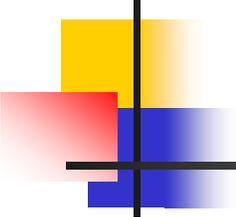


CONTROLE TERAPÊUTICO – FBF 357

Correlação *in vivo-in vitro*
Agentes Antimicrobianos e Antifúngicos

**Controle das Infecções Graves em Pacientes Críticos
pela utilização das ferramentas
Farmacocinética
+
Modelagem PK/PD**



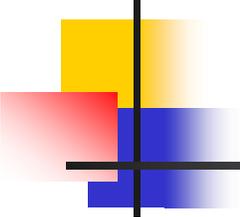
SEPSE

Conhecida desde o século passado por septicemia ou infecção generalizada

Ocorrência

- 20-30 milhões de casos no mundo ao ano sendo registrados **400 mil casos com 55% de óbitos no Brasil**
- 6 milhões de casos de sepse neonatal e 1ª infância
- 100 mil casos de sepse materna
- **Maior índice de óbitos por sepse** foi registrada no Brasil

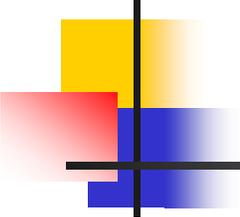
MORTES POTENCIALMENTE EVITÁVEIS



SEPSE

População de risco

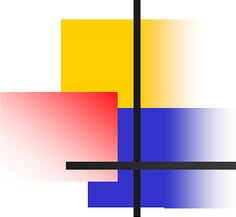
- Idosos,
- Crianças (neonatos e crianças <1a),
- Pacientes portadores de câncer em uso de quimioterapia, ou
- Pacientes em farmacoterapia com outros medicamentos que alteram as defesas contra infecções,
- Usuários de álcool, e
- Usuários de drogas ilícitas.



Painel atual

- **Incidência crescente:** envelhecimento populacional (>65 anos), além dos prematuros e crianças até 1 ano
- **Alta mortalidade:** superior ao IAM, câncer de intestino + mama

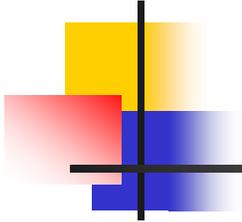
MORTES POTENCIALMENTE EVITÁVEIS



VISÃO 2020

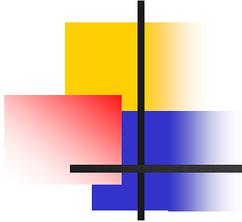
Latin America Institute e Associação de Medicina Intensiva

- 1) Incidência poderá ser reduzida em até 20% com base em estratégias de prevenção**
 - **Tratamento adequado**
 - **Promoção de práticas de higiene e lavagem das mãos**
 - **Limpeza**
 - **Melhoria sanitária**
 - **Fornecimento de água potável e saneamento básico**
 - **Programas de vacinação para população de pacientes de risco disponibilizada em áreas pobres sem recursos**
 - **Sepse como prioridade para melhoria de cuidado de saúde.**



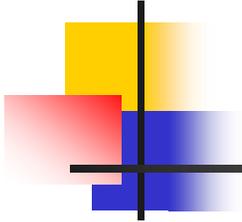
2) A sobrevivência à sepse para adultos, crianças e neonatos depende do tempo para iniciar as intervenções

- **Intervenção precoce aumenta a sobrevivência em 80%**



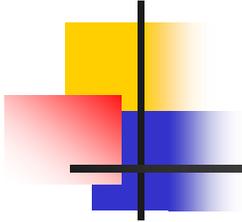
3) Acesso adequado a serviços de reabilitação

- **Depende do estabelecimento de padrões para prover reabilitação aos sobreviventes da sepse após a alta hospitalar.**



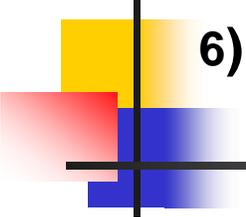
4) Percepção e entendimento dos profissionais da saúde

- Sepsis como sinônimo da **necessidade de intervenção emergencial**.



5) Ônus e impacto das intervenções para o controle da sepse

- **Necessidade de registros da sepse** (voluntários e obrigatórios) de forma consistente e complementar aos padrões estabelecidos pela comunidade internacional .

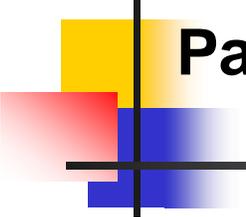


6) Tratamentos adequados e monitorados com agentes anti-infecciosos

- **Contribuem para o controle das infecções**
- **Manutenção do agente anti-infeccioso no arsenal terapêutico**
- **Redução da resistência das bactérias, fungos e leveduras aos antimicrobianos e antifúngicos**

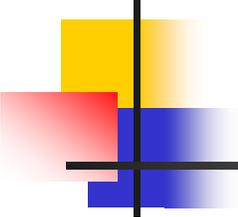
ESTRATÉGIA FUNDAMENTAL

1. **Seguimento farmacoterapêutico durante todo tratamento**
2. **Seguimento laboratorial (culturas+antibiogramas) e dosagem do antimicrobianos/ antifúngico circulante (plasma/soro/liquor)**
3. **Utilização de ferramentas da PK e da PK/PD**



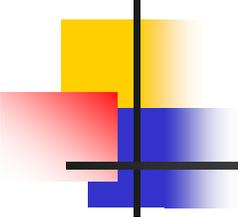
Pacientes de UTI - Farmacoterapia complexa

- Hidratação
- Reposição eletrolítica
- Correção de pH sanguíneo
- Medicação
 1. Analgésica: Tramal, Morfina, Gabapentina
 2. Antipirética: Dipirona, Paracetamol
 3. Sedação-hipnose: Fentanil, Midazolan, Propofol
 4. Cardiovascular: Dopamina, Dobutamina, Noradrenalina (DVA)
 5. Anti-inflamatória: Corticóide sistêmico
 6. TGI: Omeprazol, Bromoprida, Metoclopramida, Ranitidina
 7. Anti-infecciosa: Antimicrobianos, Quimioterápicos, Antifúngicos



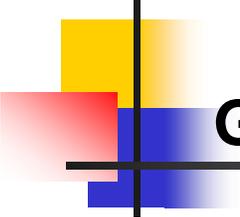
AGENTES ANTI-INFECCIOSOS

- Grupo dos Aminoglicosídeos (germes G -)
- Grupo dos Macrolídeos (germes G +)
- Grupo dos Beta-lactâmicos (amplo espectro)
- Grupo dos Carbapenêmicos (BGN)



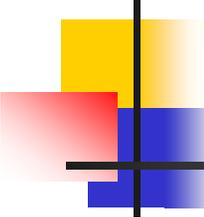
Grupo dos Aminoglicosídeos (germes G -)

- amicacina,
- gentamicina,
- tobramicina,
- netilmicina.



Grupo dos Macrolídeos (germes G +)

- Vancomicina 1ª linha
- Linezolida nos casos de germes Vancomicina/Resistentes



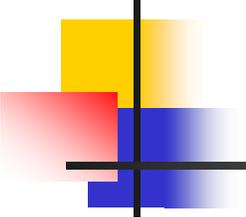
Grupo dos Beta-lactâmicos (amplo espectro)

Penicilinas em associação a inibidores da beta lactamase (bactana)

- Ampicilina/subactana
- Oxacilina
- Piperacilina/tazobactana

Cefalosporinas 1^a- 4^a geração

- Cefepime,
- ceftriaxona,
- cefuroxima,
- cefadroxil



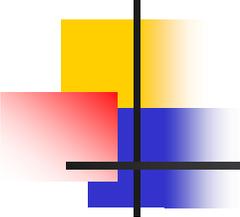
Grupo dos Carbapenêmicos (BGN)

Na sepse são utilizados preferencialmente os dois primeiros

- Imipenem

- Meropenem

- Ertapenem

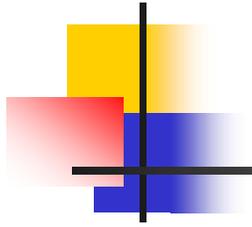


Grupo dos Quinolônicos (germes da comunidade)

São utilizados preferencialmente dois agentes:

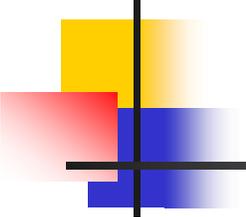
- Ciprofloxacino

- Levofloxacino



Antifúngicos

- Fluconazol
- Anfotericina B
- Caspofungina



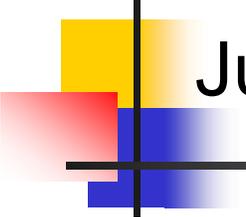
Farmacoterapia anti-infecciosa

- Os pacientes críticos apresentam alteração da cinética de fármacos incluindo os agentes anti-infecciosos
- Até o momento a **escolha do antimicrobiano é empírica** com base no perfil de sensibilidade dos agentes infecciosos de cada nosocômio aos antimicrobianos.
- A **farmacoterapia antimicrobiana inicial também é empírica** e o regime de dose obedece as recomendações da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH).
- A alteração do **regime de dose** ou mesmo a **substituição do antimicrobiano** de forma geral está baseada na **evolução clínica/seguimento farmacoterapêutico** do paciente crítico com infecção grave.

Nosso alvo envolve a tríade

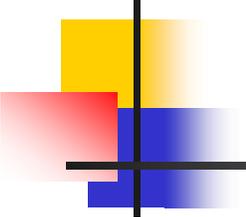
Paciente – Medicamento - Controle da infecção

- **Suspeita:** sepse
- **Dilema:** escolha do antimicrobiano/regime de dose mais apropriado com base na Clínica e busca do foco da infecção.
- **Acompanhamento:** evolução clínica diária e resultados de exames de imagem, Laboratório Clínico incluindo a Microbiologia (isolamento do germe ou fungo ou levedura + culturas + antibiograma)
- **Seguimento Farmacoterapêutico:** coleta de sangue e dosagem plasmática de agentes anti-infecciosos, estudo da farmacocinética e correlação *in vivo-in vitro* fornecida pela Modelagem PK/PD.
- **Alteração do regime de dose:** com base nas ferramentas disponíveis (PK + PK/PD) acompanhado sempre pelas culturas e antibiograma até o controle completo da infecção.
- **Substituição do Agente:** com base no isolamento de novos germes ou cepas resistentes ou ainda fungos/leveduras de fluidos biológicos, secreções, sondas e cateteres para o rastreamento de novos focos de infecção.
- **Seguimento Farmacoterapêutico:** coleta de sangue e dosagem plasmática de agentes anti-infecciosos, estudo da farmacocinética e correlação *in vivo-in vitro* fornecida pela Modelagem PK/PD.
- **Alteração do regime de dose:** com base nas ferramentas disponíveis (PK + PK/PD) acompanhado sempre pelas culturas e antibiograma até o controle completo da infecção.



Justificativa do monitoramento plasmático

- Regime de dose inicial é empírico **manual CCIH** de cada Unidade.
- O controle da infecção durante o seguimento **prevê o ajuste de dose para mais ou para menos** em função da capacidade do anti-infeccioso chegar ao foco da infecção, da situação clínica e evolução do paciente na UTI e do agente infeccioso isolado com o perfil de sensibilidade ao antimicrobiano ou antifúngico definido numericamente através da Concentração Inibitória Mínima (CIM).



Necessidade de antimicrobiano sistêmico

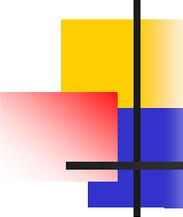
- Paciente com suspeita de sepse deve apresentar no mínimo dois dos sinais e sintomas além de fraqueza generalizada, falta de ar, sonolência, redução na produção de urina.
- Febre ($>38.5^{\circ}\text{C}$) ou hipotermia ($<35^{\circ}\text{C}$)
- Instabilidade hemodinâmica mesmo após correção hidroeletrólítica
- Taquipnéia e taquicardia
- Confusão mental ou hiperglicemia ($>150\text{ mg/dL}$ sem diabetes prévia)
- Aumento de PCR / Lactato / Leucócitos + alteração do leucograma.

Protocolo empírico de administração de antimicrobianos
Ex.: vancomicina e piperacilina

Antimicrobiano	Dose diária	Regime posológico	
		Infusão rápida	Intervalo entre doses
TAZOCIN Piperacilina/ Tazobactam	12g (*)	4g (0,5 hora) (3x ao dia)	8/8hs
VANCOCIN Vancomicina	2g (*)	0,5g (1 hora) (4x ao dia) 1g(1 hora) (2x ao dia)	6/6 horas 12/12 horas
	1g	1 g(1 hora) (1x ao dia)	24/24 horas

(*) dose inicial sujeita à alteração; paciente com função renal preservada.

Fonte: Guia de utilização de antimicrobianos HCFMUSP, 2012-2014.



Etapa clínica dosagens/seguimento farmacoterapêutico

1- Coleta de amostras sanguíneas na UTI

Enfermeira (venoso)

Médico (arterial)

2- Períodos/número mínimo 2 e máximo 3 coletas

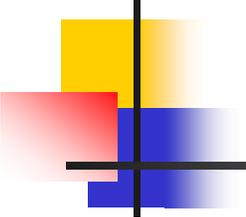
- término da infusão,
- intervalo de dose (2ª ou 3ª hora pós infusão)
- imediatamente antes da dose subsequente.

3- Tubo de coleta EDTA sódico VACUTAINER® BD 2-3 mL/coleta.

4- Encaminhamento ao Laboratório

5- Laboratório

- Separação do plasma, soro ou preparação de sangue hemolisado
- Adição de solução estabilizante, se requerido na estocagem
- Armazenamento (-20°C -40°C -80°C) até ensaio.



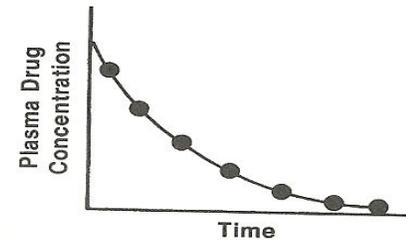
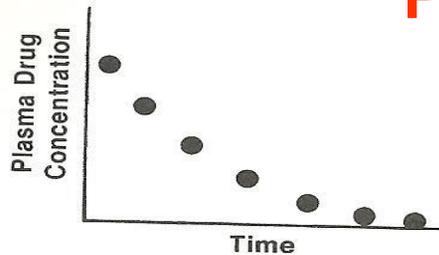
Etapa analítica método validado

- Purificação da matriz previamente a quantificação
- Métodos bioanalíticos CLAE validados são utilizados de rotina no Laboratório.
- Curva diária mínimo 6 pontos incluindo zero C0-C1-C2-C3-C4-C5 + CQs Alto-Médio-Baixo para cada corrida analítica diária.

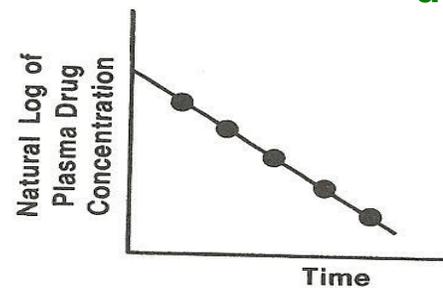
Etapa estatística

Modelagem farmacocinética **modelo aberto de 1 compartimento.**

Pares de dados C x T



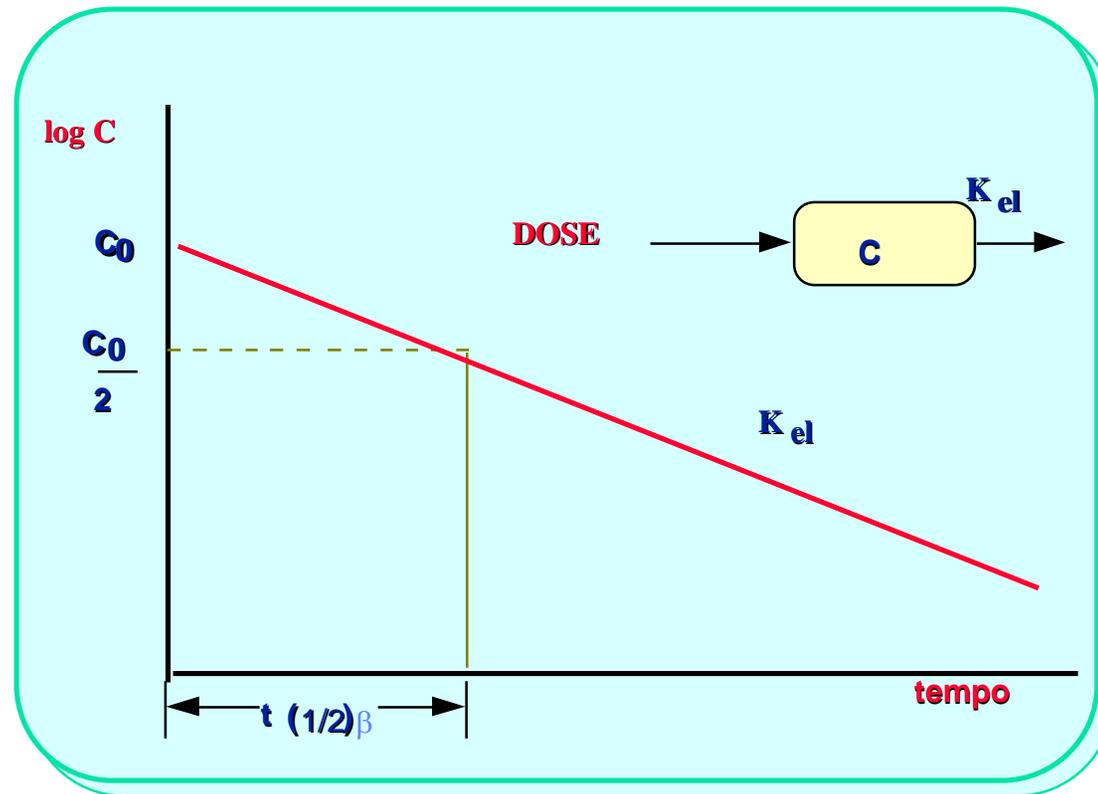
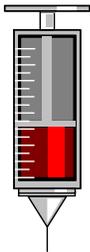
Função exponencial
decrecente $Y=Y_0 \cdot e^{-kX}$



Transformação logarítmica de C (Kel e t1/2)

Fontes: Ristchel (2008), Dipiro (2010)

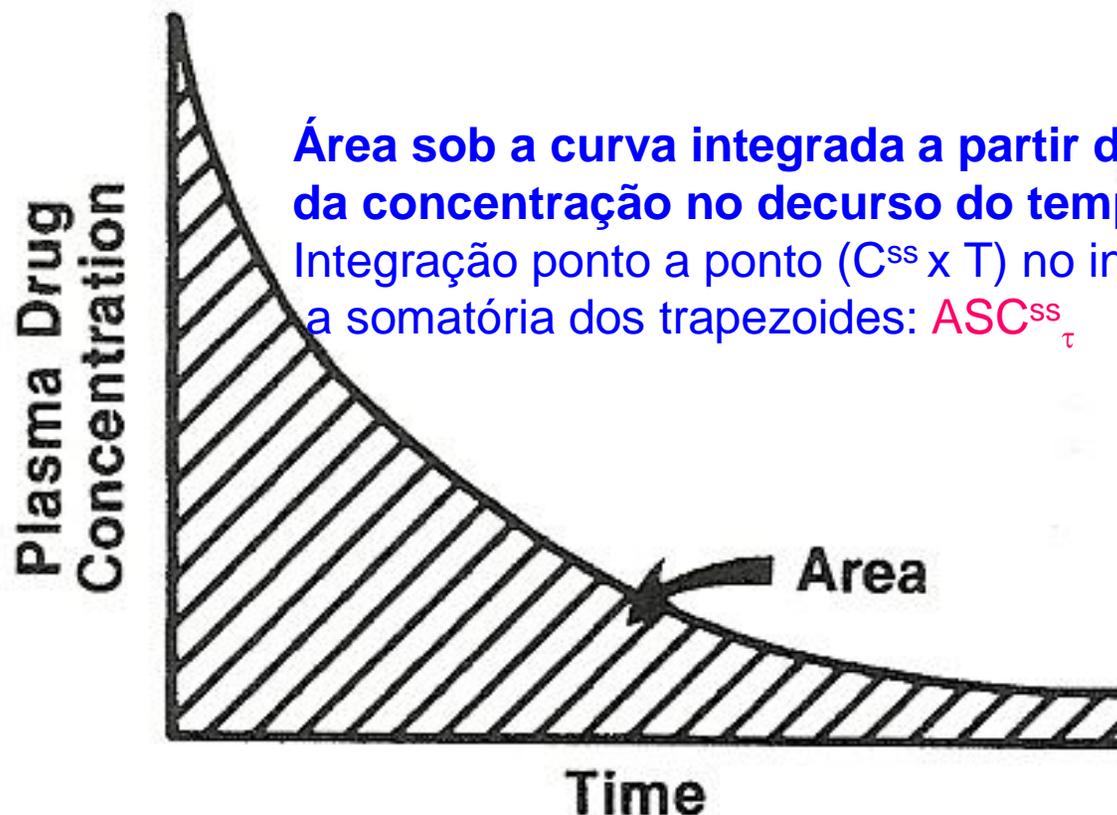
Modelo aberto de 1 compartimento



Curva de decaimento das concentrações plasmáticas (transf. logarítmica: $\log C$) no decurso do tempo (T) com base no modelo aberto de 1 compartimento, administração IV (infusão. **Fontes:** Ristchel (2008); Dipiro (2010).

Cálculo da depuração plasmática e do volume aparente

Estimativa da Área sob a Curva ($C^{ss} \times T$)



Integração ponto a ponto das concentrações plasmáticas no decurso do tempo (T): Método dos Trapezoides. Fontes: Ristchel (2008), Dipiro (2010).

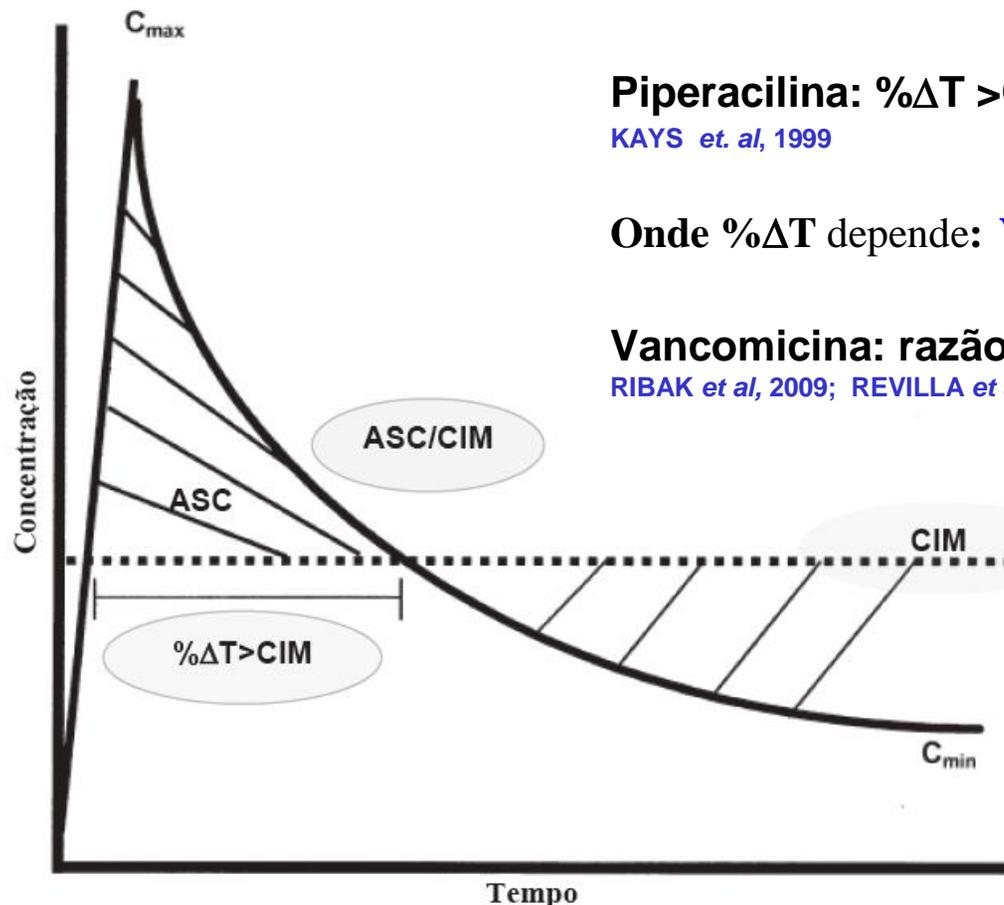
Parâmetros PK Fontes: Ristchel, 2008, Dipiro 2010.

<i>Descrição do Parâmetro</i>	<i>Parâmetro/unidade</i>	<i>Equação</i>
Constante de infusão	K_0 (mg/hora)	Dose/ $T_{infusão}$
Constante de eliminação	K_{el} (h^{-1})	$(\ln C_1 - \ln C_2) / T_2 - T_1$
Meia-vida de beta	$t(1/2)_{\beta}$ (h)	$0,693 / K_{el}$
Área sob a curva no steady state	ASC^{SS}_{τ}	Trapezóides (integração ponto a ponto do intervalo de dose)
Depuração plasmática	CL_T (mL/min/kg)	Dose/ ASC^{SS}_{τ}
Volume aparente de distribuição no steady state	Vd^{SS} (L/kg)	Dose/ $K_{el} \cdot ASC^{SS}_{\tau}$

Abreviaturas (τ): intervalo entre doses consecutivas; **(C)**: concentração, **(T)** tempo

Modelagem PK/PD correlação *in vivo* - *in vitro*

Dado *in vivo* (ASC ou $\% \Delta T$) versus dado *in vitro* (CIM)



Piperacilina: $\% \Delta T > CIM$ (CIM > 70%)

KAYS et al, 1999

Onde $\% \Delta T$ depende: **VALE; KEL; τ** \longrightarrow **CIM**

Vancomicina: razão $(ASC^{ss}_{0-24}/CIM) \geq 400$

RIBAK et al, 2009; REVILLA et al, 2010

Adaptado de RYBAK, 2006

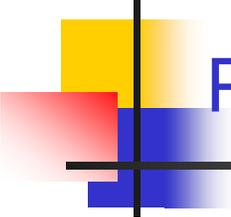
- A vancomicina e o fluconazol apresentam **atividade dependente da concentração plasmática no decurso do tempo**

ASC_{0-24}^{SS} : resultado obtido *in vivo*

- O teste laboratorial de susceptibilidade do agente infeccioso ao antimicrobiano fornece a concentração inibitória mínima (CIM).

CIM: resultado obtido *in vitro*

A correlação *in vivo-in vitro* será dada pela razão da área sob a curva estimada no intervalo de 24 horas e a concentração inibitória mínima.



PK-PD

Vancomicina/Fluconazol

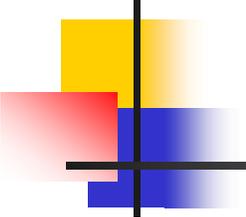
Parâmetro de predição de eficácia é dado pela razão

A correlação *in vivo-in vitro* será dada pela razão da área sob a curva estimada no intervalo de 24 horas e a concentração inibitória mínima

■ **Vancomicina razão** $(ASC^{ss}_{0-24}/CIM) \geq 400$

RIBAK *et al*, 2009; REVILLA *et al*, 2010

■ **Fluconazol razão** $(ASC^{ss}_{0-24}/CIM) \geq 25$
PFALLER *et al*, 2006.



PK/PD LAUDO DE EXAME

Vancomicina razão (ASC^{ss}_{0-24}/CIM) ≥ 400

RIBAK *et al*, 2009; REVILLA *et al*, 2010

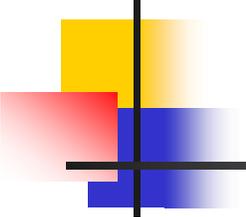
MODELAGEM PK-PD MICROORGANISMO	Correlação <i>in vivo/in vitro</i> : CIM	Resultados $ASC^{ss}_{0-24}/CIM >400$
<i>Streptococcus ssp</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 mg/L	1333
<i>S. aureus</i> (MRSA), <i>Clostridium difficile</i>	2 mg/L	666
<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococ. faecalis</i>	4 mg/L	<u>333</u>

Fontes: EUCAST, 2012 http://www.eucast.org/mic_distributions; Micromedex, 2012; REVILLA *et al.*, 2010.

Abreviaturas: ASC^{ss}_{0-24} : Área sobre a curva concentração plasmática no decurso do tempo (intervalo de 0 - 24 horas)

CIM: Concentração Inibitória Mínima

Agente isolado HCFMUSP *S epidermidis* sangue periférico(02/07) sensível a vancomicina CIM 1 mg/L



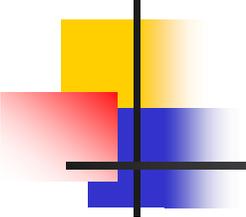
PK/PD LAUDO DE EXAME

Fluconazol razão (ASC^{ss}_{0-24}/CIM) ≥ 25

PFALLER et al, 2006.

MODELAGEM PK-PD MICROORGANISMO	Correlação <i>in vivo/in vitro</i> CIM^d	RESULTADO $ASC^{ss}_{0-24}/CIM >25^e$
Cândida sensível	8mg/L	64
Cândida dose-dependente	16mg/L	32
Cândida dose-dependente	32mg/L	<u>16</u>
<i>Cândida</i> resistente	>64mg/L	<u>8</u>

Fontes: ^dEUCAST, 2012 http://www.eucast.org/mic_distributions; ^ePFALLER et al. *Clin. Microbiol Rev.*, 2006. Abreviaturas: ASC^{ss}_{0-24} : Área sobre a curva concentração no decurso do tempo, integração 0 - 24 horas. **CIM**: Concentração Inibitória Mínima. **Agente isolado/HC**: *Candida sp* Hemocultura/sangue periférico(02/07) Fluco/S CIM 16mg/L.



PK/PD

Beta lactâmicos e carbapenêmicos

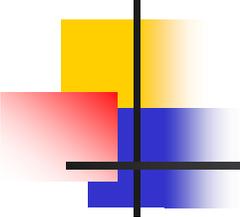
Antimicrobianos de **ação tempo-dependente**, e a eficácia é definida a partir do intervalo de tempo em que a concentração plasmática permanece acima da concentração inibitória mínima ($\% \Delta T > CIM$).

- Recomendam-se **os intervalos de tempo** ($\Delta\% \Delta T$)

Fração do intervalo de dose/ Período de tempo que a concentração plasmática permanece acima do CIM

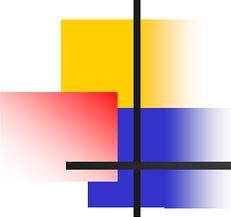
Exemplo: Piperacilina *KAYS et. al, 1999*

- 70% > CIM (maioria dos microrganismos Gram +)
- 50% > CIM (*Staphylococcus aureus*)



Aplicação da ferramenta proposta - Modelo

- **RELATO DE CASO** - Paciente **grande queimado** internado na UTI 8ª andar HCFMUSP
- **IDENTIFICAÇÃO**: RAS #127, Feminino, 79a, 80kg, SCQ 15% (face/pescoço MSD+ MID); 2º grau profundo e 3º grau.
- **AGENTE**: fogo (causa provável acidente devido ao paciente fumar na cama e adormeceu quando ocorreu o acidente e chamas no colchão provocando a queimadura).
- **HISTÓRIA PREGRESSA**: AVCi com seqüela neurológica (8a), HAS, Dislipidemia, DM2, DPOC, tabagista (45a)
- **HISTÓRIA CLINICA ATUAL**: celulite, fratura de fêmur corrigida, IRA, PNM, FA de alta resposta paroxística, *delirium*.
- Regime de dose empírico ou dose ajustada



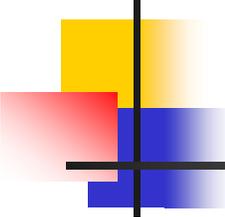
Aplicação da ferramenta proposta PK

- Piperacilina: infusão 0,5 hora **Dose total:** 8g/dia **Regime:** 2g 6/6hs

PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	RESULTADO		VALORES DE REFERÊNCIA ^a
Pico (dose-dependente, infusão de 0,5 ^a h)	38	µg/mL	38-70µg/mL (2g infusão)
Vale (C_{min}^{SS})	27	µg/mL	2-16µg/mL
Meia-vida biológica ($t_{1/2\beta}$)	10,8	horas	0,7-1,2horas
Clearance plasmático (Cl_T)	2,1	mL/min.kg	0,7-3,3 mL/min.kg
Volume de distribuição (Vd)	1,99	L/kg	0,23-0,37L/kg

Fontes: (a) SHEA *et al.*, Int.J.Antimicrobial Agents, 2009 (b) SANTOS *et al* , 2012
(b) Método Bioanalítico em Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV)

JUSTIFICATIVA: Farmacocinética da piperacilina está alterada meia-vida prolongada consequência do Vd aumentado.



Aplicação da ferramenta proposta PK/PD

- Piperacilina: infusão 0,5 hora **Dose total:** 8g/dia **Regime:** 2g 6/6hs

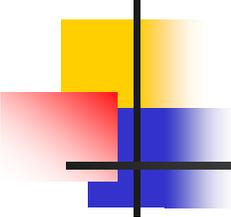
MODELAGEM PK-PD		RESULTADO
		Correlação in vitro/ in vivo
MICROORGANISMO	^c CIM	^b 70%ΔT>CIM
<i>Staphylococcus aureus (50%ΔT>CIM^b)</i>	2mg/L	>100% (778 %)
<i>E. coli, Klebsiella, Salmonella, Serratia</i>	8mg/L	>100% (597 %)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16mg/L	>100% (236 %)

Fontes - ^b KAYS *et al*, Pharmacotherapy, v. 19 (2), 1999) ^c Eucast, 2012 http://www.eucast.org/mic_distributions

Abreviaturas - (%ΔT): Fração do intervalo de dose (%) com concentração plasmática acima do CIM;
CIM: Concentração Inibitória Mínima.

^bPredição de eficácia: (%ΔT>CIM) : Tempo necessário para manter a concentração plasmática acima da CIM.

JUSTIFICATIVA: Com base no índice *in vivo-in vitro* como a paciente está protegida contra o agente isolado *E. coli e Klebsiella sp (CIM: 8mg/L Piperacilina/S*, com grande margem de garantia de eficácia antimicrobiana há necessidade de alterar o regime (redução dose diária) para evitar evento adverso grave (SNC).



Aplicação da ferramenta proposta PK

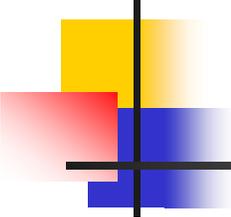
- Vancomicina: infusão 1 hora **Dose total: 2g/dia Regime:0,5g 6/6hs**

PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	RESULTADO		^{a,b} VALORES DE REFERÊNCIA
Pico (C_{max}^{ss}) 1 ^a hora	63	$\mu\text{g/mL}$	60-75 $\mu\text{g/mL}$ ^a (Dose 1g)
Pico (C_{max}^{ss}) 1 ^a hora			30-45 $\mu\text{g/mL}$ (dose 0,5g)
Vale (C_{min}^{ss}) 12 ^a hora	13,9	$\mu\text{g/mL}$	10- 20 $\mu\text{g/mL}$ ^a
Área sob a Curva (ASC ₀₋₂₄)	826	$\mu\text{g/mL.hora}$	Dose dependente
Meia-vida biológica ($t_{1/2\beta}$)	10,6	horas	4-6 horas ^b
Clearance plasmático (CL_T)	0,25	mL/min.kg	1,3 - 1,5 mL/min.kg ^b
Volume de distribuição (Vd)	0,23	L/kg	0,33 - 0,45L/kg ^b

Fontes: (a) Micromedex 2012; www.thomsonhc.com/hcs/librarian (b)Leader et al 1995; (c)Lopez *et al.* JCB, 2007).
(c) Método Bioanalítico em Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV).

JUSTIFICATIVA

Farmacocinética está alterada Vd e CL_T reduzidos justificado pela redução de perfusão e IRA.



Aplicação da ferramenta proposta PK/PD

- Vancomicina: infusão 1 hora **Dose total: 2g/dia Regime:0,5g 6/6hs**

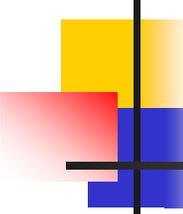
MODELAGEM PK-PD		Correlação in vivo/in vitro
MICROORGANISMO ^a	CIM ^a	Resultado ASC ^{ss} ₀₋₂₄ /CIM > 400 ^b
<i>Streptococcus ssp/ Staphylococcus capitis^a</i>	1 mg/L	826
<i>S. aureus (MRSA) Clostridium difficile</i>	2 mg/L	413
<i>Enterococcus faecalis Enteroc. faecium</i>	4 mg/L	<u>207</u>

Fontes: (a)Eucast (2012) http://www.eucast.org/mic_distributions; (b) Revilla *et. al.*(2010).

Abreviaturas: (ASC^{ss}₀₋₂₄): área sobre a curva concentração plasmática (0 - 24h); CIM: Concentração Inibitória Mínima

^b**Predição de eficácia:** razão ASC^{ss}₀₋₂₄: IM >400

JUSTIFICATIVA: Com base no índice *in vivo-in vitro* a paciente está protegida contra o agente isolado *Staphylococcus capitis* (CIM 1mg/L)Vanco/S, portanto não há necessidade de alterar o regime de dose prescrito pelo Intensivista.



Referências

- Dipiro J., Concepts in Clinical Pharmacokinetics, 2010.
- Eucast, 2012. <http://www.eucast.org/mic_distributions>
- Guia de Utilização de Antimicrobianos CCIH-HCFMUSP, 2012-14. <www.hcnet.usp.br>
- Herson *et al.*, Rev Bras Queimaduras 8(3):82-6, 2009.
- Kays *et al.*, Pharmacotherapy 19(12), 1999.
- Leader *et al.*, Clin. Pharmacokin. 28: 327-342, 1995.
- Micromedex, Inc., 2012; <www.thomsonhc.com/hcs/librarian>
- Revilla *et al.*, Br.J.Clin Pharmacol 70:201-212, 2010.
- Ristchel & Kearns, Handbook of Basic Pharmacokinetics, 2008.
- Rybak MJ., Am J. Med. 119 (6A):.S37-S44, 2006.
- Rybak *et al.*, Am J Health Syst. Pharm. 66: 887, 2009.
- Shea *et al.*, Intern J. of Antimicrobial Agents; 34:429-433, 2009.
- Souza *et al.* Rev. Bras. Queimaduras 8(3):87-90, 2009.