiro de 2015]. Disponível em WWW:<URL:https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/545/10/Introdu%C3%A7%C3%A3o%201,2,3%20e%204.pdf>
- [11] INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP / Ministério da Saúde. **Prontuário Terapêutico II.** INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP / Ministério da Saúde. 2012. ISBN: 978-989-8369-11-6. p. 36,482.
- [12] **Revista da Ordem dos Farmacêuticos.** n.º113 (out/dez 2014). ISSN 0872-7554

- [13] SOLEIMANI, N., AGANJ, M., ALI, L., SHOKOOHIZADEH, L., SAKINC, T. - **Frequency distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes in uropathogenic *E.coli* isolated from Iranian hospital.** BMC Research Notes. Vol. 7 (2014). p. 842.
- [14] MENSA, J., GATELL, J.M., GARCÍA-SÁNCHEZ, J.E., LETAN, G.E., LÓPEZ-SUÑÉ, E., MARCO, F. - **Guía de Terapéutica Antimicrobiana 2011.** 20ª Edição, Barcelona: Antares Editorial. ISBN 978-84-88825-07-0. p. 3-6.
- [15] TURNIDGE, J.M.B. - **Pharmacodynamics and dosing of aminoglycosides.** Infections Disease Clinics of North America (2003). p. 503-528.
- [16] BURKE, A., CUNHA, M.D. - **Antibiotic Essentials.** 6ª Edição, New York. Physican's Press 2007. ISBN 978-1-890114-68-8. p. 461.
- [17] TURNIDGE, J.D., GOTTLIEB, T., MITCHELL, D.H., *et al* - **Hospital on-set Gram-negative Surveillance Program annual report, 2011.** Communicable Diseases Intelligence Q Rep. Vol. 38, n.º1 (31 de março de 2014). p. 49-53.
- [18] GUVEN, T., YILMAZ, G., GÜNER, H.R., *et al* - **Increasing resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii*: are we going to be defeated?** Turkish Journal of Medical Sciences. Vol. 44, n.º1 (2014). p. 73
- [19] RAIDT, L., IDELEVICH, E.A., DÜBBERS, A., KÜSTER, P., *et al* - **Increased Prevalence and Resistance of Important Pathogens Recovered from Respiratory Specimens of Cystic Fibrosis Patients During a Decade.** Pediatric Infectious Disease Journal. 6 de Abril de 2015
- [20] RABIRAD, N., MOHAMMADPOOR, M., LARI, A.R., *et al* - **Antimicrobial susceptibility patterns of the gram-negative bacteria isolated from septicemia in Children's Medical Center, Tehran, Iran.** Journal of Preventive Medicine and Hygiene. Vol. 55, n.º1 (2014). p. 23-6.
- [21] GILBERT, D.N., MOELLERING, R.C., ELIOPOULUS, G.M., CHAMBERS, H.F., SAAG, M.S. - **The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2009.** 39ª Edição. USA: Pocket Edition, 2009. ISBN 978-1-930808-52-2. p. 96.
- [22] LOPEZ-GONZALEZ, M.A., GUERRERO, J.M., TORRONTERAS, R., OSUNA, C., DELGADO, F. - **Ototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs.** Journal of Pineal Research. V. 28, n.º1 (2000). p. 26-33.
- [23] Infarmed. **Resumo das Características do Medicamento - Gentamicina Labesfal.** Aprovado 20-11-2006. [Acedido a 17 de maio de 2015]. Disponível em



WWW.<URL:http://www.infarmed.pt/infomed/download\_ficheiro.php?med\_id=3882&tipo\_d  
oc=rcm>

[24] Beckman Coulter®. **Gentamycin BLOSR6420.01** (2009) - Manual do Imunoensaio enzimático homogéneo para doseamento da gentamicina.

[25] FERNANDEZ E., *et al.* - **State of art in therapeutic drug monitoring.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. V. 48, n.º4 (2010). p. 437- 446.

[26] GUIMARÃES, S., MOURA, D., SILVA, P.S. - **Manual de Farmacologia e Farmacoterapia: Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas.** 5ª Edição. Porto Editora, 2006. ISBN: 972-0-06029-8.

## 7. ANEXO

### Anexo I - Espectro de ação da gentamicina <sup>[10]</sup>.

Microrganismos	Valores de CMI <sub>90</sub> (µg/mL) da Gentamicina
<b>Bactérias gram-negativas</b>	
<i>Acinetobacter</i>	6,2
<i>Brucella</i>	
<i>Calymmatobacterium</i>	
<i>Campylobacter</i>	
<i>Citrobacter</i>	4,0
<i>Enterobacter</i>	1,3
<i>Escherichia coli</i>	1,25
<i>Haemofilus</i>	1,6
<i>Klebsiella</i>	4,0
<i>Proteus mirabilis</i>	4,0
<i>Proteus</i>	1,2
<i>Providencia</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,0
<i>Salmonella</i>	6,3
<i>Serratia</i>	0,25
<i>Shigella</i>	6,3
<i>Vibrio</i>	
<i>Yersinia</i>	
<b>Bactérias gram-positivas</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,78
<i>Listeria monocytogenes</i>	

CMI<sub>90</sub>- concentração de gentamicina capaz de inibir 90% dos isolados bacterianos.