

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Diego Rodrigues Falci

**Toxicidade
de anfotericina B em diferentes
formulações**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2015**

Diego Rodrigues Falci

Toxicidade de anfotericina B em diferentes formulações

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Doutor

Orientador: Dr. Alessandro Comarú Pasqualotto

**Porto Alegre
2015**

Catálogo na Publicação

Falci, Diego Rodrigues

Toxicidade de anfotericina B em diferentes formulações
/ Diego Rodrigues Falci. -- 2015.

95 p. : il., tab. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências
da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em
Patologia, 2015.

Orientador(a): Alessandro Comarú Pasqualotto.

1. Anfotericina B. 2. Lesão Renal Aguda. 3. Anemia. 4.
Toxicidade. 5. Micoses. I. Título.

À minha filha, Alice de Castilhos Falci, e à minha esposa, Karina de Castilhos Falci, com muito amor e carinho, dedico todos os frutos do meu trabalho.

Agradecimentos

Às pessoas aqui mencionadas, que contribuíram significativamente para a conclusão desta etapa, meu muito obrigado.

Aos colegas e professores

Alessandro Comarú Pasqualotto

Airton Stein

Alexandre Prehn Zavascki

Renato Cassol Ferreira da Silva

Patrícia Reis Pereira

Franciane Bortolotti da Rosa

Marco Antônio da Silva Andrade

David Dowdy

Jill Adler-Moore

Com carinho, a todos os familiares e amigos, e em especial

Karina de Castilhos Falci

Alice de Castilhos Falci

Alexandre Rodrigues Falci

Angela Maria Rodrigues

Sergio José Mabilde Falci

Francisco Pereira Rodrigues

Marcelo Falci Rodrigues

Zilah Noely Mabilde Falci

Nicola Mathias Falci (*in memoriam*)

Cid Tubino Ferreira

Maristela Pasin

Ricardo de Castilhos

Alberto Cesar Moreira Mariz Pinto

Jordan Lopes dos Santos (*in memoriam*)

Sumário

1. Introdução.....	1
1.1 Anfotericina B.....	4
1.2 Formulações lipídicas de anfotericina B.....	6
1.2.1 Anfotericina B lipossomal.....	7
1.2.2 Anfotericina B complexo lipídico.....	11
1.3 Farmacocinética e farmacodinâmica.....	15
1.4 Efeitos adversos.....	20
1.4.1 Nefrotoxicidade.....	20
1.4.2 Toxicidade hematológica.....	28
1.5 Estudos comparativos entre as formulações lipídicas.....	32
1.6 Uso de anfotericina B em crianças.....	37
1.7 Farmacoeconomia.....	40
1.8 Referências bibliográficas.....	43
2 Objetivos.....	53
3 Artigos científicos.....	54
3.1 Artigo 1, publicado no periódico “ <i>Mycoses</i> ”.....	55
3.2 Artigo 2, publicado no periódico “ <i>Leukemia & Lymphoma</i> ”.....	64
3.3 Artigo 3, manuscrito submetido ao “ <i>Acta Paediatrica</i> ”.....	70
4 Considerações finais.....	82
5 Anexos.....	87

Lista de abreviaturas

AKIN	– <i>Acute Kidney Injury Network</i>
AIDS	– Síndrome da imunodeficiência adquirida
ABCD	– Anfotericina B dispersão coloidal
ABLC	– Anfotericina B complexo lipídico
AmB	– Anfotericina B
AUC	– Área sob a curva
CAD	– Domínio C-terminal de transativação
CMax	– Concentração de pico plasmático
CL	– Clearance
CTCAE	– <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
d-AmB	– Anfotericina B deoxicolato
DCE	– Depuração da creatinina endógena
DL	– Dose letal
DO	– Débito urinário
EC ₅₀	– Concentração 50% efetiva
EPO	– Eritropoietina
FDA	– Food and Drug Administration
FIH	– Inibidor do fator induzível por hipóxia
HIF	– Fator induzível por hipóxia
HDL	– Lipoproteína de alta densidade
IL-6	– Interleucina 6
KDIGO	– Kidney Disease: Improving Global Outcomes
L-AmB	– Anfotericina B lipossomal
LDL	– Lipoproteína de baixa densidade
MIC	– Concentração inibitória mínima
mRNA	– Ácido ribonucleico mensageiro
RhIGF-1 humano	– Fator de crescimento semelhante a insulina-1 recombinante humano
RIFLE	– <i>Risk, Injury, Failure, Loss of Function, End-stage renal disease</i>
TCTH	– Transplante de células-tronco hematopoiéticas
Th1	– Resposta imunitária do tipo T <i>helper</i> -1
TLR	– Receptores <i>Toll-like</i>
TNF- α	– Fator de necrose tumoral alfa
VD	– Volume de distribuição

Resumo

Introdução: O tratamento de infecções fúngicas com anfotericina B (AmB) está associado a efeitos adversos importantes, como nefrotoxicidade e toxicidade hematológica. Formulações lipídicas de AmB estão associadas a um risco menor de nefrotoxicidade. Há controvérsia sobre diferenças entre as duas formulações lipídicas de AmB disponíveis.

Objetivos: Avaliar a incidência de nefrotoxicidade, toxicidade hematológica e impacto clínico da ocorrência destes eventos em tratamentos com AmB nas diferentes formulações: anfotericina B deoxicolato (d-AmB), anfotericina lipossomal (L-AmB) e anfotericina B complexo lipídico (ABLC).

Material e Métodos: Estudo de coorte histórica (retrospectiva), realizado na Santa Casa de Porto Alegre. Foram incluídos pacientes com uso de alguma formulação lipídica de AmB entre 2003 e 2012, mais pacientes que utilizaram d-AmB, na razão de 3:1. Nefrotoxicidade foi determinada com o critério RIFLE modificado. Toxicidade hematológica foi determinada através dos critérios do CTCAE adaptados. Modelos de regressão logística foram elaborados para a avaliação de preditores de mortalidade, nefrotoxicidade e toxicidade hematológica.

Resultados: Foram incluídos 497 pacientes. Entre 431 pacientes acima de 12 anos (não-pediátricos), 236 utilizaram d-AmB, 105 L-AmB e 90 ABLC. A frequência de nefrotoxicidade grave foi de 11,5%, 2,4% e 7,2% para d-AmB, L-AmB e ABLC, respectivamente ($p=0,046$). Uso de L-AmB foi demonstrado como um fator protetor para nefrotoxicidade grave (OR 0,18;IC95%:0,03-0,64) como também para mortalidade (OR 0,56;IC95%:0,32-0,99). Entre os pacientes pediátricos, nefrotoxicidade grave ocorreu em 7,5% de pacientes com d-AmB. Na análise de toxicidade hematológica, o uso de L-AmB apresentou uma associação limítrofe com risco reduzido para anemia grave (OR 0,61;IC95%:0,32-1,11). Leucopenia grave foi associada com o uso de ABLC (OR 2,58;IC95%:1,05-6,21).

Conclusões: L-AmB foi associada com melhores desfechos do que outras formulações, incluindo nefrotoxicidade grave e mortalidade. Entre pacientes pediátricos foi observada uma frequência de nefrotoxicidade similar aos adultos. Toxicidade hematológica significativa foi demonstrada, com perfil de segurança mais favorável para L-AmB.

Palavras-chave: Anfotericina B, Lesão Renal Aguda, Anemia, Toxicidade, Micoses

1. Introdução

As infecções fúngicas sistêmicas representam um problema emergente na prática clínica atual. Sua incidência tem aumentado, principalmente com o uso intensivo de cateteres intravasculares, antibióticos de largo espectro, e com a frequência cada vez maior de condições associadas com imunossupressão, tais como transplantes, neoplasias com tratamento quimioterápico, e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). As infecções fúngicas sistêmicas associam-se a elevada morbi-mortalidade, a despeito de terapia antifúngica adequada (De Pauw e cols., 2008; Pappas e cols., 2010). O difícil diagnóstico e a mortalidade elevada associados às micoses sistêmicas acarretam na grande maioria das vezes na necessidade de tratamentos empíricos ou até mesmo profiláticos. A emergência de fungos incomuns, ou resistentes aos agentes antifúngicos pode complicar ainda mais esse cenário (Perfect e Schell, 1996; Lewis e cols., 2013).

Um levantamento recente que envolveu a participação de 183 hospitais nos Estados Unidos, avaliando a epidemiologia das infecções hospitalares, demonstrou a importância da infecção fúngica nesse contexto: *Candida* spp. foi a etiologia mais frequente das infecções primárias de corrente sanguínea, com uma estimativa de 15,000 casos/ano naquele país (Magill e cols., 2014), demonstrando a importância crescente da doença fúngica no âmbito da infecção hospitalar.

Felizmente, as opções para tratamento sistêmico das infecções fúngicas têm sido ampliadas de modo considerável nos últimos anos. A anfotericina B deoxicolato (d-AmB), considerada por muitos anos o padrão-

ouro para tratamento destas condições, tem sido progressivamente substituída por alternativas mais modernas e associadas a maior eficácia e/ou menor toxicidade, incluindo as formulações lipídicas de anfotericina B – anfotericina lipossomal (L-AmB), anfotericina em dispersão coloidal (ABCD) e anfotericina em complexo lipídico (ABLC), triazólicos de segunda geração (voriconazol e posaconazol), e equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina). Apesar da disponibilidade de novas drogas antifúngicas, d-AmB ainda exerce um papel importante na prática clínica (Lemke e cols., 2005; Kleinberg, 2006; Perfect e cols., 2010), particularmente em ambientes onde os recursos financeiros sejam limitados, como na maioria dos hospitais públicos brasileiros.

O principal efeito adverso associado ao uso de d-AmB é a nefrotoxicidade. Além da nefrotoxicidade, outros efeitos adversos como reações agudas infusionais, anemia, neutropenia, plaquetopenia e alterações de enzimas hepáticas estão descritos (Brandriss e cols., 1964; Chunn e cols., 1977; Chan e cols., 1982; Stein e Tolle, 1983; Deray, 2002; Lemke e cols., 2005; Berdichevski e cols., 2006; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009). Os efeitos adversos da d-AmB, especialmente a nefrotoxicidade, limitam seu uso de forma importante, pois trazem consequências significativas do ponto de vista de desfechos clínicos e custos hospitalares (Bates e cols., 2001; Ullmann e cols., 2006). As duas formulações lipídicas de anfotericina B disponíveis no Brasil (L-AmB e ABLC), proporcionam uma inequívoca redução na frequência de nefrotoxicidade, quando comparadas a d-AmB (Walsh e cols., 1998; Walsh e cols., 1999). Entretanto, não está totalmente claro na literatura a existência de vantagem de uma formulação lipídica em

relação a outra (Safdar e cols., 2010). Ainda está por ser esclarecida também, eventual vantagem de uma formulação em relação a outra em determinadas populações e situações clínicas específicas. Ademais, a real frequência de nefrotoxicidade por d-AmB não foi ainda demonstrada, em nosso país, com base em estudos prospectivos contemporâneos. Já na pediatria, não há consenso em relação a superioridade das formulações lipídicas e em geral estas estão sendo reservadas para pacientes não-neonatos com fatores de risco ou nefropatia prévia; em neonatos, a indicação de formulação lipídica de anfotericina B é ainda muito limitada (Bes e cols., 2014).

Considerando que as novas formulações lipídicas acarretam em investimento maior de recursos para sua aquisição, urge a necessidade de avaliar, em um cenário de vida real, suas vantagens e diferenças, principalmente no que tange a redução de toxicidade.

1.1 Anfotericina B

A anfotericina B (AmB) é um antimicrobiano da classe dos polienos, isolado pela primeira vez em 1955 a partir de culturas de *Streptomyces nodosus* obtidas no delta do rio Orinoco, na Venezuela (Lemke e cols., 2005; Kleinberg, 2006).

A baixa solubilidade é uma característica dos antimicrobianos polienos. A anfotericina é uma molécula anfipática (Figura 1), ou seja, possui uma região hidrofílica e uma região hidrofóbica, esta última que a torna insolúvel em meios aquosos. A solubilidade aquosa é adquirida através da formulação com o deoxicolato de sódio ou uma variedade de carreadores lipídicos (Mesa-Arango e cols., 2012). A AmB é, via de regra, administrada por via intravenosa, misturada com um agente solubilizante como o deoxicolato de sódio. Essa combinação de AmB com deoxicolato de sódio é a formulação mais utilizada na prática clínica para o tratamento de infecções fúngicas, desde 1958, especialmente em países em desenvolvimento (Lemke e cols., 2005; Kleinberg, 2006). AmB tem um amplo espectro de ação e eficácia demonstrada em candidíase, criptococose, aspergilose, histoplasmose, blastomicose, coccidiomicose, mucormicose, esporotricose, fusariose e outras feohifomicoses. Alguns fungos raros como *Trichosporon* spp., *Aspergillus terreus*, *Scedosporium* spp. e *Malassezia furfur* são intrinsecamente resistentes a AmB (Kleinberg, 2006). A AmB ainda é o pilar fundamental da terapia da criptococose disseminada, a doença fúngica com maior impacto em mortalidade no mundo, causando mais de 600,000 mortes por ano (Perfect e cols., 2010). Além de ser indispensável para o tratamento

das infecções fúngicas, é também um antimicrobiano importante para o tratamento da leishmaniose visceral e cutânea (Lemke e cols., 2005).

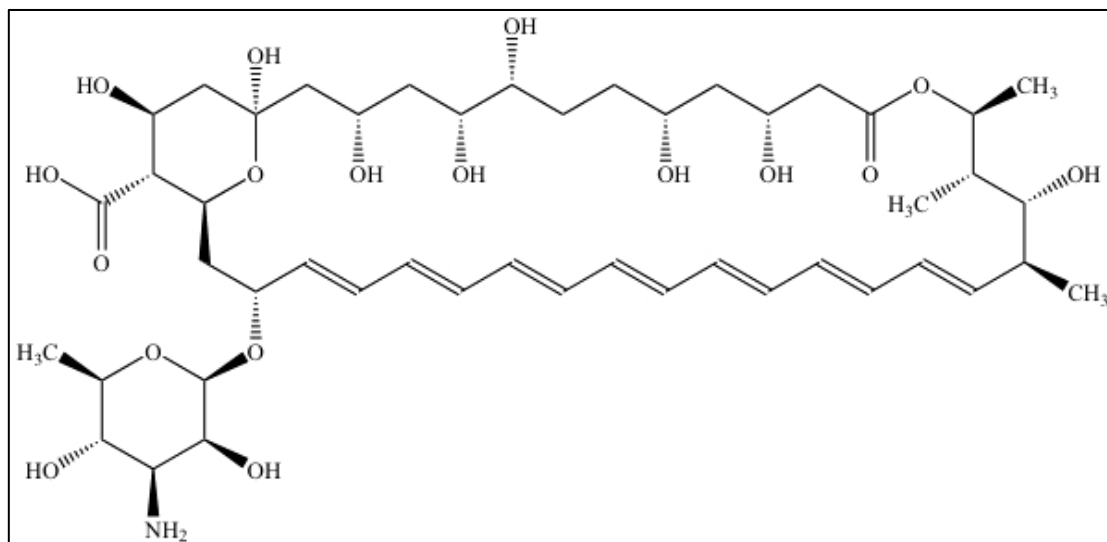


Figura 1. Estrutura molecular da anfotericina B.

O mecanismo de ação da AmB ainda não está completamente elucidado, mas pode ser dividido entre os efeitos diretos sobre a membrana celular e efeitos intracelulares de indução de estresse oxidativo (Mesa-Arango e cols., 2012). O efeito na membrana baseia-se na sua interação com o ergosterol, um esteróide essencial da membrana celular dos organismos fúngicos, e de alguns protozoários (gênero *Leishmania* e amebas) (Lemke e cols., 2005). A estrutura poliênica da molécula forma complexos com o ergosterol, causando a formação de poros na membrana que resultam na perda de sua integridade e rápido extravasamento de potássio e outros íons, causando a morte celular (Lemke e cols., 2005). O sequestro do ergosterol pelas moléculas de AmB também resulta em efeito tóxico para as células do patógeno, visto que o ergosterol é essencial para múltiplos processos celulares como endocitose, fusão de vacúolos e estabilização de proteínas da

membrana (Mesa-Arango e cols., 2012). A indução do estresse oxidativo é outro mecanismo de ação importante da AmB e também responsável pelo seu efeito antimicrobiano. Evidências iniciais já mostravam que o efeito sobre a membrana não parecia ser o único mecanismo pelo qual a molécula exercia suas propriedades farmacológicas. Têm sido cada vez mais demonstrado que a AmB induz o estresse oxidativo celular e o aumento na formação de radicais livres, evidenciado também pela expressão dos genes de *stress* celular, por mecanismos ainda não completamente conhecidos (Mesa-Arango e cols., 2012).

As anfotericinas apresentam também potente efeito imunomodulador, no entanto distinto entre as diferentes formulações. A d-AmB é um medicamento com ação pro-inflamatória (Ben-Ami e cols., 2008). As formulações lipídicas apresentam um efeito distinto e serão abordadas posteriormente. A d-AmB estimula a produção de citocinas inflamatórias, através do *toll-like receptor* (TLR)-2, promovendo a resposta imunitária do tipo T *helper*-1 (Th1). Isto leva à ativação de macrófagos e produção de superóxidos e óxido nítrico, melhorando a resposta do hospedeiro à infecção fúngica – entretanto, em um hospedeiro não-imunossuprimido, isso pode levar a uma exacerbação da resposta e piora no quadro clínico. Ainda, essa cascata inflamatória também é responsável pelas reações agudas infusionais, comumente vistas após a administração de d-AmB (Ben-Ami e cols., 2008; Mesa-Arango e cols., 2012). Outro efeito adverso importante da AmB é a nefrotoxicidade. O mecanismo pelo qual a AmB causa nefrotoxicidade é mediado principalmente a nível celular pela apoptose (Varlam e cols., 2001), e será aprofundado mais adiante nessa revisão.

1.2 Formulações lipídicas de anfotericina B

Com o objetivo de reduzir principalmente a nefrotoxicidade, buscou-se o desenvolvimento de formulações farmacêuticas inovadoras de AmB. Para alcançar somente os tecidos-alvo com máxima concentração e seletividade, a concentração sérica da droga livre deve ser mantida baixa. O interesse tecnológico focou-se no desenvolvimento de sistemas “carreadores”, coloidais ou através de partículas como lipossomos ou nanopartículas. Essas novas formulações de AmB combinadas a estes sistemas carreadores são coletivamente denominadas formulações lipídicas de anfotericina (Lemke e cols., 2005).

Existem hoje três formulações lipídicas disponíveis no mercado: *Ambisome*® é a anfotericina B lipossomal (L-AmB); *Abelcet*® é o complexo lipídico de anfotericina B (ABLCL); *Amphotec*® ou *Amphocil*® é a dispersão coloidal de anfotericina B (ABCD). As duas primeiras (L-AmB e ABLCL) são as mais utilizadas na prática clínica e disponíveis no mercado brasileiro, e serão abordadas nessa revisão.

1.2.1 Anfotericina B lipossomal

L-AmB é o nome da formulação na qual a anfotericina B está integrada a lipossomos unilamelares. Em conjunto com a molécula de AmB, L-AmB é composto por fosfatidilcolina de soja hidrogenada, distearoil fosfatidilglicerol e colesterol. Os componentes são fornecidos liofilizados como um pó e devem ser reconstituídos em água imediatamente antes do uso, produzindo lipossomos com um diâmetro médio de 60-70 nm. A estabilidade dos

lipossomos depende fundamentalmente da natureza dos fosfolipídios utilizados para a sua formação. Os componentes utilizados para a formação de L-AmB (fosfatidilcolina de soja hidrogenada, distearoil fosfatidilglicerol) tem elevada temperatura de transição, e foram utilizados por terem estabilidade a 37°C. O colesterol foi adicionado para proporcionar mais estabilidade na formulação e para manter a AmB dentro da bicamada do lipossomo, já que a AmB liga-se ao colesterol (Adler-Moore e Proffitt, 2002). Quando os lipossomos contendo AmB entram em contato com células fúngicas, a matriz lipossômica é degradada e a AmB é liberada para ligar-se preferencialmente ao ergosterol na membrana celular fúngica, levando a sua desintegração (Lemke e cols., 2005).

A nefrotoxicidade reduzida apresentada por L-AmB pode estar relacionada a diversos mecanismos. L-AmB, como outras formulações lipídicas, tem afinidade maior por lipoproteínas de alta densidade (HDL) do que lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Walsh e cols., 2001). A ligação às moléculas de HDL promove a captação pelo sistema reticulo-endotelial, que tem elevada expressão de receptores HDL (diferente do tecido renal, com expressão aumentada de receptores LDL). A captação preferencial de L-AmB pelos macrófagos hepáticos e esplênicos do sistema reticulo-endotelial e concentração renal baixa contribui para a redução da nefrotoxicidade e para a melhora do índice terapêutico de L-AmB, em comparação a d-AmB (Adler-Moore, 1994; Walsh e cols., 2001). Um outro potencial mecanismo para a redução de nefrotoxicidade é a difusão seletiva da AmB para as células fúngicas *versus* as células do hospedeiro (Adler-Moore, 1994; Walsh e cols., 2001). A liberação da AmB do veículo lipídico carreador, mediada

pelas fosfolipases fúngicas na membrana celular fúngica, aumenta ainda mais a especificidade hospedeiro-patógeno das formulações lipídicas de AmB (Walsh e cols., 2001).

As reações agudas infusionais ocorrem em menor frequência do que com d-AmB e não tem seu mecanismo fisiopatológico completamente elucidado. Diferentemente de d-AmB, que apresenta reações agudas infusionais mediadas por fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), L-AmB tem uma síndrome distinta, idiossincrásica, aparentemente mediada por histamina e possivelmente a fração C5a do complemento (Walsh e cols., 2001).

Estudos pré-clínicos e clínicos (fase I e II) indicaram que L-AmB foi bem tolerada e apresenta nefrotoxicidade reduzida em comparação a d-AmB (Adler-Moore e cols., 1991; Meunier e cols., 1991; Proffitt e cols., 1991; Lee e cols., 1994). Outras condições clínicas foram avaliadas, nos estudos iniciais com esta formulação, com eficácia comparável a d-AmB (Chopra e cols., 1991; Coker e cols., 1991; Croft e cols., 1991; Ringden e cols., 1991; Leenders e cols., 1998). A L-AmB despontou como uma alternativa com um índice terapêutico muito mais favorável do que d-AmB, o que a tornou particularmente promissora para o tratamento de condições graves como a aspergilose invasiva, histoplasmosse disseminada e também a leishmaniose visceral, onde concentrações maiores de anfotericina B são necessárias para o controle infeccioso (Johnson e cols., 2002; Bern e cols., 2006; Cornely e cols., 2007; Sundar e cols., 2010).

Neste contexto, Walsh *et al.* conduziram um ensaio clínico randomizado, multicêntrico, duplo-cego, comparando L-AmB e d-AmB, no

tratamento empírico de infecções fúngicas invasivas, em pacientes com neutropenia e febre persistente. Foram estudados 702 pacientes; destes, 343 receberam L-AmB e 344 receberam d-AmB. Os desfechos clínicos de sucesso do tratamento foram similares entre os dois grupos (50% e 49%, respectivamente). Em relação à mortalidade, resolução da febre e descontinuação da droga em razão de efeitos adversos ou falta de eficácia, os resultados também foram similares nos dois grupos. Houve menos infecções fúngicas de escape (infecção na vigência do anti-fúngico) entre os pacientes que receberam L-AmB (3,2%) do que os pacientes que receberam a d-AmB (7,9%). Houve diferença significativa quando analisadas as reações infusionais agudas, com o grupo que recebeu L-AmB apresentando menor incidência. Quanto à frequência de nefrotoxicidade, definida como um aumento da creatinina sérica de duas vezes o valor da normalidade, também se observou diferença significativa: apresentaram nefrotoxicidade 19% dos pacientes tratados com L-AmB, em comparação com 34% dos pacientes tratados com d-AmB ($p < 0,001$) (Walsh e cols., 1999). Os pacientes que receberam L-AmB apresentaram melhor sustentabilidade da função glomerular e tubular do que aqueles que receberam d-AmB, como evidenciado pelos índices menores de azotemia e hipocalcemia.

Esse importante ensaio clínico randomizado demonstrou similaridade entre os desfechos clínicos dos dois grupos de tratamento, L-AmB e d-AmB. Entretanto, a L-AmB foi mais efetiva em reduzir a frequência de infecções fúngicas de escape, reações infusionais agudas e nefrotoxicidade. O estudo estabeleceu claramente que a L-AmB apresenta menor toxicidade do que a d-AmB; o poder estatístico dessas observações é embasado pelo

monitoramento, prospectivo e duplo-cego, à beira do leito, de mais de 7000 infusões. Os benefícios de redução das reações agudas infusionais podem ser particularmente importantes para pacientes criticamente enfermos, que têm uma tolerância menor aos eventos cardiorrespiratórios que podem ocorrer nestas reações (Levine e cols., 1991; Walsh e cols., 1999).

A imunomodulação característica das anfotericinas ocorre de forma diferente nas formulações lipídicas e particularmente com L-AmB, tendo esta um efeito anti-inflamatório. L-AmB provoca *down-regulation* na expressão gênica de citocinas inflamatórias nos macrófagos, além de interagir com os receptores TLR-4 nos neutrófilos (diferentemente de d-AmB, que liga-se primariamente aos TLR-2 com efeito pró-inflamatório) (Ben-Ami e cols., 2008; Mesa-Arango e cols., 2012). Com essa mudança na sinalização de TLR-2 para TLR-4, L-AmB potencialmente estaria associado com um menor grau de inflamação durante a infecção fúngica, uma propriedade importante nos pacientes expostos a corticosteroides. A diferença no padrão de produção de citocinas pode explicar a chance menor de reações agudas infusionais com L-AmB. O efeito anti-inflamatório dessa formulação deve-se pelo menos parcialmente ao carreador (lipossomo) (Ben-Ami e cols., 2008).

1.2.2 Anfotericina B complexo lipídico

Anfotericina B complexo lipídico (ABLC) é composta por estruturas tipo fita, com um tamanho entre 1600 e 11000 μm , em uma razão molar 1:1 de AmB e fosfolipídios (uma mistura de dimistoril fosfaditilcolina e dimistoril fosfaditilglicerol, na razão de 7:3) (Janoff e cols., 1988; Adler-Moore e Proffitt,

2008). ABLC também foi desenvolvida com o intuito de reduzir a toxicidade e maximizar a utilidade da AmB para o tratamento de infecções.

A presença de fosfolipídios com carga iônica negativa (dimistóril fosfaditilglicerol) e carga iônica neutra (dimistóril fosfaditilcolina) ocasiona a redução da transferência dos lipídios (através da proteína transferidora de lipídios) de HDL para LDL, e é responsável pela distribuição maior de ABLC na fração HDL. Como resultado, acontece uma interação menor de ABLC com as células tubulares renais, por conta da escassez de receptores HDL naquele sítio, fenômeno que ocorre também com L-AmB (Hamill, 2013). Isso explica a seletividade maior destas preparações. Fosfolipases liberadas pelo tecido muscular liso dos vasos, em conjunto com fosfolipases de macrófagos e aquelas secretadas pelas células fúngicas infectantes, quebram os lipídios do complexo e liberam a AmB diretamente no foco da infecção (Wingard, 1997).

O efeito imunomodulador das formulações de AmB pode ser compreendido através da sua interação com os TLR. As formulações lipídicas, como já mencionado, estimulam predominantemente resposta TLR-4 – com efeito anti-inflamatório – diferentemente de d-AmB que interage com TLR-2, desencadeando uma potente resposta pró-inflamatória com liberação de citocinas inflamatórias e ativação de macrófagos (Ben-Ami e cols., 2008; Mesa-Arango e cols., 2012). Esses elementos estão na gênese das reações agudas infusionais observadas com as preparações de AmB. Apesar de ABLC *in vitro* confirmar essa resposta TLR-4, com *down-regulation* ou com ausência de efeito sobre a expressão gênica de citocinas inflamatórias em macrófagos, a experiência clínica não demonstrou uma redução na incidência

de reações agudas infusionais com essa formulação especificamente (Hamill, 2013).

Em uma avaliação clínica inicial de ABLC, logo após a sua aprovação pela agência de controle de medicamentos norte-americana (FDA) para casos de intolerância ou refratariedade à terapia com d-AmB, Walsh e colaboradores avaliaram 556 pacientes que receberam ABLC para infecção fúngica invasiva presumida ou comprovada. Todos os pacientes apresentavam algum dos seguintes critérios para inclusão no estudo: falha em um tratamento antifúngico prévio, incluindo d-AmB administrada em uma dose cumulativa de pelo menos 500 mg; ocorrência de nefrotoxicidade em tratamento antifúngico prévio; toxicidade aguda grave; nefropatia prévia contra-indicando o tratamento com d-AmB. A dose utilizada no estudo foi de 5 mg/kg/dia, mas podendo ser reduzida a critério dos investigadores. O achado interessante deste estudo é que a função renal dos pacientes avaliados melhorou durante o curso da terapia, alcançando significância estatística após a terceira semana. Essa melhora na função renal ocorreu principalmente naqueles pacientes incluídos no estudo por apresentarem nefropatia prévia ou intolerância a tratamento anterior com d-AmB. A taxa de resposta global (parcial ou completa) foi de 57% no estudo, variando bastante entre as diferentes infecções fúngicas observadas (Walsh e cols., 1998). Embora o estudo tenha apresentado limitações pelo seu delineamento, aberto e sem comparador, o mérito esteve em demonstrar um perfil de segurança superior a d-AmB (em relação a nefrotoxicidade) em uma série grande de pacientes.

Outro trabalho demonstrou nefrotoxicidade reduzida de ABLC, comparando a d-AmB em pacientes com candidemia. Em um estudo multicêntrico, 194 pacientes (129 com ABLC e 65 com d-AmB) foram arrolados. A dose utilizada de ABLC foi de 5 mg/kg/dia. Eficácia e eventos adversos não-renais foram equivalentes entre os grupos; ABLC foi significativamente menos nefrotóxico que d-AmB (49% vs. 28%; $p=0,006$) (Anaissie e cols., 1995).

A eficácia e segurança de ABLC em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas foram avaliadas em um estudo aberto, não-comparativo, que envolveu 95 pacientes (Wingard, 1997). Esse estudo confirmou os trabalhos anteriores (Anaissie e cols., 1995; Walsh e cols., 1998) em relação a um perfil favorável de ABLC em relação a nefrotoxicidade. Apenas dois pacientes descontinuaram o medicamento por conta de nefrotoxicidade; entretanto, 13% dos pacientes apresentaram uma elevação de 100% na creatinina sérica. De forma semelhante a um trabalho anterior (Walsh e cols., 1998), também foi observada uma melhora na função renal nos pacientes que iniciaram o estudo com creatinina alterada, da segunda semana de tratamento em diante (Wingard, 1997).

A comparação entre ABLC e d-AmB no tratamento da meningite criptocócica associada a AIDS foi estudada em um trabalho que envolveu 55 pacientes: 38 receberam ABLC e 17, d-AmB. Os pacientes que receberam ABLC foram divididos em três coortes, conforme a dose utilizada: 1,2 mg/kg/dia, 2,5 mg/kg/dia e 5 mg/kg/dia. Foram avaliados aspectos de eficácia clínica e segurança (nefrotoxicidade e toxicidade hematológica). Embora o estudo tenha apresentado limitações principalmente por diferenças pré-

tratamento, entre os grupos, pode-se concluir que ABLC foi igualmente eficaz e melhor tolerada que d-AmB, sendo a incidência de nefrotoxicidade menor com ABLC, conforme a dose utilizada (Sharkey e cols., 1996). A influência da dose de ABLC foi enfatizada em um outro trabalho que avaliou a utilização de 1 mg/kg/dia, e encontrou apenas 8% de nefrotoxicidade, comparado a 32% com d-AmB (Subira e cols., 2004). Ressalta-se, no entanto, que este estudo além de envolver um número pequeno de pacientes, arrolou pacientes com neutropenia febril e sem infecção fúngica comprovada o que pode levantar questionamentos sobre a eficácia desse regime de dosagem. Por outro lado, em um trabalho de farmacovigilância que incluiu 93 pacientes não foi encontrada qualquer correlação entre a dose utilizada (seja a dose diária prescrita ou a dose cumulativa recebida pelos pacientes) e a incidência de nefrotoxicidade (Aguado e cols., 2004).

Em uma revisão sistemática dos estudos que avaliaram ABLC concluiu-se de que este agente, na dose de 5 mg/kg/dia, é tão eficaz quanto d-AmB e menos tóxico. Uma incidência elevada de reações agudas infusionais é mencionada, mas diminuída em importância em razão de seu fácil manejo e baixa morbidade (Martino, 2004). Embora esteja bem documentado que L-AmB tenha uma incidência claramente menor de reações agudas infusionais do que d-AmB, o mesmo não foi demonstrado de forma inequívoca com ABLC, que parece estar no mesmo patamar do que d-AmB, em relação a este aspecto (Anaissie e cols., 1995; Wingard, 2002).

1.3 Farmacocinética e farmacodinâmica

A absorção gastrintestinal de AmB e conseqüentemente sua biodisponibilidade são mínimas. Alguns dados detalhados do metabolismo da AmB ainda não são totalmente conhecidos. Mesmo após 40 anos de uso clínico, o regime posológico de d-AmB ainda não está completamente definido, sendo indicado pelo fabricante a infusão diária de 2 a 6 horas. Quando a d-AmB é administrada e entra na corrente sanguínea, o deoxicolato separa-se prontamente da AmB. As moléculas de AmB então, ligam-se às lipoproteínas plasmáticas (acima de 95%) (Lewis e Wiederhold, 2003), divididas entre HDL e LDL. Inicialmente, uma proporção liga-se a HDL, com uma subsequente compensação para a LDL através da ação da proteína de transferência de colesterol esterificado ou proteína de transferência lipídica (Hamill, 2013).

A maior parte do fármaco deixa a circulação sistêmica e é deslocada para o fígado e outros órgãos. As concentrações de AmB em áreas inflamadas, tais como peritônio, pleura e articulações são aproximadamente dois terços do nível sérico. A AmB penetra pouco nas meninges em seu estado normal ou com inflamação, como também no cérebro, saliva, secreções brônquicas, humor vítreo, líquido amniótico, músculo e ossos (Bindschadler e Bennett, 1969). Aproximadamente 20-30% da AmB é metabolizada no fígado e excretada com a bile nas fezes. Cerca de 2-5% da AmB encontrada na urina não foi metabolizada e permanece biologicamente ativa (Lemke e cols., 2005). Bekersky e colaboradores (2002) constataram que até dois terços de d-AmB são excretados inalterados na urina (20,6%) e fezes (42,5%), sugerindo que não há uma metabolização extensa do medicamento (Bekersky e cols., 2002).

Os estudos existentes classificam os polienos – AmB – como compostos concentração-dependentes (Andes, 2006). Entretanto há resultados conflitantes nestes estudos, como por exemplo a observação de ação antifúngica similar às primeiras horas e persistente após 24 horas de administração, o que pode refletir *in vivo* a difusão lenta nos tecidos destes compostos. Embora esteja estabelecido que a AmB claramente tem atividade concentração-dependente (Andes, 2006), existe provavelmente um efeito de teto da fração livre (bioativa) da droga, baseado na ligação às proteínas plasmáticas e solubilidade, o que poderia variar de acordo com o sítio da infecção em órgãos como os rins, pulmões, fígado e cérebro (Lewis e Wiederhold, 2003).

O objetivo farmacocinético de qualquer tratamento antifúngico é de atingir concentrações terapêuticas no sítio da infecção. Desta forma, devemos considerar além do medicamento, qual o fungo que está causando a infecção e aonde está localizada ou compartimentalizada. A maioria dos fungos patogênicos encontra-se no meio extracelular; logo a concentração sérica seria um marcador confiável para terapêutica adequada. Entretanto, em infecções compartimentalizadas como as do sistema nervoso central, tais como a meningoencefalite criptocócica, a concentração no parênquima cerebral pode ser mais importante. Estudos em animais demonstraram a penetração equiparável no parênquima cerebral de d-AmB em relação as outras formulações de AmB (Groll e cols., 2000; Andes, 2006). De fato, os tratamentos com d-AmB (1 mg/kg/dia) e L-AmB (5 mg/kg/dia) proporcionaram as maiores concentrações de pico plasmático (C_{Max}) e área sob a curva (AUC), em comparação as outras formulações de AmB (ABCD e ABLC). A d-

AmB e a L-AmB também apresentaram maior eficácia antifúngica (Groll e cols., 2000).

Estudos de farmacodinâmica mostraram que d-AmB exibe atividade espécie-específica e concentração-dependente, com concentrações 50% efetivas (EC_{50}) variando de 0,10 a 0,12 $\mu\text{g/ml}$ para *A. fumigatus*, 0,36 a 0,53 $\mu\text{g/ml}$ para *A. terreus*, 0,27 a ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ para *F. solani*, 0,41 a 0,55 $\mu\text{g/ml}$ para *F. oxysporum*, e 0,97 e 0,65 $\mu\text{g/ml}$ para *S. apiospermum* e *S. prolificans*, respectivamente (Lewis e cols., 2005; Wiederhold e cols., 2006). Em relação a *Candida albicans*, atividade otimizada similar de AmB pode ser atingida maximizando a relação concentração de pico sobre concentração inibitória mínima ($C_{\text{Max}}/\text{MIC}$). A d-AmB também demonstrou atividade inibitória do crescimento prolongada, dose-dependente, mesmo quando seus níveis caíram abaixo do MIC (Burgess e cols., 2000; Andes e cols., 2001).

As formulações lipídicas foram desenvolvidas com o intuito de aumentar o índice terapêutico da AmB, permitindo o uso de doses maiores para o tratamento das condições infecciosas. Essas formulações, estruturalmente diversas, diferem em termos de farmacocinética, assim como em relação a concentração tecidual, efeito microbiológico, e toxicidade. Na Tabela 1 podemos observar resumidamente as similaridades e diferenças entre as formulações de AmB, em relação a algumas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas (Adler-Moore e Proffitt, 2008).

Tabela 1. Características farmacológicas das formulações de AmB (Tiphine e cols., 1999; Groll e cols., 2000; Adler-Moore e Proffitt, 2008; Cifani e cols., 2012).

Característica	L-AmB	ABL C	d-AmB
Estrutura	Lipossomos esféricos, <0.080 nm	Complexos tipo fita, 1.6-11 nm	Estrutura micelar, 0-0.35 nm
Farmacocinética	(dose de 5 mg/kg)	(dose de 5 mg/kg)	(dose de 0.6 mg/kg)
	CMax = 83 mg/L	CMax = 1.7 mg/L	CMax = 1.1 mg/L
	AUC = 555 mg/L	AUC = 14 mg/L	AUC=17.1 mg/L
	Vd = 0.11 L/kg•h/mL	Vd = 131 L/kg•h/mL	Vd = 5.1 L/kg•h/mL
	Cl = 11 mg/L/h/kg	Cl = 436 mg/L/h/kg	Cl = 13.1 mg/L/h/kg
Toxicidade	DL ₅₀ murinos ≥ 175 mg/kg	DL ₅₀ murinos ≥ 40 mg/kg	DL ₅₀ murinos ≥ 4.5 mg/kg
	Doses múltiplas em ratos: 20 mg/kg = nefrotoxicidade	Doses múltiplas em ratos: 10 mg/kg = nefrotoxicidade	Doses múltiplas em ratos: 0.025 mg/kg = nefrotoxicidade
Modo de ação (carreador)	Direcionamento dos lipossomos a membrana celular fúngica com liberação de AmB dentro do fungo	Liberação de AmB dos complexos no local da infecção, possivelmente mediada por macrófagos e fosfolipases do hospedeiro	Liberação de AmB na corrente sanguínea
Concentração (em relação a d-AmB)			
Plasma	Maior	Menor	n/a
Pulmão	Igual	Maior	n/a
Fígado	Maior	Maior	n/a
Rins	Igual	Igual	n/a
Baço	Maior	Maior	n/a
Cérebro	Maior	Igual	n/a

1.4 Efeitos adversos

A toxicidade da AmB pode ser dividida em efeitos agudos (reações agudas infusionais) e sub-agudos (toxicidade renal, hematológica e hepática). Reações agudas infusionais são caracterizadas por sintomas como calafrios, febre, náuseas e vômitos, cefaléia, hipotensão, taquicardia e dispnéia, que ocorrem durante a administração de d-AmB. Tais reações frequentemente requerem atenção médica e uso de medicamentos, tais como dexclorfeniramina ou meperidina. As reações agudas infusionais relacionadas a administração de d-AmB estão relacionadas à liberação de TNF- α e IL-6. Já foram descritos casos de arritmias cardíacas graves durante a administração de AmB (Ellis e cols., 1992; Lemke e cols., 2005; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009). Estão descritos ainda outros efeitos adversos como anemia, neutropenia, plaquetopenia (a toxicidade hematológica será abordada adiante nessa revisão) e alterações de provas de função hepática (Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009).

1.4.1 Nefrotoxicidade

A nefrotoxicidade é um evento adverso da terapia com AmB bastante conhecido. A perda de função renal é uma complicação relativamente comum, assim como outros eventos tais hipocalcemia, hipomagnesemia, acidose metabólica devido a acidose tubular renal distal e poliúria devido a diabetes insipidus nefrogênico (Branch, 1988; Bates e cols., 2001; Deray, 2002).

A incidência de nefrotoxicidade pode chegar a níveis entre 49% e 65%; podendo chegar a perda significativa da função renal, com necessidade de diálise. Fatores de risco para toxicidade por d-AmB incluem sexo masculino, dose elevada do medicamento (acima de 35 mg/dia), uso concomitante de diuréticos ou drogas nefrotóxicas, peso corporal acima de 90 kg e função renal anormal no *baseline* (Bates e cols., 2001; Harbarth e cols., 2001; Deray, 2002; Pasqualotto, 2008; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009). A diálise como consequência da perda de função renal foi claramente associada com aumento na mortalidade (Bates e cols., 2001; Ullmann e cols., 2006).

A fisiopatologia da nefrotoxicidade parece envolver dois mecanismos principais: vasoconstrição grave, diminuindo o fluxo sanguíneo renal e conseqüentemente o grau de filtração glomerular (GFR); e uma interação direta da d-AmB com as membranas das células epiteliais do rim, causando disfunção tubular. Esses dois mecanismos conjuntamente determinam a perda de função renal (Deray, 2002; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009). Os dois mecanismos interagem em um *feedback* tubuloglomerular, no qual a concentração baixa de sódio na mácula densa, causada pela disfunção tubular proximal, aumenta a vasoconstrição aferente, reduzindo ainda mais o fluxo sanguíneo renal (Berdichevski e cols., 2006; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009).

Já foi demonstrado que a nefrotoxicidade causada pela AmB é mediada, a nível celular, pelo mecanismo da apoptose. Em um experimento realizado na Alemanha por Varlam e colaboradores, foi estudada a apoptose e sua relação com a nefrotoxicidade pela AmB, em culturas de células e

modelos animais. As células do túbulo proximal e células do interstício da medula renal responderam com apoptose a partir de doses terapêuticas de AmB. A aplicação concomitante de fator de crescimento semelhante a insulina-1 recombinante humano (rhIGF-1) foi capaz de inibir essa apoptose *in vitro*. No modelo animal (ratos Sprague-Dawley) utilizado para verificação, quando da aplicação isolada de AmB, estes apresentaram desidratação (evidenciada por gravidade específica mais baixa da urina) e hipocalcemia, diferentemente de controles. Na aplicação de AmB em conjunto com rhIGF-1, não houve desidratação e hipocalcemia nos ratos, da mesma forma do que controles não-tratados. Em resumo, o estudo provém evidência de que a apoptose está envolvida diretamente com o processo de nefrotoxicidade associada ao tratamento com AmB, de forma dose-dependente, e que a incidência da apoptose está correlacionada aos sinais e sintomas de nefrotoxicidade (Varlam e cols., 2001). Entretanto, em outro estudo mais recente onde foi comparada a nefrotoxicidade de AmB e caspofungina utilizando também ensaios *in vitro*, não se observou efeito apoptótico com AmB, muito embora tenha sido evidenciado dano celular significativo (e mais pronunciado que caspofungina), causado pela AmB (Wegner e cols., 2005).

Em uma parcela significativa dos pacientes, d-AmB induz outras alterações: hipocalcemia, hipomagnesemia, acidose tubular renal e poliúria devido a diabetes insipidus nefrogênico. Esses efeitos tóxicos devem-se tanto a molécula de AmB em si, mediados pela formação de poros nas células da membrana, como também pelo deoxicolato (Zager e cols., 1992). A hipocalcemia decorre desse aumento da permeabilidade da membrana e acaba por alterar o gradiente de íons existente entre a luz e o citoplasma das

células tubulares, prejudicando também a excreção de íons de hidrogênio e causando consequente acidose tubular distal. A hipocalcemia é uma complicação frequente da terapia com d-AmB, que pode levar a necessidade de suplementação diária de potássio para a manutenção dos níveis séricos deste íon. A perda de magnésio e hipomagnesemia também é ocasionada por essa toxicidade tubular direta. O dano preferencial as células tubulares renais parece ser explicado pela sua exposição a baixo pH da urina, condição na qual a citotoxicidade é maior e os mecanismos de reparação da membrana ficam comprometidos (Walev e Bhakdi, 1996).

A maior afinidade da d-AmB pelas lipoproteínas do tipo LDL pode explicar a maior nefrotoxicidade observada com essa formulação, em comparação as formulações lipídicas cuja afinidade maior é com HDL (Walsh e cols., 2001). Os receptores LDL tem uma expressão maior nas células endoteliais do glomérulo renal e consequentemente a concentração nos rins de d-AmB é maior do que as formulações lipídicas (Walsh e cols., 2001).

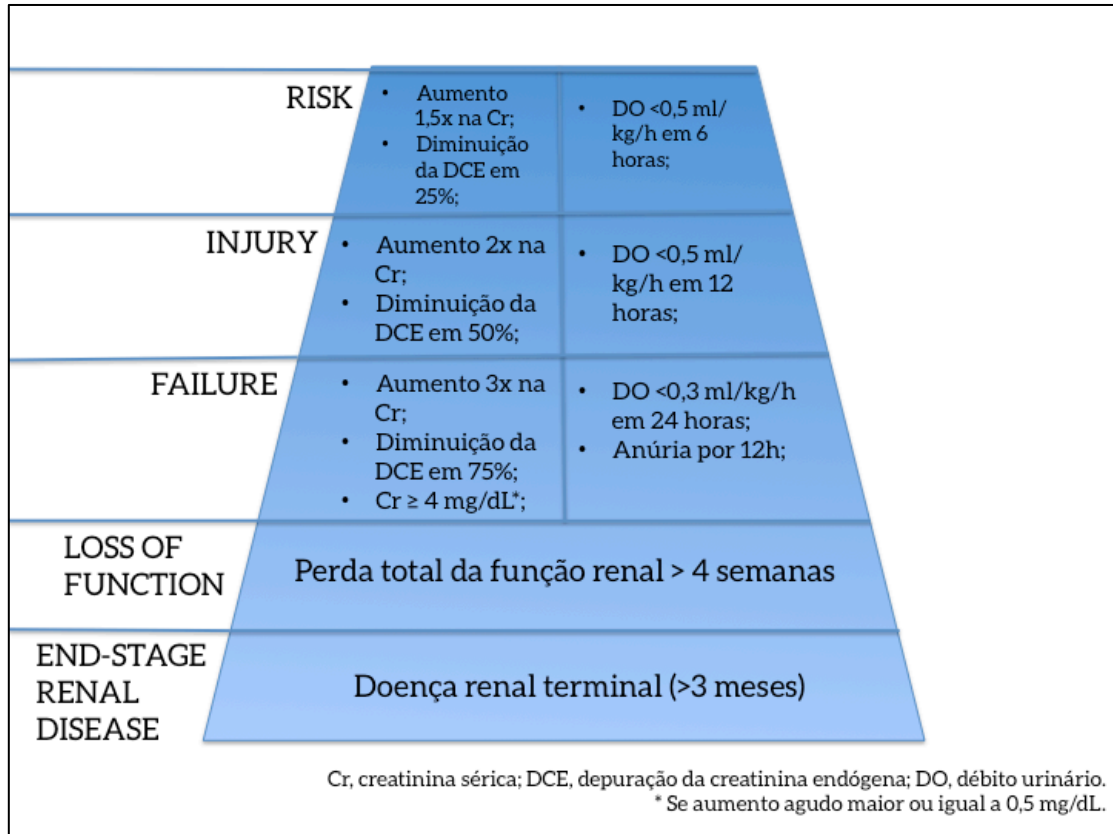
Para a detecção da nefrotoxicidade, é necessária a vigilância clínica para seus sinais. Na azotemia causada pela d-AmB caracteriza-se o aumento progressivo da creatinina sérica. É usualmente reversível com a suspensão do medicamento; no entanto, em doses cumulativas maiores (acima de 4 g), pode ser irreversível. As definições de nefrotoxicidade podem variar bastante, mas um aumento de 25% na creatinina sérica já pode ser considerado como nefrotoxicidade (Deray, 2002). É importante salientar que o aumento isolado da creatinina, utilizado na quase totalidade dos estudos que avaliaram a nefrotoxicidade da anfotericina, é uma definição de nefrotoxicidade não padronizada e nem validada. Fatores extra-renais como massa muscular,

volume de distribuição da creatinina, produção endógena da creatinina e função hepática podem alterar significativamente a creatinina sérica em pacientes gravemente enfermos, e dessa forma muita cautela deve ser empregada na interpretação de valores isolados de creatinina sérica como um marcador de lesão renal aguda (Venkataraman e Kellum, 2007).

Dispõe-se na atualidade de critérios objetivos para a definição de nefrotoxicidade, elaborados por grupos de especialidades que estudaram a lesão renal aguda (Venkataraman e Kellum, 2007; Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group, 2012). O critério RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss of function, Endstage renal disease*), ilustrado na Figura 2, é a definição mais precisa de nefrotoxicidade na literatura (Fujii e cols., 2014). É um critério já validado para a determinação da incidência de insuficiência renal aguda e de sua estratificação prognóstica em diversas situações clínicas, estando correlacionado com desfechos clínicos duros como mortalidade. O critério AKIN (*Acute Kidney Injury Network*) é uma variação do critério RIFLE, e compartilha de muitas de suas vantagens e limitações (Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group, 2012). Entretanto, o critério AKIN não permite a detecção da lesão renal aguda quando a elevação da creatinina ocorre em um espaço de tempo superior a 48 h. Além disso, o estágio 3 do critério AKIN inclui entre seus critérios diagnósticos, além da creatinina sérica acima de 4mg/dL ou aumento acima de 300% da creatinina basal, o início de diálise; a extrema variabilidade no limiar para início e término de terapia dialítica, assim como na sua modalidade e dose, entre diferentes médicos, hospitais e países, limita sobremaneira a acuidade

prognóstica dessa classificação, particularmente para pacientes nesse estágio (AKIN 3) (Srisawat e Kellum, 2011). A utilização desses critérios nos estudos clínicos é recente, mas tem sido crescente em vários trabalhos onde é mensurada incidência de lesão renal aguda, associada ou não a alguma intervenção terapêutica ou diagnóstica. Adaptações dos critérios como a utilização do RIFLE sem a informação do débito urinário podem ser utilizadas em determinadas situações (por exemplo, estudos retrospectivos) e já foram validadas em ensaios clínicos envolvendo grande número de pacientes (Uchino e cols., 2006; Ostermann e Chang, 2007).

Figura 2. Critério RIFLE (Bellomo e cols., 2004) de estadiamento de insuficiência renal aguda.



A ocorrência de nefrotoxicidade em pacientes tratados com d-AmB pode resultar em prolongamento da hospitalização, aumento de custos relacionados aos cuidados do paciente, além de elevar o risco de óbito. Em uma análise conduzida por Bates e colegas, em 707 admissões de pacientes tratados com AmB, a insuficiência renal relacionada ao tratamento levou a um aumento em média de 8,2 dias no tempo de hospitalização e de US\$ 29.823 nos gastos por paciente; além disso, a mortalidade foi mais elevada no grupo de pacientes que desenvolveu insuficiência renal: 54% *versus* 16% no grupo sem disfunção renal. Doses cumulativas mais elevadas de d-AmB foram associadas com chance maior de desenvolver disfunção renal. Nesse

estudo, retrospectivo, não houve registros da frequência de uso de medidas nefroprotetoras, como infusão salina ou, ainda, informações sobre a velocidade de infusão utilizada (Bates e cols., 2001). Uma coorte prospectiva com dados de pacientes de 20 hospitais diferentes na Europa avaliou os efeitos da nefrotoxicidade associada ao tratamento com anfotericinas sobre os desfechos clínicos, em especial sobre o tempo de hospitalização. Os pacientes que desenvolveram insuficiência renal na coorte permaneceram em média 9 dias a mais no hospital do que o grupo que não apresentou nefrotoxicidade associada ao tratamento com AmB; nefrotoxicidade grave também foi associada a maior mortalidade, neste trabalho (Ullmann e cols., 2006). O uso de d-AmB com *switch* para formulação lipídica (ABL ou L-AmB) foi comparado ao uso de formulação lipídica somente, em um trabalho retrospectivo que envolveu 408 pacientes. A chance de desenvolver nefrotoxicidade foi 5,69 vezes maior no grupo que fez a terapêutica sequencial d-AmB e anfotericina formulação lipídica, comparado ao grupo que usou somente formulação lipídica. Esses pacientes também permaneceram internados por um período maior no hospital após a terapêutica com anfotericina ($p < 0,001$) (Wade e cols., 2013).

A infusão contínua de AmB pode ser uma estratégia para diminuir a nefrotoxicidade associada ao uso do medicamento. Está bem documentada a experiência com infusão contínua de d-AmB em pacientes com neutropenia febril, com redução da incidência de nefrotoxicidade associada ao tratamento (Falci e cols., 2011). Entretanto, o pequeno número de pacientes avaliados em relação à eficácia desta intervenção (ou seja, com infecção fúngica

comprovada) faz com que cautela seja recomendada quanto à sua utilização em larga escala na prática clínica (Falci e cols., 2010; Falci e cols., 2011).

A infusão de um litro de infusão salina por dia, nos pacientes que suportam tal carga hídrica, já está incorporada às práticas clínicas usuais como uma forma de reduzir a nefrotoxicidade associada ao uso de anfotericina B (Branch, 1988; Laniado-Laborin e Cabrales-Vargas, 2009).

1.4.2 Toxicidade hematológica

Desde os primeiros anos de uso clínico de d-AmB, está bem descrita a ocorrência de anemia, associada a este tratamento (Brandriss e cols., 1964). Este efeito adverso é muito comum, estimando-se que ocorra em até 24% de todos os pacientes tratados; em pacientes que fazem uso da droga por mais de 30 dias, a anemia ocorre em mais de 95% destes (Lin e cols., 1990). Em um dos primeiros trabalhos sobre o tema, Brandriss e colegas observaram uma queda de pelo menos 11 pontos no hematócrito em 75% dos pacientes; em 35% desses, foi necessária uma transfusão sanguínea (Brandriss e cols., 1964). A anemia poderia influenciar negativamente nos desfechos clínicos, assim como levar a um dispêndio maior de recursos – incluindo-se aí monitorização laboratorial, prolongamento do tempo de hospitalização, e uso de hemoderivados. Ainda não há evidências consistentes na literatura sobre as consequências clínicas da anemia induzida pela AmB (tanto na formulação deoxicolato como nas formulações lipídicas), assim como dos custos associados.

Outras alterações hematológicas, como leucopenia e plaquetopenia, também estão descritas. Entretanto, as alterações da série branca e

plaquetária parecem ser mais raras, com impacto clínico ainda a ser determinado. A literatura é ainda muito escassa em relação a evidências nesse sentido; um estudo japonês recente encontrou frequência significativa de trombocitopenia associada a doses mais elevadas de L-AmB (Stein e Tolle, 1983; Shigemi e cols., 2011).

A anemia caracteriza-se por ser normocrômica e normocítica, e o número de reticulócitos abaixo do valor normal. Postulou-se inicialmente que a anemia (traduzida pela queda no hematócrito/hemoglobina) seria decorrente de hemólise, ou ainda de um estado de deficiência de ferro, induzidos pelo tratamento com AmB. Os estudos iniciais refutaram essas hipóteses, com a caracterização da anemia como normocrômica, normocítica e com reticulócitos baixos (o que torna improvável a deficiência de ferro), a demonstração de que a terapia com AmB não aumenta a hemólise (já presente em pacientes com infecções fúngicas) e a não-detecção do aumento da eritropoietina quando do nadir da hemoglobina (Brandriss e cols., 1964; Lin e cols., 1990). A partir dessas observações, ficou mais evidente que a anemia associada a anfotericina B estaria associada com um distúrbio na produção de eritropoietina (EPO). Embora isso pudesse estar relacionado a nefrotoxicidade, já que a EPO é produzida pelos rins, os autores desses primeiros trabalhos não encontraram relação entre a diminuição da EPO e a insuficiência renal (Brandriss e cols., 1964; MacGregor e cols., 1978).

Com um conhecimento maior sobre a EPO e seu metabolismo, evidenciou-se que esta é produzida nas células tubulares do rim. Mais especificamente, estudos de hibridização detectaram o ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) da EPO nas células fibroblásticas do interstício celular

próximo aos túbulos proximais do rim. O mRNA da EPO também foi encontrado nas células epiteliais, dos túbulos renais proximais (Yeo e cols., 2006).

O mecanismo exato da supressão da produção de EPO pela AmB ainda não foi completamente esclarecido. Foi investigada a possibilidade de que AmB possa ter um efeito inibidor sobre o fator induzível por hipóxia (HIF-1), um conhecido fator de transcrição chave e regulador da produção de EPO. Nesse experimento, AmB inativou a atividade de transcrição de HIF-1, promovendo a interação do domínio C-terminal de transativação (CAD) de HIF-1 α e o fator inibidor de HIF-1 (FIH), e bloqueando o recrutamento do co-ativador p300 pelo CAD – resultando em uma forte inibição da transcrição do gene da EPO. Os níveis de mRNA de EPO foram marcadamente diminuídos pelo tratamento com AmB, tanto em cultura de células, quanto em rins de ratos. Da mesma forma que nos estudos anteriores, não se confirmou que a nefrotoxicidade estava associada a diminuição na produção de EPO, tendo sido demonstrada a sua supressão mesmo em rins sem alterações microscópicas ou apoptose. O acúmulo da AmB nos rins, e principalmente sua reabsorção pelos túbulos proximais por sua característica hidrofóbica, corroboram o racional de que esse efeito tóxico ocorra a nível molecular nas células produtoras de EPO, impedindo a expressão de mRNA de EPO em resposta a hipóxia (Yeo e cols., 2006).

Em relação a série branca, foi demonstrado que AmB é tóxica aos neutrófilos *in vitro*; essa toxicidade é revertida pela presença de colesterol LDL (Chunn e cols., 1977). Essa constatação pode ser explicada pela afinidade maior da AmB pelo ergosterol, componente da membrana celular

fúngica, do que pelo colesterol. Permanece obscuro o mecanismo pelo qual a droga possa causar trombocitopenia.

Alguns estudos clínicos documentaram a anemia provocada pela terapia com AmB em diferentes cenários. Joly e colegas, em um estudo em 1996, quando da avaliação do *Intralipid* – uma combinação de AmB com lipídios em desuso atualmente, chamou a atenção da ocorrência de anemia. Ocorreram quedas significativas da hemoglobina tanto no grupo do *Intralipid* quando no grupo deoxicolato, embora esse decréscimo tenha sido maior ($p=0,033$) no grupo no *Intralipid* (11,2 g/dL no dia 0 para 7,9 g/dL no dia 42) (Joly e cols., 1996). Sharkey descreveu, em uma comparação de ABLC com d-AmB para o tratamento de meningite criptocócica em pacientes com AIDS, maior frequência de anemia em sujeitos que receberam a formulação com deoxicolato ($p<0,05$). Da mesma forma, pacientes que utilizaram d-AmB foram significativamente mais submetidos a transfusão sanguínea (59% vs. 18%, $p<0,05$) do que os pacientes que receberam ABLC (Sharkey e cols., 1996). Em um estudo não-comparativo de d-AmB em infusão contínua para o tratamento de meningite criptocócica, observou-se uma queda significativa nos níveis médios de hemoglobina (de 11,49 g/dL para 7,92 g/dL), sendo que metade dos pacientes apresentou diminuições superiores a 3 g/dL (Falci e cols., 2010).

Shigemi e cols. realizaram uma análise de segurança de L-AmB, observando também parâmetros hematológicos em uma pequena coorte retrospectiva. Anemia pós-tratamento foi evidenciada em 10/21 (47,6%) pacientes. Já a trombocitopenia foi detectada em 11/19 (57,9%) dos pacientes. Nesse estudo, foi possível considerar a dose de L-AmB como um

preditor de anemia (OR 3,56; $p < 0,05$) e trombocitopenia (OR 10,01; $p < 0,05$), chamando-se a atenção para esses eventos quando do uso de doses acima de 3,3 mg/kg/dia e 3 mg/kg/dia, respectivamente (Shigemi e cols., 2011).

1.5 Estudos comparativos entre as formulações lipídicas

Poucos trabalhos efetuaram uma comparação direta, quanto a eficácia e segurança, entre as duas formulações lipídicas mais comumente utilizadas (L-AmB e ABLC). O primeiro estudo realizado com este fim, de Wingard e colaboradores, comparou o perfil de segurança entre essas duas formulações, especialmente no que concerne a reações infusionais agudas e nefrotoxicidade. Foram avaliados 244 pacientes com neutropenia febril, arrolados em três grupos: dois com L-AmB (nas doses de 3 mg/kg e 5 mg/kg) e outro com ABLC, na dose de 5 mg/kg. Foi definido como nefrotoxicidade um aumento da creatinina de ao menos 100%, em comparação com os valores basais. A exposição média à droga foi de 7,5-8,5 dias; uma parcela significativa de pacientes também recebia outras drogas nefrotóxicas. O uso de infusão salina foi permitido, mas não foi controlado. A frequência de reações infusionais agudas foi significativamente maior no grupo com ABLC do que nos outros dois grupos recebendo L-AmB, inclusive com maior uso de pré-medicação. Foi observada menor nefrotoxicidade nos pacientes utilizando L-AmB, com diferença significativa (14,1% vs. 14,8% vs. 42,3%; $p < 0,001$). Também foi observada uma frequência menor de descontinuação da droga por toxicidade nos grupos que utilizavam L-AmB (32% vs. 13%; $p = 0,01$). É importante ressaltar que o protocolo do estudo não previa diminuição ou interrupção de dose; todos os pacientes nos quais por algum

motivo as drogas em investigação não puderam ser administradas em dose plena foram considerados como tendo abandonado a terapia por toxicidade; isto diferiu de outros trabalhos, onde a dose do medicamento poderia ser suspensa, ou mesmo reduzida (Wingard e cols., 2000).

A maioria dos estudos comparando as formulações lipídicas foram observacionais e retrospectivos. O único ensaio clínico randomizado, além do estudo de Wingard citado acima, foi conduzido por Fleming e colaboradores, no MD Anderson Cancer Center (EUA). Este trabalho, que envolveu um número bastante inferior de pacientes, todos com leucemia (n=82; 43 pacientes com ABLC e 39 com L-AmB), definiu nefrotoxicidade como um aumento de 50% na creatinina. Foi encontrada uma frequência de nefrotoxicidade numericamente maior com ABLC do que com L-AmB (40% vs. 28%), entretanto sem significância estatística ($p=0,26$). A quase totalidade dos pacientes neste estava em uso de outros medicamentos nefrotóxicos (Fleming e cols., 2001). Os outros trabalhos, observacionais, apresentaram resultados conflitantes ou sem significância estatística. Cannon (Cannon e cols., 2001) e Mattiuzzi (Mattiuzzi e cols., 2004) demonstraram taxas maiores, porém não-significativas, de nefrotoxicidade com L-AmB. Salienta-se que nesse último estudo foi utilizada uma definição distinta de nefrotoxicidade (aumento de 50% na creatinina sérica). Outros dois estudos retrospectivos evidenciaram maior nefrotoxicidade com ABLC, também sem significância estatística (Malani e cols., 2005; Safdar e cols., 2010). Saliba e colaboradores, em um estudo prospectivo e observacional, com um número pequeno de pacientes, mas que envolveu também pacientes em terapia de resgate para aspergilose (ou seja, pacientes previamente expostos a outros

agentes antifúngicos), demonstrou uma tendência a maior nefrotoxicidade com ABLC (23,3% com ABLC vs. 7,1% com L-AmB; $p=0,067$) (Safdar e cols., 2010). Por fim, uma comparação retrospectiva entre as duas formulações, que incluiu 158 pacientes, também demonstrou uma taxa maior de nefrotoxicidade entre os pacientes que receberam ABLC, em comparação a L-AmB (21,2% vs. 2,8%; $p<0,001$) (Hachem e cols., 2008).

Safdar e colaboradores publicaram recentemente uma meta-análise que procurou avaliar especificamente a nefrotoxicidade de duas formulações lipídicas de anfotericina B, ABLC e L-AmB. Foram incluídos 8 trabalhos nesta meta-análise. O estudo relata inicialmente em separado os resultados de cada trabalho que comparou as duas formulações lipídicas de anfotericina B; após, busca analisá-los em conjunto, utilizando ferramentas estatísticas específicas. A análise de todos os 8 trabalhos ($n=1160$ pacientes) mostrou uma probabilidade maior de disfunção renal no grupo que recebeu ABLC: razão de chances (OR) 1,75 e risco relativo (RR) 1,55. No entanto, uma significativa heterogeneidade foi observada entre os estudos. Ao se realizar análises adicionais, que incluíram uma amostra de pacientes em terapia de resgate do estudo de Hachem e cols., além de um subgrupo de pacientes do trabalho de Saliba e cols. que receberam tratamento por ao menos 10 dias, ABLC manteve-se mais nefrotóxico que L-AmB, com discreta diminuição do OR e do RR. Novamente, os testes estatísticos mostraram falta de homogeneidade, sugerindo que os resultados deveriam ser interpretados com cautela (Safdar e cols., 2010). Procederam-se então novas análises, desta vez excluindo-se um estudo a cada vez. Foi observado que, excluindo-se o trabalho de Wingard e cols., a probabilidade de nefrotoxicidade era

similar entre os pacientes tratados com ABLC (n=510), *versus* aqueles tratados com L-AmB (n=406); os 7 estudos incluídos nessa subanálise ainda não apresentavam homogeneidade pelo teste de Breslow-Day. Utilizando-se a população de pacientes em tratamento de resgate do estudo de Hachem e cols., permanecia a ausência de diferença em relação a nefrotoxicidade, com ligeiro aumento na homogeneidade entre os estudos (Safdar e cols., 2010). Uma análise posterior, ainda excluindo o estudo de Wingard e cols., adicionando a população de pacientes tratados por 10 dias no trabalho de Saliba, continuou demonstrando a ausência de diferença em relação a nefrotoxicidade entre as duas formulações, embora ainda com ausência de homogeneidade entre os estudos. A mesma análise, realizada com os pacientes do estudo de Saliba e com a população de pacientes em resgate do trabalho de Hachem também não demonstrou diferença significativa na probabilidade de nefrotoxicidade entre as duas formulações (n=807; OR 1,02; RR 1,02) – desta vez, com presença de homogeneidade entre os estudos (teste de heterogeneidade: p=0,143) (Safdar e cols., 2010). O estudo, com sua metodologia passível de crítica, termina por concluir que ABLC e L-AmB são comparáveis em termos de eficácia e segurança, reaquecendo a importância do tema na literatura.

Uma comparação mais recente entre as duas formulações partiu da análise de dados de uma rede de 150 hospitais, gerando dados sobre 327 pacientes (105 com L-AmB e 222 com ABLC). A nefrotoxicidade (definida como um aumento de 100% do valor da creatinina basal) foi associada independentemente com o uso de ABLC (OR 3,48; CI 95%: 1,05-11,52) (Wade e cols., 2013).

Está bem documentada na literatura a redução na toxicidade com o uso das formulações lipídicas de anfotericina B, como já descrito anteriormente. Diferenças entre as mesmas, no âmbito da nefrotoxicidade, têm sido motivo de intenso debate na comunidade científica. Na meta-análise de Safdar, demonstrou-se a ausência de diferença entre as formulações; salientamos a exclusão do estudo de Wingard, que observou esta diferença de forma significativa. Não está claro o motivo desta diferença observada e de sua magnitude. Aventa-se a possibilidade de diferenças no conceito de nefrotoxicidade utilizado ou, ainda, por ter sido a avaliação da função renal feita, neste estudo, somente até o sétimo dia de tratamento. Em relação a isto, é importante ressaltar um trabalho de Walsh com ABLC, onde a função renal, após um declínio inicial na primeira semana, mostrou recuperação nas semanas seguintes de tratamento. Desta forma, é possível que a análise de Wingard tenha detectado somente esta piora inicial da função renal com ABLC, potencialmente levando a um pior desempenho da droga no que diz respeito ao risco de nefrotoxicidade (Walsh e cols., 1998; Wingard e cols., 2000; Safdar e cols., 2010). Por outro lado, um estudo observacional recente envolvendo um grande número de pacientes, que utilizou o mesmo conceito de nefrotoxicidade ao apresentado na metanálise, evidenciou um risco claramente maior de nefrotoxicidade com ABLC em comparação a L-AmB, conforme já mencionado anteriormente nessa revisão (Wade e cols., 2013).

1.6 Uso de anfotericina B em crianças

Existem variações importantes entre adultos e crianças em relação a aspectos de farmacocinética e farmacodinâmica de antifúngicos. Estas

variações implicam em considerações importantes quanto a escolha da classe e regime de administração nos pacientes pediátricos (Blyth e cols., 2010). Embora a evidência seja amplamente disponível para adultos, há limitações no conhecimento sobre o agente ideal para o tratamento de infecções fúngicas invasivas em crianças.

A nefrotoxicidade associada ao tratamento com d-AmB na pediatria ainda é uma questão não completamente esclarecida. Em comparação aos adultos, as crianças tendem a tolerar melhor d-AmB. A incidência de nefrotoxicidade varia entre 15,0% e 55,0%, de forma semelhante aos adultos. Entretanto, a lesão renal reportada em crianças é menos grave, com menor consequência clínica imediata e esperada reversibilidade após a suspensão do tratamento com AmB (Prentice e cols., 1997; Goldman e cols., 2007; Bes e cols., 2014). Embora não existam estudos que tenham avaliado a função renal a longo prazo em pacientes pediátricos que receberam tratamento com AmB (Bes e cols., 2014), considera-se que a nefrotoxicidade ocorrendo nos primeiros anos de vida pode impactar o bem-estar a longo prazo das crianças (Goldman e Koren, 2004).

Postula-se que a menor nefrotoxicidade observada em crianças seja advinda de dois fatores: primeiro, a melhor hidratação e ingesta de sódio nos pacientes pediátricos (Turcu e cols., 2009); segundo, na pediatria os pacientes recebem com a mesma dose de d-AmB (1 mg/kg/dia) uma exposição menor ao medicamento: em um paciente de 50 kg, isso significa 34 mg/m²; uma criança de 8 kg recebe com essa dose 20 mg/m² (Bes e cols., 2014).

Mesmo dentro do universo de pacientes pediátricos há uma diferença clara em relação ao risco para nefrotoxicidade. Existe um consenso geral de que a nefrotoxicidade associada ao tratamento do AmB é menor em neonatos, sendo a d-AmB a formulação de escolha nesses pacientes; nos pacientes não-neonatos, a decisão de escolher uma formulação lipídica é considerada levando em conta fatores de risco para nefrotoxicidade e, evidentemente, custo e disponibilidade da formulação (Turkova e cols., 2011; Bes e cols., 2014). Uma preocupação em relação ao uso de formulações lipídicas em neonatos é justamente a menor concentração no tecido renal, considerando a incidência maior de lesões renais, ou no trato urinário, associadas a candidemia nessa população (Cetin e cols., 2005; Turkova e cols., 2011).

Comorbidades influenciam também no risco para nefrotoxicidade. Pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) são especialmente mais vulneráveis a ocorrência desta. A coadministração de AmB com outros medicamentos nefrotóxicos, tais como cisplatina e ciclofosfamida, pode aumentar o risco de nefrotoxicidade. Da mesma forma, nefropatia prévia, traduzida por níveis pré-tratamento anormais de creatinina sérica, estão associados com uma incidência maior de nefrotoxicidade (Goldman e Koren, 2004; Goldman e cols., 2007).

As comparações, quanto ao perfil de segurança entre as diferentes formulações, até o momento, apresentaram resultados contraditórios. Um estudo caso-controle que envolveu 138 pacientes demonstrou nefrotoxicidade menor com ABLC, em comparação a d-AmB (37,0% vs. 55,0%, $p=0,05$). Salienta-se que neste estudo, a nefrotoxicidade foi

rapidamente reversível, com resolução a níveis normais de creatinina, nas crianças que apresentaram nefrotoxicidade, em uma semana após a suspensão do tratamento (Dutta e Palazzi, 2012). Outros quatro estudos prospectivos e controlados apresentaram achados discordantes: Prentice (Prentice e cols., 1997) e Walsh (Walsh e cols., 1999) compararam d-AmB com L-AmB, não demonstrando diferença significativa entre as duas formulações, em relação a nefrotoxicidade; por outro lado, Sandler (Sandler e cols., 2000) e White (White e cols., 1998), que compararam d-AmB com ABCD evidenciaram menor toxicidade com esta última (52,4% vs. 12,0%; $p=0,003$, e 52,4% vs. 12,0%; $p<0,001$, respectivamente, nos dois estudos). É importante salientar que foi relatado uma incidência muito elevada (80,0%) de reações agudas infusionais com ABCD (Sandler e cols., 2000). A colaboração Cochrane elaborou uma revisão sistemática que incluiu esses quatro estudos. Concluiu-se, a partir da primeira meta-análise dentro deste tema somente com pacientes pediátricos que formulações lipídicas apresentam menor nefrotoxicidade do que d-AmB. Além disso, a análise do *pool* de pacientes dos estudos evidenciou que L-AmB está associada a um menor risco de reações agudas infusionais, em comparação a d-AmB; e que ABCD está associada a um risco maior de reações agudas infusionais, em comparação a d-AmB. Ainda quanto a nefrotoxicidade, os autores dessa revisão sistemática fazem a ressalva de que houve significativa heterogeneidade entre os estudos ($I^2=59\%$) (Blyth e cols., 2010). Pode-se observar também que a diferença pró-lipídicas vem fundamentalmente dos estudos com ABCD, justamente a formulação com risco consistentemente maior para reações agudas infusionais. Ainda, na maioria dos estudos não foi

controlada a ingestão de sódio, um fator que pode influenciar no risco para nefrotoxicidade, como já referido (Turcu e cols., 2009).

Dessa forma, não há consenso em relação ao benefício das formulações lipídicas (particularmente, L-AmB e ABLC) em pacientes pediátricos. Não existem dados de farmacoeconomia suficientes para justificar ou não, de uma forma generalizada, essas intervenções em crianças. Ainda, não há uma comparação ideal entre o uso de uma formulação lipídica e d-AmB em um ambiente de suplementação de sódio controlado e definições padronizadas de lesão renal aguda. Isso tudo leva para uma decisão caso-a-caso, onde fatores de risco como nefropatia prévia, uso de outros medicamentos nefrotóxicos, e idade (não-neonato X neonato), são decisivos para a escolha da formulação de AmB a ser utilizada no tratamento de infecções fúngicas invasivas.

1.7 Farmacoeconomia

Cabe salientar a diferença expressiva no custo de aquisição das diferentes formulações de anfotericina B: enquanto 1 ampola de 50 mg de anfotericina B deoxicolato custa aproximadamente R\$ 15, as formulações lipídicas tem um custo consideravelmente mais elevado, no patamar de R\$ 1000 a R\$ 1500 por 1 ampola de 50 mg de anfotericina B complexo lipídico ou anfotericina B lipossomal. Entretanto, o custo de aquisição dos fármacos é apenas uma fração dos custos hospitalares gerais, onde estarão integralizados os custos do prolongamento de hospitalização, cuidados e

procedimentos adicionais necessários quando da ocorrência de toxicidade, mensurada neste trabalho.

Desde o início do uso clínico das formulações lipídicas de AmB já existiu uma preocupação em relação ao custo das formulações, a despeito de suas vantagens em relação a d-AmB (Tollemar e Ringden, 1995; Spellberg e cols., 2004). Algumas análises farmacoeconômicas já foram desenvolvidas no sentido de avaliar a custo-efetividade das formulações de AmB, comparado a outros antifúngicos. Evidentemente esses trabalhos dependem do custo do medicamento em si, quanto dos custos adicionais referidos acima, o que pode variar sobremaneira entre hospitais e de uma forma ainda mais expressiva, entre diferentes países. Cagnoni e cols. (2000) demonstraram que L-AmB poderia ser mais custo-efetiva do que d-AmB se o preço por ampola com 50mg ficasse em torno de US\$ 100 (cerca de R\$ 300) (Cagnoni e cols., 2000). Considerando os preços praticados no mercado americano, um outro estudo (que avaliou três cenários diferentes de preço) demonstrou que ABLC seria mais custo-efetiva do que L-AmB (Kuti e cols., 2004).

Cenários específicos podem levar a superioridade de determinados medicamentos. Na aspergilose invasiva, voriconazol foi mais custo-efetivo do que L-AmB em pelo menos 2 estudos diferentes de farmacoeconomia (Luong e cols., 2013; Ostermann e cols., 2014), e mais custo-efetivo do que d-AmB em outro (Grau Cerrato e cols., 2005). Já no tratamento da neutropenia febril, os resultados são contraditórios em relação a comparação entre voriconazol e L-AmB (Collins e cols., 2007; Al-Badriyeh e cols., 2009; Turner e cols., 2013), mas o uso de uma equinocandina foi superior a L-AmB nesse aspecto

em todas as avaliações até o momento (Wingard e cols., 2007; Neoh e cols., 2013; Turner e cols., 2013).

1.8 Referências bibliográficas

- Adler-Moore J. AmBisome targeting to fungal infections. *Bone Marrow Transplant*. 1994;14 Suppl 5:S3-7.
- Adler-Moore J , Proffitt RT. AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. *J Antimicrob Chemother*. 2002;49 Suppl 1:21-30.
- Adler-Moore JP, Chiang SM, Satorius A, Guerra D, McAndrews B, McManus EJ, et al. Treatment of murine candidosis and cryptococcosis with a unilamellar liposomal amphotericin B formulation (AmBisome). *J Antimicrob Chemother*. 1991;28 Suppl B:63-71.
- Adler-Moore JP , Proffitt RT. Amphotericin B lipid preparations: what are the differences? *Clin Microbiol Infect*. 2008;14 Suppl 4:25-36.
- Aguado JM, Lumbreras C , Gonzalez-Vidal D. Assessment of nephrotoxicity in patients receiving amphotericin B lipid complex: a pharmacosurveillance study in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(9):785-790.
- Al-Badriyeh D, Liew D, Stewart K , Kong DC. Cost-effectiveness evaluation of voriconazole versus liposomal amphotericin B as empirical therapy for febrile neutropenia in Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(1):197-208.
- Anaissie E, White M , Uzun O. Amphotericin B lipid complex versus amphotericin B for treatment of invasive candidiasis: a prospective, randomized, multicenter trial [abstract LM21]. INTERSCIENCE CONFERENCE ON ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY (ICAAC) (1995), San Francisco, CA., American Society of Microbiology.
- Andes D. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antifungals. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20(3):679-697.
- Andes D, Stamsted T , Conklin R. Pharmacodynamics of amphotericin B in a neutropenic-mouse disseminated-candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(3):922-926.
- Bates DW, Su L, Yu DT, Chertow GM, Seger DL, Gomes DR, et al. Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clin Infect Dis*. 2001;32(5):686-693.
- Bates DW, Su L, Yu DT, Chertow GM, Seger DL, Gomes DR, et al. Correlates of acute renal failure in patients receiving parenteral amphotericin B. *Kidney Int*. 2001;60(4):1452-1459.
- Bekersky I, Fielding RM, Dressler DE, Lee JW, Buell DN , Walsh TJ. Pharmacokinetics, excretion, and mass balance of liposomal amphotericin B (AmBisome) and amphotericin B deoxycholate in humans. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(3):828-833.

Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004;8(4):R204-212.

Ben-Ami R, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Immunocompromised hosts: immunopharmacology of modern antifungals. *Clin Infect Dis*. 2008;47(2):226-235.

Berdichevski RH, Luis LB, Crestana L, Manfro RC. Amphotericin B-related nephrotoxicity in low-risk patients. *Braz J Infect Dis*. 2006;10(2):94-99.

Bern C, Adler-Moore J, Berenguer J, Boelaert M, den Boer M, Davidson RN, et al. Liposomal amphotericin B for the treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 2006;43(7):917-924.

Bes DF, Rosanova MT, Sberna N, Arrizurieta E. Deoxycholate Amphotericin B and Nephrotoxicity in the Pediatric Setting. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33(8):e198-206.

Bindschadler DD, Bennett JE. A pharmacologic guide to the clinical use of amphotericin B. *J Infect Dis*. 1969;120(4):427-436.

Blyth CC, Hale K, Palasanthiran P, O'Brien T, Bennett MH. Antifungal therapy in infants and children with proven, probable or suspected invasive fungal infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(2):Cd006343.

Branch RA. Prevention of amphotericin B-induced renal impairment. A review on the use of sodium supplementation. *Arch Intern Med*. 1988;148(11):2389-2394.

Brandriss MW, Wolff SM, Moores R, Stohlman F, Jr. ANEMIA INDUCED BY AMPHOTERICIN B. *JAMA*. 1964;189:663-666.

Burgess DS, Hastings RW, Summers KK, Hardin TC, Rinaldi MG. Pharmacodynamics of fluconazole, itraconazole, and amphotericin B against *Candida albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;36(1):13-18.

Cagnoni PJ, Walsh TJ, Prendergast MM, Bodensteiner D, Hiemenz S, Greenberg RN, et al. Pharmacoeconomic analysis of liposomal amphotericin B versus conventional amphotericin B in the empirical treatment of persistently febrile neutropenic patients. *J Clin Oncol*. 2000;18(12):2476-2483.

Cannon JP, Garey KW, Danziger LH. A prospective and retrospective analysis of the nephrotoxicity and efficacy of lipid-based amphotericin B formulations. *Pharmacotherapy*. 2001;21(9):1107-1114.

Cetin H, Yalaz M, Akisu M, Hilmioglu S, Metin D, Kultursay N. The efficacy of two different lipid-based amphotericin B in neonatal *Candida* septicemia. *Pediatr Int*. 2005;47(6):676-680.

- Chan CS, Tuazon CU , Lessin LS. Amphotericin-B-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med.* 1982;96(3):332-333.
- Chopra R, Blair S, Strang J, Cervi P, Patterson KG , Goldstone AH. Liposomal amphotericin B (AmBisome) in the treatment of fungal infections in neutropenic patients. *J Antimicrob Chemother.* 1991;28 Suppl B:93-104.
- Chunn CJ, Starr PR , Gilbert DN. Neutrophil toxicity of amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;12(2):226-230.
- Cifani C, Costantino S, Massi M , Berrino L. Commercially available lipid formulations of amphotericin b: are they bioequivalent and therapeutically equivalent? *Acta Biomed.* 2012;83(2):154-163.
- Coker RJ, Murphy SM , Harris JR. Experience with liposomal amphotericin B (AmBisome) in cryptococcal meningitis in AIDS. *J Antimicrob Chemother.* 1991;28 Suppl B:105-109.
- Collins CD, Stuntebeck ER, DePestel DD , Stevenson JG. Pharmacoeconomic analysis of liposomal amphotericin B versus voriconazole for empirical treatment of febrile neutropenia. *Clin Drug Investig.* 2007;27(4):233-241.
- Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, Ebrahimi R, Ullmann AJ, Bouza E, et al. Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis.* 2007;44(10):1289-1297.
- Croft SL, Davidson RN , Thornton EA. Liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 1991;28 Suppl B:111-118.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008;46(12):1813-1821.
- Deray G. Amphotericin B nephrotoxicity. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49 Suppl 1:37-41.
- Dutta A , Palazzi DL. Risk factors of amphotericin B toxicity in the nonneonatal pediatric population. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31(9):910-914.
- Ellis ME, al-Hokail AA, Clink HM, Padmos MA, Ernst P, Spence DG, et al. Double-blind randomized study of the effect of infusion rates on toxicity of amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36(1):172-179.
- Falci DR, dos Santos RP, Wirth F , Goldani LZ. Continuous infusion of amphotericin B deoxycholate: an innovative, low-cost strategy in antifungal treatment. *Mycoses.* 2011;54(2):91-98.

Falci DR, Lunardi LW, Ramos CG, Bay MB, Aquino VR, Goldani LZ. Continuous infusion of amphotericin B deoxycholate in the treatment of cryptococcal meningoencephalitis: analysis of safety and fungicidal activity. *Clin Infect Dis*. 2010;50(5):e26-29.

Fleming RV, Kantarjian HM, Husni R, Rolston K, Lim J, Raad I, et al. Comparison of amphotericin B lipid complex (ABLC) vs. amphotericin B in the treatment of suspected or documented fungal infections in patients with leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2001;40(5-6):511-520.

Fujii T, Uchino S, Takinami M, Bellomo R. Validation of the Kidney Disease Improving Global Outcomes Criteria for AKI and Comparison of Three Criteria in Hospitalized Patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014.

Goldman RD, Koren G. Amphotericin B nephrotoxicity in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004;26(7):421-426.

Goldman RD, Ong M, Wolpin J, Doyle J, Parshuram C, Koren G. Pharmacological risk factors for amphotericin B nephrotoxicity in children. *J Clin Pharmacol*. 2007;47(8):1049-1054.

Grau Cerrato S, Mateu-de Antonio J, Soto Alvarez J, Munoz Jareno MA, Salas Sanchez E, Marin-Casino M, et al. [Economic evaluation of voriconazole versus amphotericin B in the treatment of invasive aspergillosis]. *Farm Hosp*. 2005;29(1):5-10.

Groll AH, Giri N, Petraitis V, Petraitiene R, Candelario M, Bacher JS, et al. Comparative efficacy and distribution of lipid formulations of amphotericin B in experimental *Candida albicans* infection of the central nervous system. *J Infect Dis*. 2000;182(1):274-282.

Hachem RY, Boktour MR, Hanna HA, Husni RN, Torres HA, Afif C, et al. Amphotericin B lipid complex versus liposomal amphotericin B monotherapy for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy. *Cancer*. 2008;112(6):1282-1287.

Hamill RJ. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. *Drugs*. 2013;73(9):919-934.

Harbarth S, Pestotnik SL, Lloyd JF, Burke JP, Samore MH. The epidemiology of nephrotoxicity associated with conventional amphotericin B therapy. *Am J Med*. 2001;111(7):528-534.

Janoff AS, Boni LT, Popescu MC, Minchey SR, Cullis PR, Madden TD, et al. Unusual lipid structures selectively reduce the toxicity of amphotericin B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(16):6122-6126.

Johnson PC, Wheat LJ, Cloud GA, Goldman M, Lancaster D, Bamberger DM, et al. Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. *Ann Intern Med*. 2002;137(2):105-109.

Joly V, Aubry P, Ndayiragide A, Carriere I, Kawa E, Mlika-Cabanne N, et al. Randomized comparison of amphotericin B deoxycholate dissolved in dextrose or Intralipid for the treatment of AIDS-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 1996;23(3):556-562.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int*. 2012;2(Suppl.):1-138.

Kleinberg M. What is the current and future status of conventional amphotericin B? *Int J Antimicrob Agents*. 2006;27 Suppl 1:12-16.

Kuti JL, Kotapati S, Williams P, Capitano B, Nightingale CH, Nicolau DP. Pharmacoeconomic analysis of amphotericin B lipid complex versus liposomal amphotericin B in the treatment of fungal infections. *Pharmacoeconomics*. 2004;22(5):301-310.

Laniado-Laborin R, Cabrales-Vargas MN. Amphotericin B: side effects and toxicity. *Rev Iberoam Micol*. 2009;26(4):223-227.

Lee JW, Amantea MA, Francis PA, Navarro EE, Bacher J, Pizzo PA, et al. Pharmacokinetics and safety of a unilamellar liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994;38(4):713-718.

Leenders AC, Daenen S, Jansen RL, Hop WC, Lowenberg B, Wijermans PW, et al. Liposomal amphotericin B compared with amphotericin B deoxycholate in the treatment of documented and suspected neutropenia-associated invasive fungal infections. *Br J Haematol*. 1998;103(1):205-212.

Lemke A, Kiderlen AF, Kayser O. Amphotericin B. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2005;68(2):151-162.

Levine SJ, Walsh TJ, Martinez A, Eichacker PQ, Lopez-Berestein G, Natanson C. Cardiopulmonary toxicity after liposomal amphotericin B infusion. *Ann Intern Med*. 1991;114(8):664-666.

Lewis RE, Cahyame-Zuniga L, Leventakos K, Chamilos G, Ben-Ami R, Tamboli P, et al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses*. 2013;56(6):638-645.

Lewis RE, Wiederhold NP. The solubility ceiling: a rationale for continuous infusion amphotericin B therapy? *Clin Infect Dis*. 2003;37(6):871-872.

Lewis RE, Wiederhold NP, Klepser ME. In vitro pharmacodynamics of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(3):945-951.

Lin AC, Goldwasser E, Bernard EM, Chapman SW. Amphotericin B blunts erythropoietin response to anemia. *J Infect Dis*. 1990;161(2):348-351.

Luong ML, Husain S , Rotstein C. Pharmacoeconomic assessment of therapy for invasive aspergillosis. *Mycoses*. 2013;56(3):338-349.

MacGregor RR, Bennett JE , Erslev AJ. Erythropoietin concentration in amphotericin B-induced anemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 1978;14(2):270-273.

Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med*. 2014;370(13):1198-1208.

Malani PN, Depestel DD, Riddell J, Bickley S, Klein LR , Kauffman CA. Experience with community-based amphotericin B infusion therapy. *Pharmacotherapy*. 2005;25(5):690-697.

Martino R. Efficacy, safety and cost-effectiveness of Amphotericin B Lipid Complex (ABLC): a review of the literature. *Curr Med Res Opin*. 2004;20(4):485-504.

Mattiuzzi GN, Kantarjian H, Faderl S, Lim J, Kontoyiannis D, Thomas D, et al. Amphotericin B lipid complex as prophylaxis of invasive fungal infections in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome undergoing induction chemotherapy. *Cancer*. 2004;100(3):581-589.

Mesa-Arango AC, Scorzoni L , Zaragoza O. It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug. *Front Microbiol*. 2012;3:286.

Meunier F, Prentice HG , Ringden O. Liposomal amphotericin B (AmBisome): safety data from a phase II/III clinical trial. *J Antimicrob Chemother*. 1991;28 Suppl B:83-91.

Neoh CF, Liew D, Slavin MA, Marriott D, Chen SC, Morrissey O, et al. Economic evaluation of micafungin vs. liposomal amphotericin B (LAmB) for the treatment of candidaemia and invasive candidiasis (IC). *Mycoses*. 2013;56(5):532-542.

Ostermann H, Solano C, Jarque I, Garcia-Vidal C, Gao X, Barrueta JA, et al. Cost analysis of voriconazole versus liposomal amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis among patients with haematological disorders in Germany and Spain. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014;15:52.

Ostermann M , Chang RW. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med*. 2007;35(8):1837-1843; quiz 1852.

Pappas PG, Alexander BD, Andes DR, Hadley S, Kauffman CA, Freifeld A, et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis*. 2010;50(8):1101-1111.

Pasqualotto AC. Amphotericin B: the higher the dose, the higher the toxicity. *Clin Infect Dis*. 2008;47(8):1110; author reply 1110-1111.

Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis*. 2010;50(3):291-322.

Perfect JR, Schell WA. The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis*. 1996;22 Suppl 2:S112-118.

Prentice HG, Hann IM, Herbrecht R, Aoun M, Kvaloy S, Catovsky D, et al. A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. *Br J Haematol*. 1997;98(3):711-718.

Proffitt RT, Satorius A, Chiang SM, Sullivan L, Adler-Moore JP. Pharmacology and toxicology of a liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in rodents. *J Antimicrob Chemother*. 1991;28 Suppl B:49-61.

Ringden O, Meunier F, Tollemar J, Ricci P, Tura S, Kuse E, et al. Efficacy of amphotericin B encapsulated in liposomes (AmBisome) in the treatment of invasive fungal infections in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother*. 1991;28 Suppl B:73-82.

Safdar A, Ma J, Saliba F, Dupont B, Wingard JR, Hachem RY, et al. Drug-induced nephrotoxicity caused by amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B: a review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2010;89(4):236-244.

Sandler ES, Mustafa MM, Tkaczewski I, Graham ML, Morrison VA, Green M, et al. Use of amphotericin B colloidal dispersion in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2000;22(3):242-246.

Sharkey PK, Graybill JR, Johnson ES, Hausrath SG, Pollard RB, Kolokathis A, et al. Amphotericin B lipid complex compared with amphotericin B in the treatment of cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis*. 1996;22(2):315-321.

Shigemi A, Matsumoto K, Ikawa K, Yaji K, Shimodozono Y, Morikawa N, et al. Safety analysis of liposomal amphotericin B in adult patients: anaemia, thrombocytopenia, nephrotoxicity, hepatotoxicity and hypokalaemia. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;38(5):417-420.

Spellberg B, Witt MD, Beck CK. Amphotericin B: is a lipid-formulation gold standard feasible? *Clin Infect Dis*. 2004;38(2):304-305; author reply 306-307.

Srisawat N, Kellum JA. Acute kidney injury: definition, epidemiology, and outcome. *Curr Opin Crit Care*. 2011;17(6):548-555.

Stein JB, Tolle SW. Episodic leukopenia associated with amphotericin B. *South Med J*. 1983;76(3):409-410.

Subira M, Martino R, Gomez L, Marti JM, Estany C, Sierra J. Low-dose amphotericin B lipid complex vs. conventional amphotericin B for empirical

antifungal therapy of neutropenic fever in patients with hematologic malignancies--a randomized, controlled trial. *Eur J Haematol.* 2004;72(5):342-347.

Sundar S, Chakravarty J, Agarwal D, Rai M , Murray HW. Single-dose liposomal amphotericin B for visceral leishmaniasis in India. *N Engl J Med.* 2010;362(6):504-512.

Tiphine M, Letscher-Bru V , Herbrecht R. Amphotericin B and its new formulations: pharmacologic characteristics, clinical efficacy, and tolerability. *Transpl Infect Dis.* 1999;1(4):273-283.

Tollema J , Ringden O. Lipid formulations of amphotericin B. Less toxicity but at what economic cost? *Drug Saf.* 1995;13(4):207-218.

Turcu R, Patterson MJ , Omar S. Influence of sodium intake on Amphotericin B-induced nephrotoxicity among extremely premature infants. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(3):497-505.

Turkova A, Roilides E , Sharland M. Amphotericin B in neonates: deoxycholate or lipid formulation as first-line therapy - is there a 'right' choice? *Curr Opin Infect Dis.* 2011;24(2):163-171.

Turner SJ, Senol E, Kara A, Al-Badriyeh D, Dinleyici EC , Kong DC. Pharmacoeconomic evaluation of voriconazole vs. liposomal amphotericin B in empiric treatment of invasive fungal infections in Turkey. *BMC Infect Dis.* 2013;13:560.

Turner SJ, Senol E, Kara A, Al-Badriyeh D, Kong DC , Dinleyici EC. Pharmacoeconomic evaluation of caspofungin versus liposomal amphotericin B in empirical treatment of invasive fungal infections in Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;42(3):276-280.

Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, Bates S , Ronco C. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. *Crit Care Med.* 2006;34(7):1913-1917.

Ullmann AJ, Sanz MA, Tamarin A, Barnes RA, Wu W, Gerlach BA, et al. Prospective study of amphotericin B formulations in immunocompromised patients in 4 European countries. *Clin Infect Dis.* 2006;43(4):e29-38.

Varlam DE, Siddiq MM, Parton LA , Russmann H. Apoptosis contributes to amphotericin B-induced nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(3):679-685.

Venkataraman R , Kellum JA. Defining acute renal failure: the RIFLE criteria. *J Intensive Care Med.* 2007;22(4):187-193.

Wade RL, Chaudhari P, Natoli JL, Taylor RJ, Nathanson BH , Horn D. Comparison of adverse events and hospital length of stay associated with various amphotericin B formulations: sequential conventional amphotericin

b/lipid versus lipid-only therapy for the treatment of invasive fungal infections in hospitalized patients. *P t.* 2013;38(5):278-287.

Wade RL, Chaudhari P, Natoli JL, Taylor RJ, Nathanson BH, Horn DL. Nephrotoxicity and other adverse events among inpatients receiving liposomal amphotericin B or amphotericin B lipid complex. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76(3):361-367.

Walev I, Bhakdi S. Possible reason for preferential damage to renal tubular epithelial cells evoked by amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(5):1116-1120.

Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, Bodensteiner D, et al. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med.* 1999;340(10):764-771.

Walsh TJ, Goodman JL, Pappas P, Bekersky I, Buell DN, Roden M, et al. Safety, tolerance, and pharmacokinetics of high-dose liposomal amphotericin B (AmBisome) in patients infected with *Aspergillus* species and other filamentous fungi: maximum tolerated dose study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(12):3487-3496.

Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL, Perfect JR, Horwith G, Lee L, et al. Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin Infect Dis.* 1998;26(6):1383-1396.

Wegner B, Baer P, Gauer S, Oremek G, Hauser IA, Geiger H. Caspofungin is less nephrotoxic than amphotericin B in vitro and predominantly damages distal renal tubular cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(10):2071-2079.

White MH, Bowden RA, Sandler ES, Graham ML, Noskin GA, Wingard JR, et al. Randomized, double-blind clinical trial of amphotericin B colloidal dispersion vs. amphotericin B in the empirical treatment of fever and neutropenia. *Clin Infect Dis.* 1998;27(2):296-302.

Wiederhold NP, Tam VH, Chi J, Prince RA, Kontoyiannis DP, Lewis RE. Pharmacodynamic activity of amphotericin B deoxycholate is associated with peak plasma concentrations in a neutropenic murine model of invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(2):469-473.

Wingard JR. Efficacy of amphotericin B lipid complex injection (ABLC) in bone marrow transplant recipients with life-threatening systemic mycoses. *Bone Marrow Transplant.* 1997;19(4):343-347.

Wingard JR. Lipid formulations of amphotericins: are you a lumper or a splitter? *Clin Infect Dis.* 2002;35(7):891-895.

Wingard JR, Leather HL, Wood CA, Gerth WC, Lupinacci RJ, Berger ML, et al. Pharmacoeconomic analysis of caspofungin versus liposomal amphotericin B as empirical antifungal therapy for neutropenic fever. *Am J Health Syst Pharm.* 2007;64(6):637-643.

Wingard JR, White MH, Anaissie E, Raffalli J, Goodman J , Arrieta A. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. L Amph/ABLCL Collaborative Study Group. Clin Infect Dis. 2000;31(5):1155-1163.

Yeo EJ, Ryu JH, Cho YS, Chun YS, Huang LE, Kim MS, et al. Amphotericin B blunts erythropoietin response to hypoxia by reinforcing FIH-mediated repression of HIF-1. Blood. 2006;107(3):916-923.

Zager RA, Bredl CR , Schimpf BA. Direct amphotericin B-mediated tubular toxicity: assessments of selected cytoprotective agents. Kidney Int. 1992;41(6):1588-1594.

2 Objetivos

- Avaliar a incidência de nefrotoxicidade observada em tratamentos com anfotericina B nas diferentes formulações: Anfotericina B deoxicolato, anfotericina lipossomal, anfotericina B complexo lipídico;
- Determinar o impacto clínico da ocorrência de nefrotoxicidade, em termos de tempo de internação, mortalidade e requerimento de diálise;
- Determinar fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade associada ao tratamento com anfotericina B;
- Documentar a incidência de toxicidade hematológica (anemia, leucopenia e plaquetopenia) observada em tratamentos com anfotericina B nas diferentes formulações disponíveis;
- Determinar os fatores de risco para desenvolvimento de toxicidade hematológica associada ao tratamento com anfotericina B;
- Avaliar a incidência de nefrotoxicidade, e fatores de risco associados, em tratamentos com anfotericina B em pacientes pediátricos.

3 Artigos científicos

Artigo 1, publicado no periódico “Mycoses”

Artigo 2, publicado no periódico “Leukemia & Lymphoma”

Artigo 3, manuscrito submetido ao “Acta Paediatrica”

Comparison of nephrotoxicity associated to different lipid formulations of amphotericin B: a real-life study

Diego R. Falci,^{1,2} Franciane B. da Rosa¹ and Alessandro C. Pasqualotto^{1,3}

¹Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Brazil, ²Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil and ³Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Summary

Amphotericin B (AmB) use is limited by the occurrence of kidney toxicity. Here, we evaluated the incidence and impact of nephrotoxicity in a large series of patients receiving therapy with amphotericin B deoxycholate (d-AmB), liposomal AmB (L-AmB), or AmB lipid complex (ABLC), in a clinical practice scenario. In a retrospective cohort study, patients treated with different AmB formulations between 2003 and 2012 were evaluated. Medical records and laboratory data were reviewed. Nephrotoxicity was determined according to modified RIFLE criteria. Predictors of nephrotoxicity and mortality were determined and treatment groups were compared. About 431 patients were studied (d-AmB, $n = 236$; L-AmB, $n = 105$; ABLC, $n = 90$). Frequency of severe nephrotoxicity (RIFLE 'Failure') was 11.5%, 2.4% and 7.2% for d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively ($P = 0.046$). Use of L-AmB was found to be an independent protective factor (OR: 0.18; 95% CI: 0.03–0.64; $P = 0.006$) for severe nephrotoxicity, considering d-AmB as a reference. L-AmB was also a protective factor for mortality (OR: 0.56; 95% CI: 0.32–0.99; $P = 0.046$). In addition, in-hospital overall mortality was associated with cancer, previous dialysis, evolution to dialysis, and stay in the intensive care unit. Patients treated with ABLC showed similar frequency of severe kidney toxicity than those treated with d-AmB. L-AmB was associated with better outcomes than other formulations, including severe nephrotoxicity and overall mortality.

Key words: Amphotericin B, nephrotoxicity, antifungal agents, deep fungal infection.

Introduction

Invasive fungal diseases (IFDs) are emerging problems in current practice. Their incidence is at an increase, mainly because of the widespread use of intravascular catheters, broad-spectrum antibiotics and immunosuppressive agents. IFDs are associated with high morbidity and mortality, despite appropriate therapy.^{1–3}

Amphotericin B deoxycholate (d-AmB), a broad-spectrum antifungal polyene, has long been a cornerstone of therapy for patients with IFD. However, its use is primarily limited by the occurrence of kidney toxicity,^{4,5} a complication that may negatively impact length of hospital stay, incrementing the costs associated with patient care, and increasing patients' mortality.^{1,6}

In the last years, the therapeutic arsenal to treat IFD has expanded considerably, with d-AmB being progressively replaced for newer and more secure alternatives, including the lipid formulations of amphotericin B (AmB): liposomal amphotericin B (L-AmB), colloidal dispersion of amphotericin B (ABCD), and amphotericin B lipid complex (ABLC). The lipid formulations of AmB have demonstrated equal or superior effectiveness in comparison to their parental compound, in different

Correspondence: D. R. Falci, Infection Control Service, Hospital Nossa Senhora da Conceição, 596 Francisco Trein Av, Porto Alegre 91.350-200, Brazil.
Tel./Fax: +55 (51) 3357 2348.
E-mail: dfalci@ghc.com.br

Submitted for publication 11 August 2014
Revised 24 October 2014
Accepted for publication 20 November 2014

clinical scenarios.^{7–11} However, few studies compared directly the lipid formulations, in terms of the frequency of organ toxicity. In a pivotal double-blind randomised clinical trial, Wingard and colleagues compared the safety profile of L-AmB and ABLC. The frequency of nephrotoxicity was markedly lower in the L-AmB arm.¹² A meta-analysis on the subject was recently published, aiming to determine whether there was any difference among the lipid formulations of AmB, regarding kidney damage. This study added controversy to the topic, by concluding that the two lipid formulations, L-AmB and ABLC had the same frequency of nephrotoxicity.³ Since these results differed from previous studies, a debate still persists on the subject.

In this study, we assessed the frequency of nephrotoxicity in patients treated with L-AmB, ABLC or d-AmB. The clinical impact of AmB toxicity was also evaluated, by determining overall hospital mortality, length of hospital stay (LOS) and the need for renal replacement therapy.

Methods

Setting

This was a historical cohort study conducted in Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, a centenary 1200-bed university hospital located in Southern Brazil.

Data source

Clinical data were extracted from patients' records and registered onto a standard clinical data form.

Study subjects

All patients admitted between 2003 and 2012 and treated (for any reason) intravenously with a lipid formulation of AmB (L-AmB or ABLC) were considered for inclusion. Patients who received d-AmB in the same period were randomly selected for inclusion, in a 3 : 1 ratio to the lipid drugs, hospitalised during the same year. Randomisation was computer generated. For patients with multiple eligible encounters (multiple uses of different formulations of amphotericin) each use was included as a new case. Patients younger than 13 years old were excluded.

Determination of risk factors

At the moment of initiation of antifungal therapy, the following information was obtained from patients'

records: demographic data (sex, age); height and weight; underlying comorbidities; fungal disease in treatment (EORTC/MSG classification)¹³; intensive care unit (ICU) admission; recent (2 weeks) and concomitant use of nephrotoxic drugs; use of daily intravenous saline (at least one litre) loading; serum creatinine, potassium and magnesium levels. AmB dosage, length of treatment, infusion time and formulation used were recorded. Previous nephropathy was defined as a medical diagnosis of kidney disease in clinical records or the presence of baseline serum creatinine above 1.5 mg dl⁻¹.

Outcomes

Patients were evaluated at days 3, 7, 14 and 21 after AmB was started for the purposes of renal safety determination. Safety was evaluated by determining serum creatinine, potassium and magnesium levels, as well as by the calculation of creatinine clearance (Cockcroft-Gault formula). We classified patients according to the maximum RIFLE criteria that were reached during treatment with AmB formulations,¹⁴ according to the severity of renal impairment: Risk, Injury, Failure, Loss of function, End-stage renal disease. RIFLE criteria were modified by excluding urine outputs (not obtained due the retrospective nature of the study). Previous large studies had also used this modified RIFLE criteria (without urine outputs), which independently predicted hospital mortality and correlated with the severity of kidney damage.^{15,16} We searched for indirect evidence of tubular dysfunction (serum potassium levels of less than 2.5 mEq l⁻¹ or serum magnesium level of less than 1.5 mEq l⁻¹). Overall hospital mortality, time to discharge (LOS), and need for dialysis, were also evaluated.

Statistical analysis

We used JMP version 9 (SAS Inc., Cary, NC, USA) for statistical analysis. Continuous data were summarised by median (interquartile range), if not otherwise specified. Descriptive statistics were used to summarise patient characteristics and clinical outcomes. In comparing dichotomous variables, the *P*-value was calculated by using Fisher's exact test or the chi-squared test. For continuous variables, the *P*-value was calculated by using the Wilcoxon method or Student's *t*-test as deemed appropriate. A Cochrane-Armitage test (chi-squared for trend) was performed to analyse the rate of nephrotoxicity along the days of evaluation. All statistical tests were two-tailed. In the evaluation of

outcomes (e.g., nephrotoxicity and mortality), variables with a *P*-value of <0.20 in the bivariate analysis and/or demonstrating a plausible biological role, were included one by one, in the logistic regression model. AmB formulation used (d-AmB, L-AmB, or ABLC) was maintained in the model regardless of the *P*-value. A *P*-value of 0.05 was set as the limit for retaining variables in the model.

Sample size calculation

We aimed to detect a difference of 15% in nephrotoxicity between L-AmB and ABLC, based on previous studies.^{6,12,17} Sample size was calculated as 88 patients in each lipid AmB formulation arm, with an alpha error of 0.05 and a power of 0.80.

Ethics

The study was approved by the local ethics committee (protocol 3466/10). This committee is recognised by the U.S. Department of Health and Human Services (DHHS) as an Institutional Review Board (IRB00002509).

Results

Baseline characteristics

After screening 541 patients, a total of 431 patients were included: 236 in the d-AmB group, 105 in L-AmB group and 90 in ABLC group.

Table 1 shows that patients receiving different AmB formulations diverged in several aspects. It is noticeable that patients in the d-AmB arm presented less previous nephropathy, less malignancy, less dialysis use, less use of nephrotoxins and less receipt of hematopoietic stem cell and solid organ transplants, in comparison to patients on the lipid AmB groups. Patients on ABLC were significantly older than patients on d-AmB, and were more commonly diabetic than those in the other groups. Renal function was poorer in patients in the lipid formulations groups, as reflected by higher baseline creatinine levels and lower creatinine clearance levels. Groups were balanced regarding to EORTC/MSG classification for IFD. Considering patients with proven or probable disease, 45.1% had cryptococcosis, 9.2% aspergillosis, 24.9% candidiasis, 6.3% paracoccidioidomycosis and 14.5% histoplasmosis.

Median AmB exposure was 8 days for all groups. Median dosing (mg kg⁻¹ day⁻¹) was 0.78, 3.30 and 4.31 for d-AmB, L-AmB and ABLC respectively.

Infusion time was available in 221 patients. Median infusion time was 6 h (range 0.5–24 h). L-AmB group had faster infusions than ABLC and d-AmB groups (median 2 vs. 4 vs. 6 h; *P* < 0.001). Daily loading of intravenous saline was made in 66.4% of patients. Groups did not differ in terms of saline loading.

Incidence of nephrotoxicity

Nephrotoxicity was observed more frequently in d-AmB recipients (Table 2), in comparison to patients on lipid formulations of AmB. There was a lower incidence of mild nephrotoxicity ('Risk' RIFLE category) in L-AmB and ABLC groups, in comparison to d-AmB. The two lipid formulations were similar regarding to moderate kidney damage ('Injury' category): 3.7% in L-AmB and 5.7% in ABLC, *P* = 0.547. Frequency of severe nephrotoxicity (RIFLE 'Failure') differed for the three formulations: 11.5%, 2.4% and 7.2% for d-AmB, L-AmB and ABLC respectively (*P* = 0.046). An increase of 100% or more in serum creatinine during treatment occurred more frequently in d-AmB recipients, when compared to L-AmB and ABLC. No differences were observed between the lipid formulations. In respect to evolution to dialysis during hospitalisation, the three groups were also similar. Considering only patients with previous nephropathy (*n* = 143), dialysis was required for 27.7%, 21.7% and 26.0% of patients on d-AmB, L-AmB and ABLC respectively (*P* = 0.794).

Overall, a trend for increasing nephrotoxicity along time was not observed. Only d-AmB patients presented an upward trend in stage 'R' of RIFLE along days of observation (31.7% at day 3, 47.3% at day 7 and 55.3% at day 14; *P* = 0.005). A marginally significant trend was observed with d-AmB patients regarding to stage 'I' of RIFLE along days of observation (13.7% at day 3, 18.3% at day 7 and 22.3% at day 14; *P* = 0.073). Patients using lipid formulations did not present trends towards higher rates of nephrotoxicity along time. Day 21 was not evaluated in these analyses because of low number of patients.

Different subgroups of patients presented distinct rates of severe nephrotoxicity. A comparison between HIV patients and haematological cancer patients showed that the former group tend to a lower risk of severe nephrotoxicity (2.7% vs. 10.4%; *P* = 0.070).

Data regarding hypokalaemia and hypomagnesaemia were available for 152 and 44 patients, and the overall frequency of these electrolytes abnormalities was 64.4% and 77.2% respectively. Patients on ABLC exhibited a trend to a higher incidence of

Table 1 Baseline characteristics of patients treated with different formulations of amphotericin B.

Variable	d-AmB (n = 236)	L-AmB (n = 105)	ABLC (n = 90)	P-value
Female sex	110 (46.6)	53 (50.5)	34 (37.8)	0.190
Age, years (median, IQR)	47 (34–58)	48 (36–58)	52 (39–62)	0.046
Weight, kg (median, IQR)	65 (55–72)	66 (58–75)	66 (58–73)	0.414
HIV infection	56 (23.7)	17 (16.9)	15 (16.7)	0.172
Malignancy	57 (24.2)	40 (38.1)	31 (34.4)	0.018
Haematological cancer	42 (17.8)	29 (27.6)	21 (23.3)	0.108
Hypertension	28 (11.9)	14 (13.3)	15 (16.7)	0.528
Diabetes	28 (11.9)	12 (11.4)	20 (22.2)	0.039
Previous nephropathy	81 (34.6)	62 (59.6)	58 (64.4)	<0.001
Previous/current dialysis	33 (14.0)	16 (15.2)	7 (7.8)	0.242
HSCT	7 (3.0)	7 (6.7)	9 (10.0)	0.032
Solid organ transplant	31 (13.1)	24 (22.9)	23 (25.6)	0.012
ICU stay at study entrance	110 (46.6)	47 (44.8)	39 (43.3)	0.856
Previous use of nephrotoxic drugs	137 (58.1)	74 (70.5)	75 (83.3)	<0.001
Cyclosporine	12 (5.1)	15 (14.3)	11 (12.2)	0.010
Polymyxin B	14 (5.9)	8 (7.6)	10 (11.1)	0.279
Vancomycin	113 (47.9)	60 (57.1)	56 (62.2)	0.043
Amphotericin B	11 (4.7)	31 (29.5)	20 (22.2)	<0.001
Concomitant use of nephrotoxic drugs	129 (54.7)	61 (58.1)	66 (73.3)	0.009
Serum creatinine, mg dl ⁻¹ (median, IQR)	1 (0.7–1.4)	1.5 (1.0–2.1)	1.8 (1.1–2.6)	<0.001
Creatinine clearance, ml min ⁻¹ (median, IQR)	80.9 (50.4–107.4)	51.9 (35.3–73.4)	43.4 (28.4–71.1)	<0.001
Dose, mg kg ⁻¹ (median, IQR)	0.78 (0.66–0.93)	3.30 (2.80–3.97)	4.31 (3.5–5.0)	n.a.
EORTC/MSG classification				
Possible or unclassified	148 (62.7)	60 (51.1)	53 (58.9)	0.142
Probable	5 (2.1)	7 (6.7)	7 (7.8)	
Proven	83 (35.2)	38 (36.2)	30 (33.3)	

Numbers represent *n* (%) of patients, unless otherwise stated. Patients entering the study on dialysis were excluded from serum creatinine and creatinine clearance analysis.

ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; EORTC/MSG, European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group; HIV, human immunodeficiency virus; HSCT, hematopoietic stem cell transplant; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal AmB; ABLC, AmB lipid complex.

Table 2 Frequency of nephrotoxicity and other outcomes in patients treated with different formulations of amphotericin B.

	All patients	d-AmB	L-AmB	ABLC	P-value
Risk	124 (38.0)	88 (50.6)	18 (22.0)	18 (25.7)	<0.001
Injury	48 (14.7)	41 (23.6)	3 (3.7)	4 (5.7)	<0.001
Failure	27 (8.2)	20 (11.5)	2 (2.4)	5 (7.2)	0.046
Any RIFLE	128 (39.3)	91 (52.3)	18 (22.0)	19 (27.1)	<0.001
100% increase in Cr	58 (17.4)	46 (25.8)	5 (6.0)	7 (9.9)	<0.001
Evolution to dialysis	57 (15.3)	27 (13.4)	15 (16.9)	15 (18.3)	0.518
Death	234 (54.3)	131 (55.5)	50 (47.6)	53 (58.9)	0.248
Evolution to dialysis or death	244 (56.6)	136 (57.6)	52 (49.5)	56 (62.2)	0.183

Numbers represent *n* (%) of patients, unless otherwise stated. RIFLE was evaluated at the end of treatment, and death or evolution to dialysis over the entire hospitalisation. Patients entering the study on dialysis were excluded from nephrotoxicity analysis.

Cr, serum creatinine; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal AmB; ABLC, AmB lipid complex.

hypokalaemia than those on L-AmB: 72.4% (21/29) vs. 50.0% (19/38) ($P = 0.062$).

In Table 3, factors associated with severe nephrotoxicity ('Failure' RIFLE category) are displayed, in bivariate and multivariate analysis. A multivariate model demonstrated L-AmB treatment as an

independent protective factor for severe nephrotoxicity, with an odds ratio of 0.18 (95% CI: 0.03–0.64; $P = 0.006$). Treatment with ABLC lacked significance as a protective factor, with an odds ratio of 0.47 (95% CI: 0.15–1.25; $P = 0.136$). Concomitant nephrotoxic drug use was a significant factor for the development

Table 3 Factors associated with severe renal failure (RIFLE 'Failure' stage) during treatment with amphotericin B ($n = 326$).

	Bivariate analysis			Multivariate analysis	
	Renal failure ($n = 27$)	No renal failure ($n = 299$)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Female sex	10 (37.0)	128 (42.8)	0.561		
Age, years (median, IQR)	47 (38–58)	48 (35–58)	0.988		
Weight, kg (median, IQR)	68 (58–80)	65 (56–73)	0.282		
HIV infection	2 (7.4)	71 (23.8)	0.051		
Malignancy	8 (29.6)	94 (31.4)	0.846		
Haematological cancer	8 (29.6)	69 (23.1)	0.453		
Hypertension	3 (11.1)	31 (10.4)	0.904		
Diabetes	2 (7.4)	37 (12.4)	0.446		
Previous nephropathy	8 (29.6)	113 (37.8)	0.400		
HSCT	3 (11.1)	18 (6.0)	0.302		
Solid organ transplant	3 (11.1)	48 (16.1)	0.498		
ICU stay	14 (51.9)	105 (35.1)	0.084		
Previous nephrotoxic drugs use	17 (63.0)	190 (63.6)	0.952		
Cyclosporine	2 (7.4)	23 (7.7)	0.958		
Polymyxin B	1 (3.7)	24 (8.0)	0.419		
Vancomycin	16 (59.3)	152 (50.8)	0.402		
Amphotericin B	1 (3.7)	51 (17.1)	0.070		
Concomitant nephrotoxic drug use	21 (77.8)	167 (55.9)	0.027	3.10 (1.26–8.79)	0.012
Amphotericin B formulation utilised					
d-AmB	20 (74.1)	154 (51.5)	0.046	1 (ref.)	
L-AmB	2 (7.4)	80 (26.8)		0.18 (0.03–0.64)	0.006
ABLC	5 (18.5)	65 (21.7)		0.47 (0.15–1.25)	0.136
Length of treatment					
1–7 days	14 (51.9)	144 (48.2)	0.325		
8–14 days	10 (37.0)	86 (28.8)			
More than 14 days	3 (11.1)	69 (23.1)			

Numbers represent n (%) of patients, unless otherwise stated. Patients entering the study on dialysis were excluded from this analysis.

ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; HIV, human immunodeficiency virus; CI, confidence interval; OR, odds ratio; ICU, intensive care unit; HIV, human immunodeficiency virus; HSCT, hematopoietic stem cell transplant; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal AmB; ABLC, AmB lipid complex.

of severe nephrotoxicity: OR: 3.10 (95% CI: 1.26–8.79; $P = 0.012$). Neither infusion time nor saline loading was a predictor of nephrotoxicity.

Effect on mortality

Overall in-hospital mortality was 54.3% (234/431). Predictors of mortality at bivariate and multivariate analyses are shown in Table 4. In-hospital mortality was significantly associated, in the bivariate analysis, to age, seronegativity for HIV, malignancy, previous nephropathy, previous dialysis, ICU stay at study entrance, previous nephrotoxic drug use, RIFLE classification (risk, injury or failure stages) and evolution to dialysis during hospitalisation. In-hospital mortality was 55.5% in d-AmB, 47.6% in L-AmB and 58.9% in ABLC arm. In the multivariate analysis, L-AmB was found to be a protective factor for mortality (OR: 0.56; 95% CI: 0.32–0.99; $P = 0.047$) – the same was not observed for ABLC (OR: 1.19; 95% CI: 0.65–2.15;

$P = 0.574$). Variables associated with an increased mortality were malignancy, previous dialysis, evolution to dialysis and ICU stay at study entrance.

Length of stay

Patients on L-AmB showed a non-significant trend to remain in the hospital for shorter periods after therapy (median 26 days), in comparison to d-AmB (median 34 days) and ABLC (median 35 days) (Log-Rank; $P = 0.071$) (Fig. 1).

Discussion

This study demonstrated that L-AmB was associated with a lower risk of severe nephrotoxicity, when compared to other AmB formulations. Also, L-AmB was associated to less electrolyte abnormalities than its comparators. More importantly, L-AmB was associated with a reduced overall in-hospital mortality (OR:

Table 4 Factors associated with in-hospital mortality, in patients treated with amphotericin B, *n* = 431.

Variables	Bivariate analysis			Multivariate analysis	
	Died (<i>n</i> = 234)	Discharged (<i>n</i> = 197)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Female sex	109 (46.6)	88 (44.7)	0.692		
Age, years (median, IQR)	53 (39–61)	46 (34–57)	<0.001		
Weight, kg (median, IQR)	66 (58–72)	65 (54–74)	0.330		
HIV infection	39 (16.7)	49 (24.9)	0.035		
Malignancy	82 (35.0)	46 (23.4)	0.008	2.61 (1.57–4.41)	<0.001
Hypertension	27 (11.6)	30 (15.2)	0.267		
Diabetes	38 (16.3)	22 (11.2)	0.125		
Previous nephropathy	130 (55.8)	71 (36.4)	<0.001		
Previous dialysis	46 (19.7)	10 (5.1)	<0.001	2.66 (1.20–6.31)	0.015
HSCT	12 (5.1)	11 (5.6)	0.834		
Solid organ transplant	39 (16.7)	39 (19.8)	0.400		
ICU stay	158 (67.5)	38 (19.3)	<0.001	8.20 (5.04–13.64)	<0.001
Previous nephrotoxic drugs use	175 (74.8)	111 (56.3)	<0.001		
Amphotericin B	27 (11.5)	35 (17.8)	0.067		
Concomitant nephrotoxic drugs use	145 (62.0)	111 (56.5)	0.237		
Evolution to dialysis	47 (20.3)	10 (5.1)	<0.001	6.24 (2.93–14.42)	<0.001
RIFLE 'Risk' category	68 (43.9)	56 (32.8)	0.039		
RIFLE 'Injury' category	29 (18.7)	19 (11.1)	0.053		
RIFLE 'Failure' category	20 (12.9)	7 (4.1)	0.004		
Amphotericin B formulation utilised					
d-AmB	131 (56.0)	105 (53.3)	0.248	1 (ref.)	
L-AmB	50 (21.4)	55 (27.9)		0.56 (0.32–0.99)	0.046
ABLC	53 (22.6)	37 (18.8)		1.19 (0.65–2.15)	0.574

Numbers represent *n* (%) of patients, unless otherwise stated. Patients entering study on dialysis were excluded from RIFLE evaluation. ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; HIV, human immunodeficiency virus; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal amphotericin B; ABLC, AmB lipid complex.

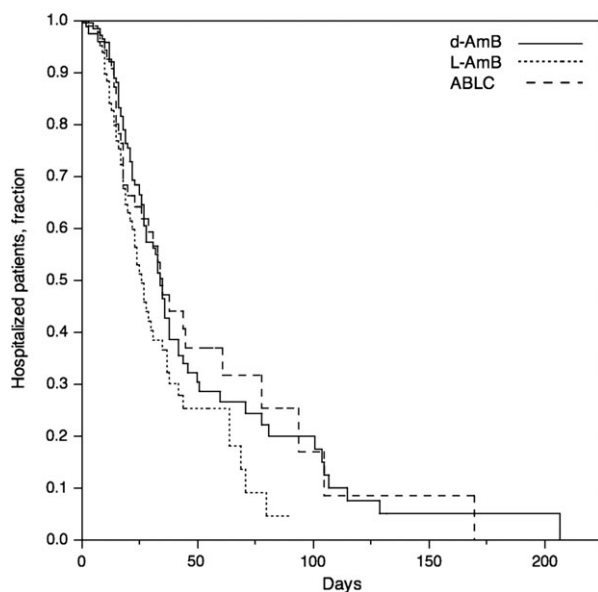


Figure 1 Kaplan–Meier analysis showing the length of stay for patients treated with different formulations of amphotericin B. d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal amphotericin B; ABLC, amphotericin B lipid complex.

0.56), and patients on L-AmB showed a trend towards shorter posttreatment length of hospitalisation. It is important to note that patients started on lipid formulations of AmB had a poorer baseline condition, in comparison to those taking d-AmB; these included worse renal function, higher incidences of cancer and transplantation, and use of nephrotoxic drugs, since this was probably the main reason for the use of these drugs. This may have caused a bias towards more toxicity in the lipid formulations arms. Unexpectedly, evolution to dialysis was similar between the three AmB formulations, despite the clear association between dialysis requirement and mortality (OR: 6.24). It is quite possible that patients on lipid formulations of AmB presenting worsening failure were submitted earlier and more readily to dialysis, which may have occurred for economic reasons (lipid AmB formulation are mostly used for private or insured patients in Brazil).

To the best of our knowledge, this is in the largest single-centre cohort study ever conducted, aiming to evaluate the frequency of nephrotoxicity with different formulations of AmB. Our results are consonant to

those of Wingard *et al.* [12] who conducted the largest randomised controlled trial on the subject, showing a superior safety profile of L-AmB in comparison with ABLC.

Reduction in AmB toxicity by the use of lipid formulations has been well documented.^{5,9} However, the existence of relevant differences between the lipid formulations remained a matter of dispute. In a recent meta-analysis, in which eight studies and 1180 patients were included, ABLC was found initially to be more nephrotoxic than L-AmB. Based on the existence of considerable heterogeneity, the authors performed additional analyses by excluding studies that demonstrated substantial differences in methodology. In the end, it was concluded that the two lipid formulations of AmB had similar impact in terms of kidney safety.³ However, the largest study on the field was excluded, leaving the results open to debate. The population studied is an important factor, since different patient profiles can lead to distinct rates of nephrotoxicity. Important differences concerning patient groups have been elsewhere demonstrated. Wingard *et al.* [18] showed that hematopoietic stem cell transplant patients have an increased risk for AmB nephrotoxicity. In a Brazilian cohort of low-risk patients (almost half of them, AIDS patients) a low incidence of nephrotoxicity was reported, and a lower risk for toxicity was associated with the diagnosis of AIDS.⁴ In consonance to these reports, our data pointed out to a better AmB tolerance in HIV patients regarding to nephrotoxicity, when compared to haematological cancer patients. However, in our cohort, neither of these groups was independently associated to an increased or decreased risk for severe nephrotoxicity.

Since variability in nephrotoxicity definition led to considerable heterogeneity in previous studies, here we defined nephrotoxicity based on standard and well-accepted criteria: (i) the RIFLE classification; (ii) evolution to dialysis; (iii) and 100% increases in serum creatinine. Besides that, we evaluated a population with a greater diversity of conditions, in comparison to previous studies. RIFLE seems to be the best criteria considering clinical correlation¹⁹; therefore, we utilised it as an outcome for the bivariate and multivariate analysis. Other studies relied solely on serum creatinine increments of at least 50% or 100%; nevertheless, these definitions of nephrotoxicity are not standardised, nor validated. Moreover, several extra renal factors such as muscle mass, volume of distribution of creatinine, creatinine production and liver function can significantly alter serum creatinine in critically ill patients, and therefore caution must be

used in interpreting serum creatinine values alone as a marker for acute kidney failure.¹⁴ RIFLE has been validated in terms of determining the incidence of acute kidney failure and its prognostic stratification in several settings of hospitalised patients. The AKIN (acute kidney injury network) classification is a modified version of the RIFLE classification²⁰; therefore, their strengths and limitations are very similar to those of RIFLE. AKIN classification does not allow the identification of acute kidney injury when serum creatinine elevation occurs in a time frame higher than 48 h. Besides that, stage 3 of the AKIN classification includes along its diagnostic criteria dialysis requirement, and the extreme variability in the beginning and cessation of dialysis, as well as in its modality and dose used among different physicians, hospitals and countries could significantly limit the prognostic acuity of this classification, particularly for patients on stage 3.²¹ In our study, conventional AmB (d-AmB) was consistently associated to more toxicity regardless of the criteria utilised. Toxicity of d-AmB is well known and these data confirm previous findings.¹ L-AmB, and not ABLC use, resulted significantly in less severe nephrotoxicity (RIFLE 'Failure' category) when compared with d-AmB. The impact of L-AmB on in-hospital mortality seems to be mediated by the reduced frequency of severe nephrotoxicity: when RIFLE 'Failure' category is included into the multivariate model for mortality (data not shown), the effect of L-AmB loses significance.

More recently, observational data from an electronic database of 150 hospitals were published, comparing the nephrotoxicity between the two lipid formulations. Despite involving a large number of patients, it included only those with preexistent renal disease. The authors reported higher rates of nephrotoxicity with ABLC (OR: 3.47), in comparison to L-AmB. No difference regarding mortality was found between L-AmB and ABLC, although multivariate analysis on this outcome was not performed.¹⁷ Differences in toxicological and pharmacokinetic profile of AmB lipid formulations may explain the findings of this study, as well as ours. That includes more affinity of L-AmB for fungal wall cell, and less toxicity to kidney cells as demonstrated in *in vitro* assays.²²

The impact of AmB nephrotoxicity in terms of LOS and hospital costs was demonstrated elsewhere.^{1,6,23,24} Bates *et al.* found that renal failure following AmB therapy was associated with a mean adjusted increase in LOS of 8.2 days as well as almost \$30 000 in additional hospital costs. A more recent study by Ullmann *et al.* showed that worsening kidney function caused

by AmB was strongly associated with an excess number of deaths and a longer stay in the hospital. We observed in our study a trend towards shorter LOS in the L-AmB group; we did not directly measure hospital costs, but a longer LOS probably means an increase in medical resources and consequently increased hospital costs, associated with ABLC and d-AmB therapy.

The greater strength of our study relies on its large sample size, in a single medical centre; the diversity of conditions which AmB was used, including a wide variety of patients, and a real-life scenario – more directly related to clinical practice – are other advantages. The use of evidence-based criteria for nephrotoxicity as RIFLE is another distinct aspect of the study. Limitations include its retrospective design – prone to unmeasured confounding bias, non-standardised information and missing of data. Data on nephrotoxicity were more susceptible to missing values, since RIFLE measures depend on serum creatinine and calculated creatinine clearance (which further depends on weight, gender and age). Nevertheless, data on mortality were less affected by missing values and more truly represented the whole population. Another shortcoming is the absence of data on patients' race, a factor that could have influenced nephrotoxicity risk. The lack of a severity score was compensated for the collection of data on different patient comorbidities and ICU stay, but it is still an important limitation of the study.

In summary, we report that L-AmB was associated with significantly lower rates of nephrotoxicity in comparison to both d-AmB and ABLC. This reduction in toxicity translated to clinical impact: L-AmB, but not ABLC, was associated as a protective factor for mortality in these patients. We also observed that L-AmB-treated patients had a trend towards a shorter LOS in the hospital. Results of this large study reinforce the importance of nephrotoxicity associated with AmB use and the superiority of L-AmB, something that should be considered when evaluating cost-effectiveness of AmB formulations.

Acknowledgments

We thank Dr. Teresa Sukiennik for providing important data for this study. This work has been presented in part at the 23th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases held in Berlin, Germany, 27 April 2013 (Poster #1016). This investigator-driven research was supported by United Medical (a Gilead Sciences associate), Bagó Laboratories, and Fundação de Apoio a Pesquisa do Rio Grande do Sul

(FAPERGS). The sponsors had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation or writing of the report. The corresponding author had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Conflicts of interest

Dr Falci reports no conflicts of interest. Dr Pasqualotto reports grants and personal fees from United Medical, and grants from Bagó Laboratories, outside the submitted work. Ms. da Rosa has no conflicts of interest to declare.

References

- 1 Bates DW, Su L, Yu DT *et al.* Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clin Infect Dis* 2001; **32**: 686–93.
- 2 Hachem RY, Boktour MR, Hanna HA *et al.* Amphotericin B lipid complex versus liposomal amphotericin B monotherapy for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy. *Cancer* 2008; **112**: 1282–7.
- 3 Safdar A, Ma J, Saliba F *et al.* Drug-induced nephrotoxicity caused by amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B: a review and meta-analysis. *Medicine* 2010; **89**: 236–44.
- 4 Berdichevski RH, Luis LB, Crestana L, Manfro RC. Amphotericin B-related nephrotoxicity in low-risk patients. *Braz J Infect Dis* 2006; **10**: 94–99.
- 5 Deray G. Amphotericin B nephrotoxicity. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**(Suppl. 1): 37–41.
- 6 Ullmann AJ, Sanz MA, Tramarin A *et al.* Prospective study of amphotericin B formulations in immunocompromised patients in 4 European countries. *Clin Infect Dis* 2006; **43**: e29–38.
- 7 Cornely OA, Maertens J, Bresnik M *et al.* Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis* 2007; **44**: 1289–97.
- 8 Johnson PC, Wheat LJ, Cloud GA *et al.* Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 2002; **137**: 105–9.
- 9 Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C *et al.* Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med* 1999; **340**: 764–71.
- 10 Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL *et al.* Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin Infect Dis* 1998; **26**: 1383–96.
- 11 Walsh TJ, Yeldandi V, McEvoy M *et al.* Safety, tolerance, and pharmacokinetics of a small unilamellar liposomal formulation of amphotericin B (AmBisome) in neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; **42**: 2391–8.
- 12 Wingard JR, White MH, Anaissie E, Raffalli J, Goodman J, Arrieta A. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. L Amph/ABLC Collaborative Study Group. *Clin Infect Dis* 2000; **31**: 1155–63.
- 13 De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP *et al.* Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses

- Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; **46**: 1813–21.
- 14 Venkataraman R, Kellum JA. Defining acute renal failure: the RIFLE criteria. *J Intensive Care Med* 2007; **22**: 187–93.
 - 15 Ostermann M, Chang RW. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med* 2007; **35**: 1837–43; quiz 52.
 - 16 Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, Bates S, Ronco C. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. *Crit Care Med* 2006; **34**: 1913–7.
 - 17 Wade RL, Chaudhari P, Natoli JL, Taylor RJ, Nathanson BH, Horn DL. Nephrotoxicity and other adverse events among inpatients receiving liposomal amphotericin B or amphotericin B lipid complex. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; **76**: 361–7.
 - 18 Wingard JR, Kubilis P, Lee L *et al*. Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1999; **29**: 1402–7.
 - 19 Fujii T, Uchino S, Takinami M, Bellomo R. Validation of the kidney disease improving global outcomes criteria for AKI and comparison of three criteria in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; **9**(5): 848–54.
 - 20 Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int* 2012; **2**(Suppl.): 1–138.
 - 21 Srisawat N, Kellum JA. Acute kidney injury: definition, epidemiology, and outcome. *Curr Opin Crit Care* 2011; **17**: 548–55.
 - 22 Adler-Moore JP, Proffitt RT. Amphotericin B lipid preparations: what are the differences? *Clin Microbiol Infect* 2008; **14**(Suppl. 4): 25–36.
 - 23 Cagnoni PJ, Walsh TJ, Prendergast MM *et al*. Pharmacoeconomic analysis of liposomal amphotericin B versus conventional amphotericin B in the empirical treatment of persistently febrile neutropenic patients. *J Clin Oncol* 2000; **18**: 2476–83.
 - 24 Wade RL, Chaudhari P, Natoli JL, Taylor RJ, Nathanson BH, Horn D. Comparison of adverse events and hospital length of stay associated with various amphotericin B formulations: sequential conventional amphotericin b/lipid versus lipid-only therapy for the treatment of invasive fungal infections in hospitalized patients. *P T* 2013; **38**: 278–87.

ORIGINAL ARTICLE: CLINICAL

Hematological toxicities associated with amphotericin B formulations

Diego R. Falci^{1,2}, Franciane B. da Rosa² & Alessandro C. Pasqualotto^{2,3}

¹Hospital Nossa Senhora da Conceição and ³Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, ²Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Brazil

Abstract

Even though amphotericin B is associated with considerable hematological toxicity, this subject has been poorly studied. This retrospective cohort study assessed the incidence and predictors of hematological toxicity in patients treated with different amphotericin B formulations: amphotericin B deoxycholate (d-AmB), liposomal amphotericin B (L-AmB) and amphotericin B lipid complex (ABLC). A total of 497 patients were included. Severe anemia was independently associated with human immunodeficiency virus (HIV) infection (odds ratio [OR] 1.79; 95% confidence interval [CI]: 1.03–3.06). L-AmB use was marginally associated with reduced risk for severe anemia (OR 0.61; CI: 0.32–1.11). Severe leukopenia was associated with ABLC use (OR 2.58; CI: 1.05–6.21) and hematological cancer (OR 4.61; CI: 2.07–10.38). Hematological cancer (OR 5.00; CI 2.79–8.97) was independently associated with risk of severe thrombocytopenia. In this study, significant hematological toxicity was associated with amphotericin B treatment, along with previous hematological disease and use of myelotoxic drugs. Close monitoring is required when managing patients receiving amphotericin B formulations.

Keywords: Amphotericin B, anemia, leukopenia, thrombocytopenia, adverse events

Introduction

Anemia is a well-described adverse event related to the use of amphotericin B (AmB) [1]. Up to one-quarter of patients receiving this drug develop anemia, and the frequency of this complication may be as high as 95% if AmB is used for more than 30 days [2]. An early study showed that a fall in hematocrit of > 11 points occurred in 75% of treated patients, with 35% of these patients requiring a blood transfusion [1]. The occurrence of anemia negatively impacts patients' outcomes, resulting in prolonged hospitalization, the need for laboratory surveillance and eventually requirement of blood products. In this context, there are still limited data on the

clinical consequences of anemia caused by AmB use, either AmB deoxycholate (d-AmB) or the lipid formulations of AmB, liposomal AmB (L-AmB) and AmB lipid complex (ABLC).

In addition to anemia, leukopenia and thrombocytopenia have also been reported in patients receiving AmB. However, these effects appear to be less frequent in comparison to anemia, and their clinical meaning remains uncertain. A recent study reported that thrombocytopenia occurred in 57.9% of patients repeatedly receiving L-AmB. Furthermore, this study demonstrated that the dose of L-AmB significantly predicted thrombocytopenia, and that the daily dose of L-AmB resulting in a 50% probability of thrombocytopenia was 3.0 mg/kg/day [3,4].

Objectives

In this study we retrospectively assessed the incidence of hematological toxicity in patients treated with different formulations of AmB (d-AmB, L-AmB and ABLC), determining predictors for their occurrence and their clinical meaning.

Materials and methods

Design

This was a historical (retrospective) cohort study.

Setting

This study was conducted in Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, a bicentenary 1200-bed university hospital, located in Southern Brazil.

Subjects

Clinical data were extracted from patient notes and recorded into a standard clinical data form. All patients admitted between 2003 and 2012 and treated (for any reason) intravenously with a lipid formulation of AmB were considered for study. These included L-AmB (Ambisome; Gilead Sciences) and ABLC (Abelcet; Bagó Laboratories). The choice of a specific AmB formulation and dosing was made at the physician's discretion. There was no protocol for the specific

indication of lipid formulations of AmB. Patients who received d-AmB (generic formulation) in the study period were randomly selected for inclusion, in a 3:1 ratio to the lipid drugs, as long as they were hospitalized in the same year of inclusion. Randomization was computer-generated. The 3:1 ratio was chosen due to the greater rate of d-AmB utilization in our institution (mainly for economic reasons). For patients with multiple uses of different formulations of amphotericin, each use was counted as a new case.

Interventions

The following information was obtained from patients' records, at the beginning of antifungal therapy: demographic data (sex, age); weight; comorbidities; solid organ transplant (SOT) or hematopoietic stem cell transplant (HSCT) receipt; fungal disease in treatment (as per European Organisation for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group [EORTC/MSG] classification) [5]; recent (2 weeks) and concomitant use of erythropoietin (EPO) or myelotoxic drugs; requirement of blood products (red blood cells [RBCs], whole blood, platelets, fresh plasma or cryoprecipitate); and total blood cell counts. AmB formulation, dosage and length of treatment were also recorded.

Outcomes

Patients were evaluated for hematological toxicity at days 3, 7, 14 and 21 after the start of AmB. Criteria for toxicity were adapted from the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.03 (National Cancer Institute [http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf]). The main outcome was the occurrence of severe hematological toxicity due to any cause, defined as the appearance of at least one of four laboratory abnormalities during AmB treatment:

- (i) hemoglobin drop of at least 2 g/dL;
- (ii) hemoglobin drop to < 8 g/dL (defined as severe anemia);
- (iii) leukocyte count drop to < 2000 cells/mm³ or, if baseline count under 2000 cells/mm³, a decrease of 25% in leukocyte count (defined as severe leukopenia);
- (iv) platelet count drop to $< 50\,000$ cells/mm³ or, if baseline count under 50 000 cells/mm³, a decrease of 25% in platelet count (defined as severe thrombocytopenia).

Overall in-hospital mortality, and need for RBC and platelet transfusions, were also evaluated. There was no protocol in place for RBC and platelet transfusions, and the decision to use these interventions was made by the attending physician.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with JMP version 9 (SAS Inc.). Descriptive statistics were used to summarize patient characteristics and clinical outcomes. Continuous data were summarized by median (interquartile range [IQR]), if not otherwise specified. All statistical tests were two-tailed. In comparing dichotomous variables, the

p-value was calculated using Fisher's exact test or χ^2 test. For continuous variables, the *p*-value was calculated using the Wilcoxon method or Student's *t*-test, as deemed appropriate. Variables associated with a *p*-value of ≤ 0.20 in the univariate analysis of outcomes, or with a presumed role in treatment allocation, were included one-by-one in a logistic regression model, from the lowest to the highest *p*-value. The formulation used (d-AmB, L-AmB or ABLC) was maintained in the model regardless of the *p*-value. A *p*-value of 0.10 was set as the limit for retaining variables in the final model. Variables were examined for confounding and co-linearity.

Ethics

The study was approved by the local ethics committee (protocol 3466/10). This committee is recognized by the US Department of Health and Human Services (DHHS) as an Institutional Review Board (IRB00002509).

Role of the funding source

Funding sources had no role in the conduction of the research, preparation of the article, study design, collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report, and in the decision to publish the article.

Results

Baseline characteristics

A total of 208 patients received treatment with a lipid formulation of AmB during the study period (111 in L-AmB group and 97 in ABLC group). In addition, 289 patients exposed to d-AmB were included, giving a total of 497 patients in the study.

The baseline characteristics of patients treated with different AmB formulations are shown in Table I. Patients in the d-AmB arm were younger, had lower body weight, lower frequency of hematological cancer, less use of myelotoxic drugs (both concomitant/previous) and less receipt of transplant organs (either SOT or HSCT), in comparison to those on the lipid amphotericin formulations. Baseline hemoglobin was lower in patients in the lipid formulation groups, but leukocyte and platelet counts did not differ between groups. Groups were balanced regarding EORTC/MSG classification for invasive fungal disease. Considering all patients with proven or probable disease ($n = 186$), 40.3% had cryptococcosis, 31.2% candidosis, 13.4% histoplasmosis, 9.1% aspergillosis, 5.4% paracoccidiomycosis and 0.5% trichosporonosis.

Median time of exposure to AmB was 8 days. Median dosing (mg/kg/day) was 0.8, 3.3 and 4.3 for d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively. Patients on lipid formulations were more commonly previously exposed to AmB than patients on treatment with d-AmB.

The overall rate of nephrotoxicity in this cohort was 39.3% (defined by any stage of RIFLE classification [risk, injury, failure, loss of kidney function and end-stage kidney disease] [6]), and explored in detail elsewhere [7]. Nephrotoxicity was not associated with any of the hematological toxicities (data not shown).

Table I. Baseline characteristics of patients treated with different formulations of amphotericin B.

Variable	Amphotericin B formulation, number (%) of patients			p-Value
	d-AmB	L-AmB	ABLCL	
Female sex	130 (45.0)	56 (50.5)	38 (39.6)	0.291
Age, years (median, IQR)	42 (24.0–56.0)	47 (34.0–58.0)	52 (36.0–61.0)	< 0.001
Weight, kg (median, IQR)	60 (54.0–75.0)	65 (54.0–76.0)	64 (53.8–74.3)	< 0.001
HIV infection	56 (19.4)	17 (15.3)	15 (15.5)	0.512
Hematological cancer	49 (17.0)	30 (27.0)	23 (23.7)	0.060
Other cancers	18 (6.2)	11 (9.9)	11 (11.3)	0.207
Solid organ transplant	36 (12.5)	25 (22.5)	25 (25.8)	0.003
Hematopoietic stem cell transplant	9 (3.1)	7 (6.3)	9 (9.3)	0.053
Previous use of myelotoxic drugs				< 0.001
0	152 (54.7)	29 (27.1)	23 (23.4)	
1	77 (27.7)	40 (37.4)	22 (22.9)	
2	29 (10.4)	20 (18.7)	25 (26.0)	
3	16 (5.8)	18 (16.8)	16 (16.7)	
> 3	0	0	10 (10.3)	
Concomitant use of myelotoxic drugs				0.392
0	135 (48.6)	47 (43.9)	32 (34.0)	
1	80 (28.8)	34 (31.8)	32 (34.0)	
2	37 (13.3)	16 (15.0)	21 (22.3)	
3	18 (6.5)	7 (6.5)	6 (6.4)	
> 3	8 (2.8)	3 (2.8)	3 (3.2)	
Previous or concomitant use of EPO	17 (6.3)	6 (5.7)	7 (7.3)	0.900
Hemoglobin (median, IQR)	9.1 (7.8–10.9)	8.3 (7.2–9.6)	8.4 (7.1–9.9)	< 0.001
Leucocyte count/ μ L (median, IQR)	8765 (3723–15 995)	7385 (2735–14 533)	6990 (3443–12 025)	0.804
Platelet count/ μ L (median, IQR)	172 000 (61 000–284 500)	158 000 (472 50–277 750)	126 000 (35 750–237 750)	0.134
AmB dose, mg/kg (median, IQR)	0.8 (0.7–1.0)	3.3 (2.8–3.9)	4.3 (3.6–5)	NA
AmB cumulative dose, mg (median, IQR)	280 (140–545)	1600 (600–2800)	1800 (600–4350)	NA
Exposure to AmB (median, IQR)	9 (4–15)	7 (3–14)	8 (4–15)	0.419
Exposure to AmB				0.378
1–7 days	142 (49.1)	55 (49.6)	50 (51.5)	
8–14 days	79 (27.3)	38 (34.2)	24 (24.7)	
15 days or more	68 (23.5)	18 (16.2)	23 (23.7)	
Previous AmB	13 (4.5)	33 (29.7)	23 (23.7)	< 0.001
EORTC/MSG classification				0.195
Possible	187 (64.7)	65 (58.6)	58 (58.8)	
Probable	7 (2.4)	7 (6.3)	7 (7.2)	
Proven	95 (32.9)	39 (35.1)	32 (33.0)	

IQR, interquartile range; HIV, human immunodeficiency virus; EPO, erythropoietin; AmB, amphotericin B; EORTC/MSG, European Organisation for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group; d-AmB, AmB deoxycholate; L-AmB, liposomal AmB; ABLCL, AmB lipid complex.

Anemia

Severe anemia occurred in almost one-quarter of patients. There was a trend toward a lower frequency of severe anemia in patients treated with L-AmB (Table II) in comparison to the other groups. Indeed, reductions greater than 2 mg/dL were less frequent in patients receiving L-AmB. Also, therapy with L-AmB resulted in a lower reduction (baseline–nadir) in hemoglobin levels, in comparison to treatment with the other AmB formulations. Requirement of RBC transfusion was not different

($p = 0.490$) for patients treated with any of the formulations of AmB.

In the multivariate model (Table III), severe anemia was associated only with human immunodeficiency virus (HIV) infection, with a trend toward an association between severe anemia and concomitant use of myelotoxic drugs. Use of L-AmB was also marginally associated with a reduced risk for severe anemia.

A subgroup analysis only with patients without hematological cancer revealed that L-AmB was associated with

Table II. Adverse hematological events observed during therapy with amphotericin B formulations.

	Amphotericin B formulation, % of patients				p-Value
	All patients	d-AmB	L-AmB	ABLCL	
Severe anemia	24.5%	25.4%	16.8%	30.2%	0.089
Hemoglobin reduction > 2 mg/dL at end of treatment	24.8%	29.6%	13.3%	23.8%	0.007
Hemoglobin reduction, mg/dL (median, IQR)	0.9 (0–2)	1.2 (0.2–2.3)	0.3 (0–1.3)	0.8 (0–2)	< 0.001
Severe leukopenia	7.5%	6.0%	5.6%	13.8%	0.083
Severe thrombocytopenia	16.5%	15.9%	13.6%	21.8%	0.352
Indication for transfusion (RBC)	55.9%	54.0%	56.8%	60.8%	0.490
Indication for transfusion (platelets)	24.8%	22.1%	20.7%	37.1%	0.009
LOS among survivors, days (median, IQR)	23 (15–38)	26 (16–43)	20 (14–30)	19 (15–40)	0.127
Death	52.5%	53.3%	46.0%	57.7%	0.218
Days to death (median, IQR)	11 (5–25)	11 (5–25)	9 (3–23)	10 (4–26)	0.964

IQR, interquartile range; RBC, red blood cells; LOS, length of stay; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal amphotericin B; ABLCL, amphotericin B lipid complex.

Table III. Multivariate models for severe anemia, severe leukopenia and severe thrombocytopenia in patients receiving amphotericin B formulations.

Variable	Anemia, OR (95% CI)	Leukopenia, OR (95% CI)	Thrombocytopenia, OR (95% CI)
HIV infection	1.79 (1.03–3.06)		
Concomitant use of myelotoxic drugs	1.55 (0.96–2.55)		
Hematological cancer		4.61 (2.07–10.38)	5.00 (2.79–8.97)
Treatment group			
d-AmB	1 (ref.)	1 (ref.)	1 (ref.)
L-AmB	0.61 (0.32–1.11)	0.80 (0.24–2.24)	0.67 (0.31–1.36)
ABLC	1.26 (0.72–2.18)	2.58 (1.05–6.21)	1.33 (0.66–2.58)

HIV, human immunodeficiency virus; d-AmB, amphotericin B deoxycholate; L-AmB, liposomal amphotericin B; ABLC, amphotericin B lipid complex; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

a lower median reduction of hemoglobin (1.3 vs. 0.5 vs. 0.9 mg/dL with d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively; $p = 0.002$) and a lower frequency of hemoglobin reductions greater than 2 mg/dL (31.8% vs. 16.4% vs. 25.8% with d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively; $p = 0.039$). In a multivariate analysis only with this subgroup of patients, the only variable associated with severe anemia was concomitant use of myelotoxic drugs (odds ratio [OR] 1.88; 95% confidence interval [CI]: 1.08–3.31).

Leukopenia

Patients in the ABLC group experienced a trend toward a higher frequency of severe leukopenia (Table II) than patients on L-AmB or d-AmB ($p = 0.083$). In the multivariate analysis (Table III), variables associated with an increased risk of severe leukopenia were ABLC use and hematological cancer.

In a subgroup analysis excluding patients with hematological cancer, ABLC was associated with a higher frequency of severe leukopenia (3.6% vs. 0% vs. 11.2% with d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively; $p = 0.003$). A multivariate analysis showed that ABLC use (OR 4.15; 95% CI: 1.31–13.39) and HIV infection (OR 5.73; 95% CI: 1.85–18.90) were associated with severe leukopenia. L-AmB use was an independent protective factor in this subgroup (OR not calculated since no patient developed the outcome).

Thrombocytopenia

Similar incidences of severe thrombocytopenia were observed among groups. More patients in the ABLC group required platelet transfusion (37.1%) in comparison to the other groups (20.7% in L-AmB and 22.1% in d-AmB; $p = 0.009$) (Table II). In the multivariate analysis, only hematological cancer was independently associated with the occurrence of severe thrombocytopenia (Table III).

A subgroup analysis excluding patients with hematological cancer showed that L-AmB was associated with a lower frequency of severe thrombocytopenia (11.8% vs. 3.1% vs. 18.3% with d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively; $p = 0.014$). ABLC was associated with an increased need for platelet transfusion (15.4% vs. 4.9% vs. 27.0% with d-AmB, L-AmB and ABLC, respectively; $p < 0.001$). In the multivariate model within this subgroup, L-AmB use (OR 0.25; 95% CI: 0.04–0.87) was found to be an independent protective factor for the occurrence of severe thrombocytopenia. Other variables did not remain in the model to predict severe thrombocytopenia.

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study that specifically compared hematological side effects of treatment with different AmB formulations. Here we obtained real-life data from a large cohort of patients treated with AmB to document the frequency and predictors of hematological abnormalities in these patients. Based on this, we believe our results have the potential to be generalized to other medical centers around the world, with the possibility to facilitate the care of patients receiving AmB formulations.

Our study demonstrated a high frequency of severe anemia in patients treated with AmB in clinical practice (almost one-quarter of patients). Anemia was significantly associated with HIV infection. Concomitant use of myelotoxic drugs appears to contribute, in part, to that risk. The different formulations of AmB were associated with similar risks for anemia, but the data suggest that L-AmB is a safer option regarding the occurrence of anemia. Indeed, a significantly smaller fraction of patients with L-AmB had reductions in hemoglobin above 2 mg/dL (13.3% vs. 29.6% with d-AmB and 23.8% with ABLC; $p = 0.007$). Subgroup analysis excluding patients with hematological cancer confirmed that L-AmB was a safer option regarding this aspect. These results are in accordance with a previous comparison between L-AmB and ABLC [8]. Other studies, in contrast, did not report significant differences between AmB formulations regarding hematological abnormalities [9–12]. The mechanism of anemia caused by AmB is not completely understood, but it seems to involve a suppression of EPO production in renal tubular cells. AmB impairs the production of EPO induced by hypoxia through the inhibition of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1), a transcription factor and regulator of EPO production [13]. Since from the statistical perspective only a trend was observed regarding the protective role of L-AmB, underlying diseases (e.g. HIV infection) and concomitant use of myelotoxic drugs appeared to be more relevant in this cohort, regarding anemia risk.

We observed a high frequency (55.9%) of RBC transfusions in patients treated with AmB, particularly in patients receiving longer courses. Longer exposures to AmB have already been associated with increased need for RBC transfusions [1,14]. Use of different AmB formulations resulted in similar incidences of RBC transfusions, results that are in discordance with other observations [15]. We speculate that different thresholds for RBC transfusion between groups could justify these findings.

The frequency of severe leukopenia was low in this study (overall incidence 7.5%). Nevertheless, we found that severe leukopenia was independently associated with ABLC treatment (OR 2.58; 95% CI: 1.05–6.21). Severe leukopenia was also associated with hematological cancer, as expected. L-AmB and d-AmB presented similar risks for this outcome. Nevertheless, in patients without hematological cancer, L-AmB presented a lower rate of severe leukopenia, and the worst profile of ABLC was confirmed. Even though ABLC was already evaluated and found safe in patients with leukemia with fungal infections, no data about leukopenia associated with AmB treatment were provided [16]. Biological mechanisms causing leukopenia are not known, but toxicity of AmB to neutrophils *in vitro* has already been demonstrated [17]. One study compared the incidence of leukopenia between d-AmB and L-AmB, finding higher levels of toxicity (15–17%) than in our cohort, without a difference between these formulations [18]. An evaluation of d-AmB and L-AmB for the treatment of visceral leishmaniasis demonstrated a lower recuperation of leukocyte counts with d-AmB after 30 days of treatment [19]. The incidence of leukopenia in patients using ABLC has not been sufficiently evaluated. The higher frequency of leukopenia in patients treated with ABLC observed in our results could be explained by its unique molecular structure and pharmacological properties [20], but it is important to note that in our sample, patients receiving ABLC were the group with the highest percentage of previous and concomitant myelotoxic drugs, SOT and previous HSCT, variables probably affecting the leukocyte count.

Similar to leukopenia, severe thrombocytopenia was not very frequent in this cohort (15.9%). Severe thrombocytopenia was associated with hematological cancer, as expected. When these patients with hematological cancer are excluded, L-AmB was found to be a protective factor for severe thrombocytopenia. Patients receiving ABLC received more platelet transfusions. Since we did not have a specific protocol for platelet transfusions, definitive conclusions about ABLC toxicity are precluded. However, our results in this regard also suggest a worse safety profile associated with this formulation, and this aspect should be further studied. The mechanism of AmB-induced thrombocytopenia remains obscure, but probably is related more to platelet suppression rather than destruction, and appears to be reversible after cessation of AmB therapy [21,22]. Our results are in accordance with the wide range (5.8–57.9%) reported among the few studies that evaluated the frequency of this adverse event in patients receiving different AmB formulations [4,18].

One of the strengths of our study is its large sample size. Also, the study was conducted in a real-life scenario, which could translate our results directly to clinical practice. As expected, the real-life data were obtained from a very heterogeneous population. Study limitations include its retrospective design, prone to unmeasured confounding bias, non-standardized information and missing data. Lack of specific information on concomitant myelotoxic drug use, and timing, response and rate of discontinuation of the AmB formulation, in such a heterogeneous population could have hampered distinction between the hematological toxicity of AmB and that of the underlying disease or myelotoxic drugs.

The absence of a specific protocol for transfusions (RBC and platelets) is also an important limitation to the analysis of these particular outcomes.

Conclusions

The true incidence and related severity of hematological toxicity associated with AmB formulations are difficult to determine. Nevertheless, AmB treatment is associated with significant hematological adverse events and the frequency is not negligible. Previous hematological disease and the use of other myelotoxic drugs seem to be important co-factors for the development of toxicity. ABLC is associated with a higher risk of toxicity when compared to the other AmB formulations. On the other hand, L-AmB has a safer hematological profile. Nevertheless, a causal relationship cannot be conclusively established from these findings. Treatment with AmB formulations requires close hematological monitoring.

Acknowledgements

We thank Dr. Jill Adler-Moore for important insights regarding the subject.

This work was supported by United Medical, Bagó Laboratories and Fundação de Apoio a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Potential conflict of interest: Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at www.informahealthcare.com/lal.

References

- [1] Brandriss MW, Wolff SM, Moores R, et al. Anemia induced by amphotericin B. *JAMA* 1964;189:663–666.
- [2] Lin AC, Goldwasser E, Bernard EM, et al. Amphotericin B blunts erythropoietin response to anemia. *J Infect Dis* 1990;161:348–351.
- [3] Stein JB, Tolle SW. Episodic leukopenia associated with amphotericin B. *South Med J* 1983;76:409–410.
- [4] Shigemi A, Matsumoto K, Ikawa K, et al. Safety analysis of liposomal amphotericin B in adult patients: anaemia, thrombocytopenia, nephrotoxicity, hepatotoxicity and hypokalaemia. *Int J Antimicrob Agents* 2011;38:417–420.
- [5] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008;46:1813–1821.
- [6] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004;8:R204–R212.
- [7] Falci DR, da Rosa FB, Pasqualotto AC. Comparison of nephrotoxicity associated to different lipid formulations of amphotericin B: a real-life study. *Mycoses* 2015 Jan 15. [Epub ahead of print]
- [8] Wingard JR, White MH, Anaissie E, et al. A randomized, double-blind comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. L Amph/ABLC Collaborative Study Group. *Clin Infect Dis* 2000;31:1155–1163.
- [9] Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, et al. Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiLoad trial). *Clin Infect Dis* 2007;44:1289–1297.

- [10] Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, et al. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med* 1999;340:764-771.
- [11] Prentice HG, Hann IM, Herbrecht R, et al. A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. *Br J Haematol* 1997;98:711-718.
- [12] White MH, Bowden RA, Sandler ES, et al. Randomized, double-blind clinical trial of amphotericin B colloidal dispersion vs. amphotericin B in the empirical treatment of fever and neutropenia. *Clin Infect Dis* 1998;27:296-302.
- [13] Yeo EJ, Ryu JH, Cho YS, et al. Amphotericin B blunts erythropoietin response to hypoxia by reinforcing FIH-mediated repression of HIF-1. *Blood* 2006;107:916-923.
- [14] MacGregor RR, Bennett JE, Erslev AJ. Erythropoietin concentration in amphotericin B-induced anemia. *Antimicrob Agents Chemother* 1978;14:270-273.
- [15] Sharkey PK, Graybill JR, Johnson ES, et al. Amphotericin B lipid complex compared with amphotericin B in the treatment of cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1996;22:315-321.
- [16] Fleming RV, Kantarjian HM, Husni R, et al. Comparison of amphotericin B lipid complex (ABLC) vs. ambisome in the treatment of suspected or documented fungal infections in patients with leukemia. *Leuk Lymphoma* 2001;40:511-520.
- [17] Chunn CJ, Starr PR, Gilbert DN. Neutrophil toxicity of amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother* 1977;12:226-230.
- [18] Gilead Sciences. AmBisome (amphotericin B) liposome for injection [package insert]. 2012. Available from: www.gilead.com/~/media/Files/pdfs/medicines/other/ambisome/ambisome_pi.pdf%3E
- [19] Sundar S, Chakravarty J, Agarwal D, et al. Single-dose liposomal amphotericin B for visceral leishmaniasis in India. *N Engl J Med* 2010;362:504-512.
- [20] Adler-Moore JP, Proffitt RT. Amphotericin B lipid preparations: what are the differences? *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl. 4): 25-36.
- [21] Chan CS, Tuazon CU, Lessin LS. Amphotericin-B-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 1982;96:332-333.
- [22] Loo AS, Muhsin SA, Walsh TJ. Toxicokinetic and mechanistic basis for the safety and tolerability of liposomal amphotericin B. *Expert Opin Drug Saf* 2013;12:881-895.

Amphotericin B deoxycholate-associated nephrotoxicity in the pediatric population

Journal:	<i>Acta Paediatrica</i>
Manuscript ID:	SPAE-2015-0370
Manuscript Type:	Short Communication
Date Submitted by the Author:	20-May-2015
Complete List of Authors:	Falci, Diego; Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Serviço de Infectologia da Rosa, Franciane; Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Pasqualotto, Alessandro; Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre,
Keywords:	toxicity, infectious diseases, fungal infection

SCHOLARONE™
Manuscripts

Amphotericin B deoxycholate-associated nephrotoxicity in the pediatric population

Diego R. Falci^{1,2}, Franciane B. da Rosa¹, Alessandro C. Pasqualotto^{1,3}

¹ Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil;

² Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;

³ Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Short title: Amphotericin B toxicity in children

Corresponding author: Diego R. Falci. Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos St., Porto Alegre, 90.035-903, Brazil. Phone/fax: +55 (51) 3359-8000, e-mail: dfalci@hcpa.edu.br

1
2
3 In the pediatric setting, the morbidity and mortality of patients with fungal diseases had
4 increased in the last decades (1, 2). This increased occurred mainly because the rise of
5 immunosuppressed patients, due to cancer treatments, transplants, antimicrobial use, AIDS,
6 and very low weight neonates (1, 2).
7
8
9

10
11 Amphotericin B (AmB) is still considered the mainstay of antifungal therapy and the gold
12 standard for many fungal diseases. However, it has been associated to considerable toxicity.
13
14 Nephrotoxicity and infusion-related reactions are the most common drawbacks with
15 amphotericin B deoxycholate (d-AmB) administration (3). Nephrotoxicity has the potential to
16 increase mortality, length of stay, and hospital costs (4, 5).
17
18
19
20
21

22
23 Although recent data indicate that AmB nephrotoxicity rates in children are comparable to adults
24 (5), renal damage is less severe, and usually reversible (1). Different definitions and specific
25 age concerns (neonates versus older children) complicate conclusions about the renal toxicity
26 and its clinical impact (1, 6, 7). However, there is concern that nephrotoxicity can also result in
27 later consequences to children health (8).
28
29
30
31
32

33
34 There is scarcity of studies evaluating nephrotoxicity using validated criteria and in different
35 population profiles. Here we studied the occurrence of nephrotoxicity associated with the use of
36 d-AmB in a heterogeneous group of children, using standardized criteria to define kidney
37 damage.
38
39
40
41

42
43 We conducted a retrospective (historical) cohort study from January 2003 to December 2012 at
44 Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre, Brazil. Patients under 13 years old, treated
45 intravenously for any reason with d-AmB were included. Information on fungal disease and risk
46 factors for renal impairment, including use of nephrotoxic drugs, were obtained from patients'
47 records. Nephrotoxicity was determined according to the modified pediatric RIFLE criteria
48 (without urine outputs) (9). We used JMP version 9 (SAS Inc., Cary, NC, USA) for statistical
49 analysis. Descriptive statistics were used to summarize patient characteristics and clinical
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 outcomes. In comparing dichotomous variables, the p value was calculated by using Fisher's
4 exact test or the chi-square test. All statistical tests were two-tailed. The study was approved by
5 the local ethics committee.
6
7

8
9 Fifty-three patients were included. Patients' characteristics are summarized in Table 1. Most
10 patients (63.3%) were non-neonates. Median age (excluding neonates) was 4 years. Patients
11 were mostly in the pediatric intensive care unit (PICU) at the start of antifungal therapy. Overall
12 renal function was well preserved in baseline, but 12 patients (25.6%) had a previous diagnosis
13 of nephropathy. The majority of patients had previously used nephrotoxic drugs, mostly
14 vancomycin (62.3%) and diuretics (47.2%). Concomitant use of nephrotoxic drugs was found in
15 58.5% of patients. Most patients had possible fungal disease according to European
16 Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group classification (10).
17 *Candida* species were the most frequently identified pathogens (85.7%), followed by species of
18 *Aspergillus* (7.1%) and *Trichosporon* (7.1%).
19

20
21 Forty patients were evaluable for nephrotoxicity (six patients entered the study on dialysis and
22 thus were excluded of nephrotoxicity analysis, and seven patients had missing data for this
23 outcome). Of the evaluable patients, 17 (42.5%) had kidney damage (any p-RIFLE) (Table 2).
24 Renal injury measured by any p-RIFLE classification did not differ significantly between
25 neonates and non-neonates (53.9% vs. 37.0%, $p=0.314$). Regarding to evolution to dialysis,
26 10.6% of patients needed renal replacement therapy. Evolution to dialysis was more frequent in
27 the neonate group than the non-neonate group (23.5% vs. 3.3%, $p=0.031$). Electrolyte
28 abnormalities were frequent in the cohort (62% developed hypokalemia and 40%
29 hypomagnesaemia), even though the majority of patients could not be evaluated. Most patients
30 (86%) had not received daily saline loading.
31

32
33 This study involving a large population of children treated with d-AmB showed that the rate of
34 nephrotoxicity (42.5%) was similar to that has been described for the adult population (11). Also,
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52

1
2
3 7.5% of patients in the evaluable cohort had significant severe kidney damage (p-RIFLE
4
5 'Failure'). Dialysis was required by 10.6% of patients.
6

7
8 Children may demonstrate less severe damage after d-AmB use due to better hydration and
9
10 higher sodium intake, and less exposure to d-AmB in mg/m², in comparison to adult patients (1).
11
12 This is particularly true in neonates (12, 13), where there is consensus towards d-AmB as the
13
14 preferential AmB formulation (14). Interestingly, in our study, evolution to dialysis was more
15
16 frequent in the neonate group than the non-neonate group. This data highlight the risk of severe
17
18 nephrotoxicity and need for dialysis associated to d-AmB therapy even in this population. It is to
19
20 be noted that risk factors for nephropathy (previous nephropathy, previous and concomitant
21
22 nephrotoxic drug use, PICU stay) were widely present in our sample and probably driven the
23
24 trend toward increased damage. Nevertheless, in the clinical practice, pediatric patients
25
26 requiring amphotericin B treatment are often in the PICU, receiving nephrotoxic agents, such as
27
28 our cohort. Mortality observed was very high (43.4%), reflecting the severity of patients
29
30 included.
31
32

33
34 Lipid formulations of AmB have been developed to reduce incidence of adverse effects and
35
36 potentially improve outcomes (2). However, the high cost associated to these new formulations,
37
38 and questioning about the real benefit of such interventions in pediatric patients, had precluded
39
40 its wide utilization in the pediatric population. Nephrotoxicity is uncommon with AmB lipid
41
42 formulations, especially in the absence of concomitant nephrotoxic drugs. AmB deoxycholate
43
44 was described as more nephrotoxic than amphotericin B lipid complex (ABLC) in a retrospective
45
46 study that involved 138 children treated for culture proven candida infections; kidney
47
48 compromise however, resolved within a week (6). A pooled analysis of 395 children treated with
49
50 amphotericin B formulations revealed a 57% decreased risk of nephrotoxicity when lipid
51
52 formulations were administered compared to d-AmB (RR 0.43; IC95% 0.21 - 0.90; p<0.02) (2).
53
54
55 However, these results must be interpreted with caution because the authors observed
56
57

1
2
3 significant heterogeneity. When the studies using amphotericin B colloidal dispersion (ABCD)
4 were excluded, nephrotoxicity protection conferred by lipid formulations disappeared (2). It is
5 noteworthy that ABCD is currently unavailable in many countries, including Brazil.
6
7

8
9 Besides that, occurrence of nephrotoxicity in a scenario with optimal renal protective measures
10 is not yet well known; here, we do not have evaluated sodium intake, a factor that could
11 influence nephrotoxicity risk in neonates (12, 13), and probably older children as well (1).
12
13

14
15 In conclusion, our data from a cohort of pediatric patients treated with d-AmB confirm that this
16 drug is frequently associated with nephrotoxicity. The not negligible frequency of severe renal
17 damage and need for dialysis reinforce the importance of nephrotoxicity associated to d-AmB
18 therapy, even in the neonate population. There is need for a safer strategy of treatment, at least
19 for patients with risk factors for nephrotoxicity. Since our population had several risk factors for
20 nephrotoxicity (notably, nephrotoxic drug use and PICU stay), studies comparing different
21 formulations of AmB are needed to evaluate the potential risk of these interventions in different
22 patient profiles.
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

36 **Acknowledgements**

37
38 The authors would like to thank Professor Eliane Dallegrave and Professor Dinara Jaqueline
39 Moura, for important insights into this study.
40
41
42
43

44 **Funding**

45
46 This work was supported by United Medical (a Gilead Sciences associate), Bagó Laboratories,
47 and Fundação de Apoio a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).
48
49
50
51
52

53 **Conflicts of interest**

54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 Dr. Falci reports no conflicts of interest. Dr. Pasqualotto reports grants and personal fees from
4 United Medical, and grants from Bagó Laboratories, outside the submitted work. Ms. da Rosa
5 has no conflicts of interest to declare.
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review Only

List of abbreviations

AmB: amphotericin B

d-AmB: amphotericin B deoxycholate

PICU: pediatric intensive care unit

ABLC: amphotericin B lipid complex

ABCD: amphotericin B colloidal dispersion

For Peer Review Only

References

1. Bes DF, Rosanova MT, Sberna N, Arrizurieta E. Deoxycholate amphotericin B and nephrotoxicity in the pediatric setting. *The Pediatric infectious disease journal*. 2014; 33:e198-206
2. Blyth CC, Hale K, Palasanthiran P, O'Brien T, Bennett MH. Antifungal therapy in infants and children with proven, probable or suspected invasive fungal infections. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2010: Cd006343
3. Sabra R, Branch RA. Amphotericin B nephrotoxicity. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*. 1990; 5:94-108
4. Bates DW, Su L, Yu DT, Chertow GM, Seger DL, Gomes DR, et al. Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2001; 32:686-93
5. Horwitz E, Shavit O, Shouval R, Hoffman A, Shapiro M, Moses AE. Evaluating real-life clinical and economical burden of amphotericin-B deoxycholate adverse reactions. *International journal of clinical pharmacy*. 2012; 34:611-7
6. Dutta A, Palazzi DL. Risk factors of amphotericin B toxicity in the nonneonatal pediatric population. *The Pediatric infectious disease journal*. 2012; 31:910-4
7. Le J, Adler-Shohet FC, Nguyen C, Lieberman JM. Nephrotoxicity associated with amphotericin B deoxycholate in neonates. *The Pediatric infectious disease journal*. 2009; 28:1061-3
8. Goldman RD, Koren G. Amphotericin B nephrotoxicity in children. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2004; 26:421-6
9. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney international*. 2007; 71:1028-35

- 1
2
3 10. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al.
4
5 Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research
6
7 and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National
8
9 Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus
10
11 Group. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of
12
13 America. 2008; 46:1813-21
14
15
16 11. Bes DF, Rosanova MT, Sberna N, Arrizurieta E. Deoxycholate Amphotericin B and
17
18 Nephrotoxicity in the Pediatric Setting. The Pediatric infectious disease journal. 2014;
19
20
21 12. Holler B, Omar SA, Farid MD, Patterson MJ. Effects of fluid and electrolyte management
22
23 on amphotericin B-induced nephrotoxicity among extremely low birth weight infants. Pediatrics.
24
25 2004; 113:e608-16
26
27 13. Turcu R, Patterson MJ, Omar S. Influence of sodium intake on Amphotericin B-induced
28
29 nephrotoxicity among extremely premature infants. Pediatric nephrology (Berlin, Germany).
30
31 2009; 24:497-505
32
33
34 14. Turkova A, Roilides E, Sharland M. Amphotericin B in neonates: deoxycholate or lipid
35
36 formulation as first-line therapy - is there a 'right' choice? Current opinion in infectious diseases.
37
38 2011; 24:163-71
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Tables

Table 1. Characteristics of children receiving treatment with amphotericin B deoxycholate.

Demographic and comorbidities	n (%)
Female sex	20 (37.7)
Age, median (IQR), years	4 (1.5-7.5)
Neonates	20 (37.7)
Weight, median (IQR), years	9 (3.2-18)
Height, median (IQR), m	0.8 (0.5-1.1)
Transplant recipient	7 (13.2)
Cancer	10 (18.9)
Hematological Cancer	7 (13.2)
Pediatric Intensive Care Unit	44 (83.0)
Shock requiring vasoactive drugs	5 (9.4)
Renal disease	
Nephropathy	12 (25.6)
Previous dialysis	6 (11.3)
Previous use of nephrotoxic drugs	36 (67.9)
Concomitant use of nephrotoxic drugs	31 (58.5)
Baseline serum creatinine, median (IQR), mg/dL	0.6 (0.4-0.9)
Baseline calculated creatinine clearance, median (IQR), ml/min/1.73m ²	58.8 (33.8-78.7)
Fungal infection, EORTC/MSG classification	
Possible	39 (73.6)
Probable	2 (3.8)
Proven	12 (22.6)
Fungal disease (proven or probable)	
Aspergillosis	1 (7.1)
Candidiasis	12 (85.7)
Trichosporonosis	1 (7.1)
Amphotericin B use	
Exposure to AmB, median (range), days	12 (6-15)
Dosing, median (range), mg/kg/day	1.02 (0.5-10)
Previous AmB use	2 (3.8)

Notes. Data about age excluded neonates. IQR, interquartile range. EORTC, European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group.

Table 2. Renal toxicity and other outcomes observed in children during amphotericin B therapy.

Nephrotoxicity evaluation (n=40)	
Pediatric RIFLE classification	n (%)
No toxicity	23 (57.5)
R (risk)	11 (27.5)
I (injury)	3 (7.5)
F (failure)	3 (7.5)
Any p-RIFLE (R, I, or F)	17 (42.5)
Maximum serum creatinine level, median (range), mg/dL	0.7 (0.3-3.4)
100% increase in serum creatinine	5 (12.5)
Hypokalemia (n=27)	17 (62.9)
Hypomagnesemia (n=10)	4 (40.0)
Other outcomes	
Dialysis requirement (n=47)	5 (10.6)
Death (n=53)	23 (43.4)

4 Considerações finais

O trabalho demonstrou que L-AmB está associada a um risco menor de nefrotoxicidade grave, quando comparada a outras formulações de AmB. Além disso, L-AmB está associada com menor incidência de alterações eletrolíticas e menor tempo de permanência hospitalar, do que seus comparadores. Uma redução na mortalidade hospitalar foi observada, em relação as outras formulações, nos pacientes que receberam L-AmB.

Surpreendentemente, a proporção de pacientes com evolução para diálise foi similar entre os grupos que receberam as três diferentes formulações, apesar da clara associação (risco 6 vezes maior) entre a necessidade de diálise e mortalidade.

O estudo da toxicidade hematológica demonstrou uma frequência elevada de anemia grave em pacientes tratados com AmB (aproximadamente um quarto dos pacientes). A anemia foi associada significativamente com a infecção pelo HIV; as diferentes formulações de AmB apresentaram um risco semelhante para a ocorrência de anemia. Entretanto, os resultados sugerem que L-AmB é uma opção mais segura em relação a este aspecto: uma fração significativamente menor de pacientes com L-AmB apresentou reduções na hemoglobina acima de 2 g/dL, e uma análise de subgrupo excluindo os pacientes com neoplasia hematológica confirmou um risco menor para anemia grave em pacientes recebendo L-AmB.

Observamos uma frequência elevada (55,0%) de transfusões de concentrado de hemácias, nos pacientes recebendo formulações de AmB, particularmente em pacientes com maior tempo de tratamento. O uso das

diferentes formulações resultou em incidências semelhantes de transfusões de hemácias, podendo-se especular que diferentes limiares para transfusão entre os grupos, além da gravidade dos pacientes nos grupos, poderiam justificar esse achado.

A frequência de leucopenia grave foi baixa (7,5%) no estudo. Existiu uma associação independente entre a ocorrência de leucopenia e tratamento com ABLC. Como esperado, leucopenia foi também associada a neoplasia hematológica; em uma análise de subgrupo excluindo os pacientes com câncer hematológico, o perfil desfavorável de ABLC foi confirmado. A trombocitopenia grave também não foi muito frequente (15,9%) no estudo. Esta, como esperado, foi associada a neoplasia hematológica. Quando excluídos os pacientes com neoplasia hematológica, L-AmB foi demonstrado como um fator protetor para trombocitopenia severa, em uma análise ajustada.

O estudo também envolveu uma população grande de crianças tratadas com d-AmB, demonstrando, em uma análise em separado, que a incidência de nefrotoxicidade (42,5%) foi similar a que já foi descrita para a população adulta. Além disso, 7,5% dos pacientes apresentaram lesão renal grave (p-RIFLE estágio "F"). De forma inesperada, a evolução para diálise ocorreu mais frequentemente no grupo de neonatos, em comparação aos não-neonatos. Isso provavelmente ocorreu pois os pacientes neonatos estavam mais expostos a outros fatores de risco associados a nefrotoxicidade, como uso de medicamentos nefrotóxicos, internação em unidade de terapia intensiva pediátrica e sepse grave. Esses resultados apontam para um elevado risco de nefrotoxicidade nessa população.

Os achados dessa coorte reforçam a necessidade uma estratégia mais segura de tratamento, em pacientes que apresentem fatores de risco para nefrotoxicidade (notadamente, uso concomitante de medicamentos nefrotóxicos e internação em UTI pediátrica). Os fatores de risco devem ser fortemente considerados na decisão de escolha de uma formulação de AmB em crianças. Estudos comparativos de d-AmB com formulações lipídicas são necessários para avaliação do real benefício dessas intervenções em pacientes pediátricos, com diferentes condições clínicas pré-tratamento.

Este trabalho representa a maior coorte realizada em um único centro médico, até o momento, desenhada especificamente para avaliação da frequência e preditores de toxicidade renal e hematológica com diferentes formulações de AmB. Um ponto forte do estudo é obviamente a magnitude de sua amostra; a diversidade de condições onde foi utilizada AmB, incluindo uma grande variedade de pacientes em um cenário de vida real, mais direcionado a prática clínica diária, são outras vantagens. Evidentemente o tamanho da amostra e a diversidade das condições clínicas dos pacientes são vantagens do estudo, mas a heterogeneidade da amostra dificulta a análise e conclusões. Por outro lado, os dados mais próximos da realidade clínica facilitam a generalização desses resultados para os diferentes contextos clínicos, melhorando a qualidade do cuidado aos pacientes recebendo formulações de AmB.

Um aspecto do trabalho que o difere de outros na literatura dentro do tema da toxicidade renal é o uso de critérios baseados em evidências, padronizados, como o RIFLE, para definição de nefrotoxicidade. Entre suas limitações pode-se incluir o desenho retrospectivo – sujeito a vieses de

confusão não-avaliados, informação não-padronizada registrada em prontuários médicos e perda de dados. Os dados relacionados a nefrotoxicidade foram mais suscetíveis a perdas, já que as definições do critério RIFLE dependem da creatinina sérica e esta por muitas vezes não foi mensurada de forma sistemática. Entretanto, os dados referentes a mortalidade são menos afetados por perdas e representam com mais propriedade toda a população. Outra limitação do estudo é a ausência de dados sobre a etnia dos pacientes, um fator que pode ter influenciado o seu risco para nefrotoxicidade. A ausência de um escore de gravidade foi compensada pela coleta de dados sobre comorbidades e internação em UTI, mas ainda é um importante limitador do estudo.

A ausência de dados específicos sobre uso concomitante de medicamentos mielotóxicos (tempo de uso, dose), resposta ao tratamento antifúngico e interrupção do tratamento com AmB por toxicidade, em uma população heterogênea pode dificultar a diferenciação entre toxicidade hematológica associada a AmB e aquela advinda da doença de base ou de agentes mielotóxicos concomitantes. A ausência de um protocolo para transfusão de hemácias e de plaquetas é um outro fator limitante do estudo, para a análise destes desfechos. A incidência real e gravidade traduzida em impacto clínico da toxicidade hematológica associada ao tratamento com formulações de AmB são difíceis de determinar. Entretanto, o tratamento com AmB está associado com efeitos adversos hematológicos importantes e sua frequência não é negligível. Doença hematológica prévia e o uso de outros agentes mielotóxicos parecem ser cofatores importantes para o desenvolvimento de toxicidade. ABLC está associado com um risco maior de

toxicidade quando comparado as outras formulações de AmB. Por outro lado, L-AmB tem um perfil hematológico mais seguro. É importante ressaltar que umnexo causal não pode ser estabelecido de forma conclusiva a partir destes resultados. O tratamento com formulações de AmB requer um rígido monitoramento hematológico.

Em resumo, relata-se uma redução significativa na nefrotoxicidade associada com o uso de L-AmB, em relação ao uso das outras formulações (d-AmB e ABLC). Essa redução na toxicidade traduziu-se em desfechos clínicos: somente L-AmB foi considerada um fator protetor para mortalidade nesses pacientes. Ainda, os pacientes tratados com L-AmB tiveram uma tendência a permanecer menos tempo hospitalizados. Os resultados desse estudo reforçam a importância da nefrotoxicidade associada ao uso de AmB e a superioridade de L-AmB em relação a outras formulações, o que deve ser fortemente considerado quando avalia-se a custo-efetividade dessas intervenções.

5 Anexos

Instrumento de coleta de dados (estudo nefrotoxicidade)

Instrumento de coleta de dados (estudo toxicidade hematológica)

Parecer Comitê de Ética em Pesquisa – Santa Casa de Porto Alegre

Parecer Comitê de Ética em Pesquisa – UFCPSA

Ficha clínica de acompanhamento

Iniciais do paciente:

Sexo: () M () F **Idade:** _____ anos **Peso:** _____ kg **Altura:** _____ cm

Doenças de base:

() DM () HAS () HIV () Hepatopatia crônica
 () Nefropatia - qual? _____
 () Tx – qual? _____ () Neoplasia – qual?

() Outras condições: _____

Nas 2 semanas antes de iniciar anfotericina:

() Vancomicina () Polimixina B () Amicacina () Gentamicina
 () Ciclosporina () Tacrolimus () Aciclovir () Ganciclovir
 () Foscarnet () Indinavir () Tenofovir () AINEs
 () iECA () Diuréticos () Contraste IV () Outro – qual?

() Quimioterapia – qual?

No momento do início da anfotericina:

() Choque () UTI () Diálise

Sobre a anfotericina:

() Anfo deoxicolato () Anfo lipossomal (Ambisome) () Anfo complexo lipídico (Abelcet)

Data do início: __/__/____

Dia	Dose (mg/dia)	Tempo de infusão (horas)	Reposição salina (≥ 1 litro/dia) – S ou N
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			

Dose total: ___ mg

Duração total: ___ dias

	<i>Baseline</i>	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Cretinina (mg/dl)					
DCE					
Potássio					
Magnésio					
Ph urinário					
Nefrotoxinas (S/N)					

Exames micológicos positivos (cultura / sorologia):

Exames histopatológicos positivos para fungos:

Doença fúngica (EORTC/MSG): () Possível () Provável () Comprovada**Desfecho:** () Alta () Óbito Data: __/__/__

Número de dias entre início da anfo e o desfecho: ___

Diálise: () S () N Data: __/__/__

Número de dias entre início da anfo e diálise: ___

Número total de dias de UTI após início da anfo: ____

Número total de dias de internação após início da anfo: ____

Toxicidade medular ficha clínica

paciente: [_____]

data do início da Anfotericina B: [_____]

Drogas mielotóxicas

Abacavir	Gemcitabina	Acido Zoledrônico
Altretamina	Gemtuzumab	
Anfotericina B	Ozogamicina	
Anfotericina B	Hidroxiuréia	
complexo lipídico	Idarrubicina	
Anfotericina B	Ifosfamide	
lipossomal	Imatinib	
Anastrozole	Interferon gamma	
Azatioprina	Interferon alpha	
Bexarotene	Irinotecan	
Busulfan	Lamivudina	
Capecitabina	Lomustina	
Carboplatin	Mecloretamina	
Carmustine	Melfalan	
Clorambucil	Mercaptopurina	
Cloranfenicol	Metotrexata	
Clozapina	Micofenolato	
Cisplatina	Mitomicina	
Cladribina	Mitoxantrona	
Colchicina	Paclitaxel	
Ciclofosfamide	Pegaspargase	
Citarabina	Pentostatina	
Dacarbazina	Plicamicina	
Dactinomicina	Procarbazina	
Daunorrubicina	Sulfadiazina	
Daunorubicina	Sulfametoxazol/Trimet	
lipossomal	oprim	
Didanosina	Streptozocina	
Docetaxel	Temozolomida	
Doxorrubicina	Teniposida	
Doxorrubicina	Thioguanina	
lipossomal	Thiotepa	
Eflornitina	Topotecan	
Epirubicina	Trimetrexato	
Estavudina	Mustarda Uracil	
Etoposide	Valganciclovir	
Floxuridine	Valrubicina	
Flucitosina	Vidarabina	
Fludarabina	Vinblastina	
Fluorouracila	Vincristina	
Foscarnet	Vinorelbina	
Ganciclovir	Zidovudina	

Uso **nas duas semanas anteriores** ao início da anfotericina B: []sim []não

Número de drogas mielotóxicas: [_____]

Uso **concomitante a anfotericina B**: []sim []não

Número de drogas mielotóxicas: [_____]

USO DE ERITROPOETINA *antes do início da anfotericina* []sim []não

Exames durante o uso de anfotericina

Dias de uso da anfotericina B: [_____]

	<i>Baseline</i>	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
Hemoglobina					
Hematócrito					
Leucócitos					
Segmentados					
Eosinófilos					
Basófilos					
Linfócitos					
Monócitos					
Plaquetas					

USO DE ERITROPOETINA *após o início da anfotericina* []sim []não

Transusão de hemoderivados após o início da anfotericina

Especificar a quantidade de transfusões – número de **dias que recebeu (não o número de unidades)** - desde o início da anfotericina até 30 dias depois

CHAD [_____]

Sangue total [_____]

Plaquetas [_____]

Plasma fresco [_____]

Crioprecipitado [_____]

Diego Falci



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

CEP – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**Protocolo para apresentação de Projeto de Pesquisa aprovado pelo
CEP ISCMPA**

Data de recebimento CEP UFCSPA	Número
23/05/2011	007/11

Nome do projeto: Avaliação da frequência e impacto da nefrotoxicidade de anfotericina B em diferentes formulações.

Autores: Alessandro Pasqualotto, Teresa Sukiennik, Franciane da Rosa e Diogo Falci.


Protocolo: 3466/10

Parecer: 026/011

Data de Aprovação no CEP ISCMPA: 21/01/2011

Situação: Homologado

Data: 25/05/2011



José Geraldo Vernet Taborda
Coordenador do CEP/UFCSPA



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer nº 026/011

Protocolo nº 3466/10

Título: “Avaliação de frequência e impacto da nefrotoxicidade de anfotericina B em diferentes formulações”.

Pesquisador Responsável: Alessandro Comarú Pasqualotto

Instituição onde se realizará – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Data de Entrada: 08/12/2010

II – Objetivos – Objetivo Primário: Avaliar a incidência de nefrotoxicidade observada em tratamentos com anfotericina B nas diferentes formulações: Abelcet, Ambisome e anfotericina B deoxicolato.
Objetivo Secundário: Determinar o impacto clínico da ocorrência de nefrotoxicidade, em termos de tempo de internação, mortalidade e requerimento de diálise.

III - Sumário do Projeto

Descrição e caracterização da amostra: Estudo de coorte retrospectivo. O estudo será conduzido em uma única instituição, a Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, um Complexo Hospitalar bicentenário de 1.200 leitos. Para o cálculo do tamanho da amostra, utilizamos um nível de significância de 95% e um poder de estudo de 80%. Foram consideradas as incidências presumidas de nefrotoxicidade nos diferentes grupos conforme os dados da literatura. Considerou-se a maior utilização de anfotericina B deoxicolato na instituição e a possibilidade de comparação 2:1 com este grupo. O tamanho da amostra calculado foi de 160 pacientes no grupo *Ambisome*, 160 no grupo *Abelcet* e 320 no grupo anfotericina B deoxicolato, já considerando 20% a mais por possíveis perdas.

Crterios de inclusão e exclusão: Serão considerados para o estudo todos os pacientes que fizerem uso de alguma formulação de anfotericina durante o período de 01/01/2005 a 31/10/2010, na instituição referida.

Adequação das condições - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito.

IV -Comentários:

- **Justificativa do uso de placebo** – Não se aplica.

- **Análise de riscos e benefícios** – Adequado.

- **Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo** – Não se aplica TCLE, foi apresentado Termo de confidencialidade, adequado.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA
Reconhecido:

Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.



Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 295 – Telefone: (51) 3214.8080 – Fax: (51) 3214.8585
CEP 90020-090 – Porto Alegre – Rio Grande do Sul – CNPJ: 92815000/0001-68
Site: www.santacasa.org.br – E-mail: marketing@santacasa.tche.br



-Informação adequada quanto ao financiamento – Adequado.

-Outros centros no caso de estudos multicêntricos – Não se aplica.

V - Parecer do Relator — “Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer”.

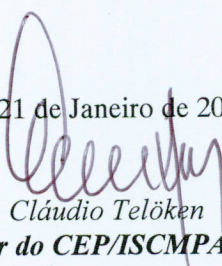
VI - Data da Reunião: 04/01/2011.

“Projeto e Termo de Confidencialidade, Aprovados”.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Porto Alegre, 21 de Janeiro de 2011.


Prof. Dr. Cláudio Telöken
Coordenador do CEP/ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA
Reconhecido:

Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br

Parecer 026/11

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.