



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE POS GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRENO KRISTOFFER UCHÔA BELEZA

**CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE RIFAMPICINA EM  
PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR**

BELÉM – PA

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE POS GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

## **CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE RIFAMPICINA EM PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR**

**Autor: Breno Kristoffer Uchôa Beleza**

**Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM – PA

2017

BRENO KRISTOFFER UCHOA BELEZA

## **CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE RIFAMPICINA EM PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau em Mestrado em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof.Dr. José Luiz Fernandes Vieira

Data de Aprovação: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCAEXAMINADORA:

---

---

---

José Luiz Fernandes Vieira  
Universidade Federal do Pará

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Pimentel e Soraia, pelos valores e princípios de vida que me ensinaram ao longo da minha vida, e minha irmã Raphaelle Christinne Uchôa Beleza e toda minha família pelo apoio.

A minha noiva Heliana Barreto Huet de bacelar por todo seu amor, carinho, conselhos e apoio ao longo da nossa caminhada.

Aos verdadeiros Amigos que sempre me apoiam e torcem por mim. Em especial "Tio" Ed Nilson Ferreira Oliveira (*in memoriam*).

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Dr. José Luiz Fernandez Vieira que me acolheu quando estava sem orientador e projeto e dedicou seu tempo, deu conselhos, compartilhou seus conhecimentos além da amizade ao longo desses anos, desde o primeiro semestre da graduação do curso de Farmácia.

À minha noiva Heliana Huet de Bacelar pelo apoio incondicional, os conselhos, e toda ajuda que me proporcionou não apenas neste trabalho, como também em toda trajetória do mestrado. Nos momentos mais difíceis e que pensei até desistir do mestrado ela aturou meu mau humor e meu deu forças nos momentos de tristezas.

Aos meus pais, Pimentel e Soraia, que me deram apoio e sabedoria para os momentos difíceis e me proporcionaram condições para que pudesse realizar mais esta etapa em minha vida.

Aos meus companheiros de Laboratórios Toxicologia da UFPA, por estarem presentes e ajudarem nos momentos mais difíceis e compartilharem do mesmo sentimento na concepção desse trabalho, em especial para Ana Carla Pinto, Stefania de Medeiros Araújo Lucena, Juan Gonzalo Bardález Rivera, Margareth Tavares Silva, Francisca Elinalva Galvão e Thiago Portal.

À todos os professores da Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas por todos os ensinamentos transmitidos, por compartilharem suas experiências de vida sobre a profissão, pelos conselhos, chamadas de atenção e também pelas risadas nos momentos de descontração.

Ao Amigo Dr Carlos Albério pelo auxílio nas coletas de sangue dos pacientes e conselhos durante a realização do trabalho.

## EPÍGRAFE

*“A sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então, com todo coração, dedicar-se a ele.”*

*Buda*

## RESUMO

BELEZA, B. K. U. **Concentrações Sanguíneas de Rifampicina em Pacientes com Tuberculose Pulmonar. 2017**, 54 f, Dissertação de Qualificação, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará.

A tuberculose é uma doença infectocontagiosa considerada ainda um importante problema de saúde pública mundial. O Brasil é um dos 22 países do mundo responsáveis por 80% dos casos da doença, e as maiores taxas de incidência são observadas nas regiões norte, sudeste e nordeste. O esquema de tratamento padrão é composto por rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol. O desfecho clínico está associado as concentrações sanguíneas destes fármacos após uso de doses terapêuticas, entretanto, apesar da elevada ocorrência da doença do Brasil, as concentrações destes fármacos não foram avaliadas nestes pacientes, que é relevante principalmente para rifampicina, dada a elevada variabilidade de concentrações em fluídos biológicos após terapêuticas. Portanto, realizou-se estudo prospectivo de casos objetivando determinar as concentrações de rifampicina por cromatografia líquida de alta eficiência em pacientes com tuberculose ativa tratados na cidade de Belém. Foram incluídos no estudo 50 pacientes, entretanto, houve perda de seguimento clínico laboratorial de 20 pacientes (40%), cujo principal motivo foi o abandono de tratamento. Os aspectos sociais e demográficos dos demais aponta maior ocorrência da doença no sexo masculino, baixa escolaridade, residentes na região metropolitana de Belém e na faixa etária produtiva. As concentrações de rifampicina nas duas fases de tratamento variaram de 0,6µg/ml a 0,73µg/ml. Não houve diferença significativa nas concentrações sanguíneas do fármaco entre as fases de tratamento, contudo os níveis de rifampicina foram significativamente superiores em mulheres.

Palavras-chave: Rifampicina, Tuberculose Pulmonar, Tratamento.

## ABSTRACT

BELEZA, B.K.U. **Plasma Concentrations of Rifampicina in Pulmonary Tuberculosis Patients.** 2017 54 P Qualification Thesis, Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pará, Belém, Pará.

Tuberculosis is an infectious-contagious disease that is still considered a major public health problem worldwide. Brazil is one of the 22 countries in the world responsible for 80% of the cases of the disease, and the highest incidence rates are observed in the North, Southeast and Northeast regions. The standard treatment regimen is composed of rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol. The clinical outcome is associated with the blood concentrations of these drugs after the use of therapeutic doses, however, despite the high incidence of the Brazilian disease, the concentrations of these drugs have not been evaluated in these patients, which is relevant mainly for rifampicin, given the high variability of concentrations in biological fluids after therapy. Therefore, a prospective case study was carried out to determine the concentrations of rifampicin by high performance liquid chromatography in patients with active tuberculosis treated in the city of Belém. Fifty patients were included in the study, however, there was a loss of clinical follow-up of 20 patients (40%), whose main reason was the abandonment of treatment. The social and demographic aspects of the others indicate a higher occurrence of the disease in males, low education, residents in the metropolitan area of Belém and in the productive age group. Rifampicin concentrations in the two treatment phases ranged from 0.6 µg / ml to 0.73 µg / ml. There was no significant difference in blood drug concentrations between treatment phases, however, rifampicin levels were significantly higher in women.

Key words: Rifampicin, Pulmonary Tuberculosis, Treatment

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Estimativa de tuberculose no mundo em 2014.....	18
<b>Figura 2</b> - Coeficiente de incidência de tuberculose no estado do Pará.....	20
<b>Figura 3</b> - Imagem de baciloscopia <a href="http://sbi.org.br/tuberculose-e-o-brasi//">http://sbi.org.br/tuberculose-e-o-brasi//</a> .....	22
<b>Figura4</b> - Resposta imunológica positiva da prova da tuberculina (Fonte: <a href="http://www.portaleducacao.com.br/enfermagem/artigos/11417/ppd-proteina-purificada-derivada">www.portaleducacao.com.br/enfermagem/artigos/11417/ppd-proteina-purificada-derivada</a> .....	23
<b>Figura 5</b> - Fórmula estrutural da rifampicina.....	25
<b>Figura6-</b> Perfil cromatográfico representativo da eluição da rifampicina e da hidroclorotiazida em concentração de 3,0ug/ml.....	35
<b>Figura 7</b> - Linearidade da solução padrão de rifampicina em concentrações de 0.25 a 3 µg/ml.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCG	Bacilo de Calmette-Guerín
BK	Bacilo de Koch
CYP450	Citocromo P450
DM	Diabetes Melitus
DMSO	Dimetilsufoxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
DOTS	Estratégia de Tratamento Diretamente Observada
D0 À D6	Dias de coleta das amostras de sangue
EDTA	Etilenodiamino Tetra-Acético
ESF	Estratégia Saúde da Família
FDCs	Combinações de Dose Fixas
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNCT	Plano Nacional de Controle da Tuberculose
RIF	Rifampicina
RH	Rifampicina e Isoniazida
RHZE	Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol (esquema de tratamento)
RNA	Ácido ribonucleico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TB	Tuberculose
TDO	Tratamento Diretamente Observado
THF	Tetrahidrofurano
TS	Tratamento Supervisionado
UBS	Unidade Básica de Saúde
WHO	Organização Mundial da Saúde

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Critérios para leitura e interpretação de baciloscopia do escarro, após concentração ou não, corada pelo método de Ziehl- Neelsen (BRASIL, 2011).....	22
<b>Quadro 2</b> - Esquema básico para o tratamento da TB em adultos e adolescentes.....	24

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Perfil sócio-demográfico dos pacientes com tuberculose pulmonar atendidos na Unidade Básica de Saúde do Guamá, Belém, Pará.....	33
<b>Tabela 2</b> - Motivos de exclusão dos pacientes.....	34
<b>Tabela 3</b> - Relação das áreas da rifampicina em diferentes concentrações e do padrão interno.....	36
<b>Tabela 4</b> – Intervalo de concentração de rifampicina em diferentes dias nos pacientes.....	37
<b>Tabela 5</b> – Medidas de concentrações da rifampicina em ambos os sexos.....	37

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	15
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
<b>3.1. Políticas de tratamento e prevenção da tuberculose no Brasil</b> .....	16
<b>3.2. Adesão ao tratamento</b> .....	17
<b>3.3. Epidemiologia</b> .....	17
<b>4. AGENTE ETIOLÓGICO</b> .....	20
<b>5. SINAIS E SINTOMAS DA TUBERCULOSE</b> .....	21
<b>6. DIAGNÓSTICO</b> .....	21
<b>6.1. Exame microscópico de escarro ou baciloscopia</b> .....	21
<b>6.2. Cultura de bactérias</b> .....	22
<b>6.3. Exame radiológico</b> .....	22
<b>6.4. Prova tuberculínica</b> .....	22
<b>7. TRATAMENTO</b> .....	23
<b>7.1. Rifampicina</b> .....	24
7.1.1. MECANISMO DE AÇÃO.....	25
7.1.2. FARMACOCINÉTICA.....	26
7.1.3. REAÇÕES ADVERSAS.....	27
<b>8. METODOLOGIA</b> .....	28
<b>8.1. Local de estudo</b> .....	28
<b>8.2. Pacientes</b> .....	28
8.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	28
8.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	29
<b>8.3. Esquema terapêutico e seguimento</b> .....	29
<b>8.4. Amostras biológicas</b> .....	29
<b>8.5. Determinação de rifampicina por cromatografia líquida de alta eficiência</b> .....	30
8.5.1 REAGENTES E SOLUÇÕES DE REFERÊNCIA.....	30
8.5.2.EQUIPAMENTOS .....	30
8.5.3. PROCEDIMENTO ANALÍTICO.....	31

8.6. ANÁLISE DE DADOS.....	34
<b>9. RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>10. DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>11. CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCIA.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, também denominado de bacilo de Koch (BK). Caracteriza-se por tosse e expectoração intensa por mais de três semanas. O bacilo é transmitido pelas gotículas de saliva expelidas pelo doente na fase ativa da doença, as quais ao serem inaladas por indivíduos saudáveis podem levar a infecção e aumentar o risco de desenvolver a doença (Brasil, 2002; Brasil, 2011a).

A doença incide nas diferentes faixas etárias e em ambos os sexos e está relacionada às condições sócio-econômicas do indivíduo, pois a maior incidência é reportada naqueles pacientes que residem na periferia das grandes cidades, onde a infraestrutura urbana, como saneamento e qualidade das habitações, são precárias, que se somam à fome e à miséria típicas destes aglomerados populacionais (Brasil, 2011a; Hijjar, 2001).

A doença causa elevado número de óbitos, principalmente quando associada ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Em sua história natural, cerca de 90% dos indivíduos que se infectam pelo *M. tuberculosis* nunca apresentarão a doença. Os demais podem desenvolver a doença nos primeiros anos após o contágio, dependendo de vários fatores, os quais atuam de maneira conjunta para que a TB se torne sintomática, tais como: carga bacilífera, suscetibilidade imune do hospedeiro, condições de transmissão, dentre outras. (Brasil, 2011a).

A busca dos pacientes sintomáticos por cuidado médico é o passo inicial para o diagnóstico e tratamento da TB, uma vez que após avaliação clínica e suspeita da doença, o paciente é encaminhado para exame bacteriológico de escarro a fim de identificação do patógeno, e se possível, a cultura de material biológico para testes de sensibilidade bacteriana. Ademais, a radiografia do tórax ou abnegrafia representa valioso auxílio diagnóstico, assim como, a prova da tuberculina que é outro exame complementar importante para o diagnóstico da TB (Filho, 2004).

A doença ainda continua sendo um importante problema de saúde pública, e em 2014 foram notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) 9,6 milhões de novos casos de TB, destes 58% no Sudeste da Ásia e no Pacífico Ocidental, 28% na região da África e Índia, 8% na região oriental do Mediterrâneo, 3% na Europa e 3% nas Américas (World Health Organization, 2015<sup>a</sup>). O Brasil é o único país da América Latina incluído entre as 22 nações responsáveis por 80% do total de casos de TB no

mundo. Cerca de 90,000 novos casos são notificados ao Ministério da Saúde a cada ano, com destaque para as regiões Norte, Nordeste e Sudeste que reportam as maiores taxas de incidência da doença (Brasil, 2015).

A TB é curável em praticamente todos os pacientes, desde que a quimioterapia seja realizada de forma adequada, o que também contribui para diminuição de casos novos e para a não emergência da resistência aos quimioterápicos de primeira linha. O tratamento padrão recomendado pela OMS e seguido pelo MS no país é composto pela associação de rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol. As três primeiras possuem atividade bactericida e combatem todas as populações de bacilos causadores da doença. A pirazinamida ao ser incluída no esquema terapêutico com isoniazida, rifampicina e etambutol reduziu o tempo de tratamento de nove para seis meses, o que é relevante para assegurar altas taxas de adesão ao tratamento (Brasil, 2011<sup>a</sup>, Bombarda, 2009; Conde, 2010).

A não adesão ao tratamento é um importante fator que dificulta o controle e posterior eliminação da doença. Dado que a resposta terapêutica se associa as concentrações sanguíneas dos quimioterápicos, os fatores que contribuem para redução dos níveis sanguíneos destes fármacos, como a não adesão, podem levar ao fracasso do tratamento. É de natureza multifatorial e se relaciona a questões econômicas dada a falta de recursos para o deslocamento a unidade de saúde para receber os medicamentos; aos hábitos que comprometem a evolução e predispõe ao abandono, como tabagismo, alcoolismo e outras drogas de abuso; a abordagem inadequada do paciente pela equipe da saúde; as reações adversas aos quimioterápicos; tempo de tratamento, dentre outras (Brasil, 2002; Rocha & Adorno, 2012). Além disso, o abandono do tratamento também contribui significativamente para o surgimento de cepas resistentes do bacilo, requerendo a adoção de esquemas terapêuticos alternativos, os quais via de regra, são mais prolongados e de maior custo.

Outro fator relevante que contribui para as alterações nos níveis séricos dos quimioterápicos usados no tratamento da TB é a propriedade da rifampicina, usada em ambas as fases do tratamento, de induzir a atividade de isoformas de CYP-450, reduzindo sua meia-vida biológica, assim como, dos outros quimioterápicos administrados conjuntamente, o que pode acarretar a exposição inadequada do *M. tuberculosis* a concentrações terapêuticas efetivas destes fármacos (Blanchard, 1996; Kenneth et al, 2002).

Portanto, a estimativa dos níveis de fármacos anti-tuberculose em fluídos biológicos é uma importante ferramenta para estimar a adesão, avaliar a potencial influência das interações medicamentosas sobre as concentrações plasmáticas dos fármacos e auxiliar na compreensão das falhas terapêuticas. Entretanto, o uso desta ferramenta na TB tem sido negligenciado, dado que há poucos relatos acerca das concentrações destes fármacos no decorrer do tratamento, o que justificou a realização deste estudo que estimou concentrações da rifampicina em pacientes em tratamento para TB, e avaliou também a influência do sexo e do tempo de tratamento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Conhecer as concentrações sanguíneas de rifampicina na fase intensiva do tratamento de pacientes com tuberculose ativa em uso do esquema terapêutico padrão

### **2.2 Específicos**

Descrever os aspectos sociais e demográficos dos pacientes incluídos no estudo;

Mensurar as concentrações sanguíneas de rifampicina em pacientes com tuberculose;

Comparar as concentrações sanguíneas de rifampicina entre os sexos dos pacientes na fase intensiva de tratamento;

Comparar as concentrações sanguíneas de rifampicina entre a fase intensiva e de manutenção do tratamento.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Políticas de tratamento e prevenção da tuberculose no Brasil

O Ministério da Saúde através do PNCT estabeleceu várias ações para o tratamento da doença no Brasil baseado na estratégia DOTS (*Estratégia de Tratamento Diretamente Observada*) proposta pela OMS objetivando aumentar a adesão dos pacientes, reduzir o abandono, aumentar as taxas de cura e a disponibilidade de testes rápidos para detecção do HIV. Conjuntamente estas ações atuam para reduzir a transmissão e o risco de desenvolvimento de resistência aos medicamentos de primeira linha (Brasil, 2011a). Esta estratégia é composta por cinco elementos: ação política, diagnóstico precoce dos casos de tuberculose, aquisição e distribuição regular de medicamentos, tratamento supervisionado e sistema de informação efetivo.

As seguintes modalidades de supervisão são empregadas no Tratamento Diretamente Observado (TDO): (Brasil, 2011a)

- Domiciliar: observação realizada na residência do paciente ou em local por ele solicitado;
- Unidade de saúde: observação em unidades de Estratégia Saúde da Família (ESF), Unidade Básica de Saúde (UBS), serviço de atendimento de HIV/AIDS ou hospitais;
- Prisional: observação no sistema prisional;
- Compartilhada: quando o doente recebe a consulta médica em uma unidade de saúde, faz o TDO em outra unidade próxima ao seu domicílio ou trabalho.

O Tratamento Supervisionado (TS) é uma importante ferramenta, pois contribui para reduzir tanto a recidiva quanto à resistência aos fármacos de primeira linha. No TS, a administração dos medicamentos é realizada na Unidade de Saúde ou na residência do paciente, assegurando-se que os mesmos sejam tomados em uma dose diária, que deve ser assistida por um profissional de saúde ou por um familiar devidamente orientado. A OMS recomenda, no mínimo, três observações semanais na fase intensiva e duas observações semanais na fase de manutenção do tratamento (Brasil, 2011a).

O PNCT também recomenda estratégias de prevenção da doença, como a vacinação com BCG (BCGid) ao nascimento que confere proteção contra as formas graves da primo-infecção pelo *M. tuberculosis* em crianças de 0 a 4 anos de idade, a qual é obrigatória nos menores de 1 ano de idade segundo a Portaria nº 452, de 6 de

dezembro de 1976, do Ministério da Saúde. Nas populações infectadas recomenda-se quimioprofilaxia com isoniazida a fim de prevenir a evolução da infecção para a doença. Entretanto, a principal ação de saúde pública é a identificação das pessoas na fase ativa da doença, através da busca ativa, procurando-se identificar sinais e sintomas, possibilitando desta forma, o diagnóstico e tratamento precoces (Brasil, 2011a).

### **3.2 Adesão ao tratamento da tuberculose**

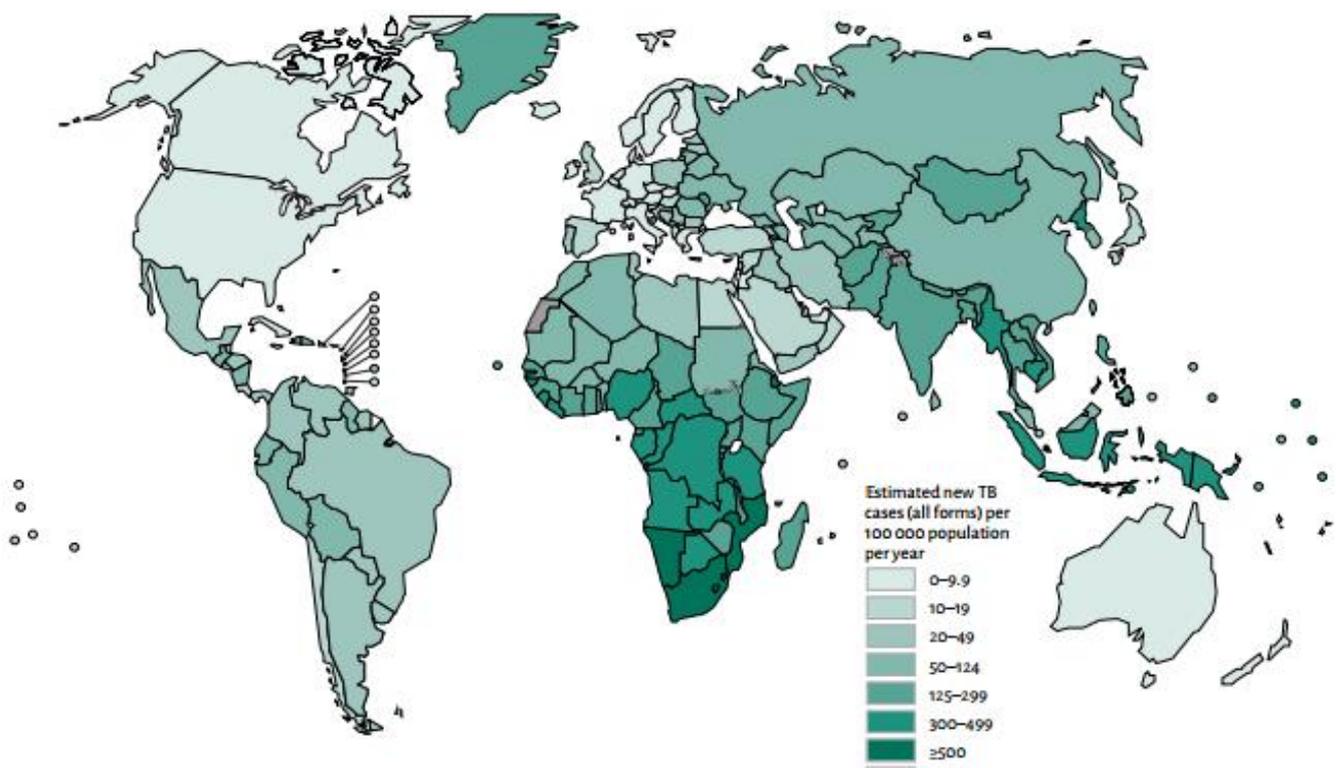
O tratamento dos pacientes primo-infectados ocorre, geralmente, por seis meses, sendo dividido em duas fases: intensiva (02 meses) e de manutenção (04 meses). Vários fatores predispõem o abandono do tratamento, os quais são associados às condições sócio econômicas dos pacientes, ao tempo prolongado de tratamento, o fato de cursar com melhora da sintomatologia ainda na fase intensiva e acarretar várias reações adversas. Fatores socioeconômico e demográficos relacionados aos medicamentos são os principais responsáveis pelo abandono da terapia. Dentre estes, se destacam: pacientes do sexo masculino, solteiros e separados, desempregados, baixa escolaridade, uso de álcool e drogas de abuso, tabagismo, tratamento anterior da doença (retratamento por abandono), co-infecção pelo HIV, tratamento não supervisionado, reações adversas dos quimioterápicos, quantidade de medicamentos ingeridos, tamanho dos comprimidos e o resultado da baciloscopia (Brasil, 2011a; Gonçalves, 1999).

### **3.3 Epidemiologia**

A OMS reconheceu em 1993 que a TB era uma emergência global. A partir de 2000, a doença foi incluída nas políticas de saúde internacionais com o objetivo de reduzir o coeficiente de incidência (World Health Organization, 2015a; 2015b). Em 2006, a OMS implementou a estratégia Stop TB com a intenção de fortalecer a estratégia DOTS a fim de reduzir em 50%, até o ano de 2015, os coeficientes de prevalência e mortalidade em relação a 1990 (World Health Organization, 2016).

De fato, em 2015, a incidência da doença foi 42% inferior a 1990. Aproximadamente 43 milhões de pessoas foram salvas a partir da implementação desta estratégia entre os anos de 2000 a 2014. Contudo, apesar dos avanços cerca de 9,4 milhões de pessoas contraíram TB em 2014, destes 12% co-infectados com HIV. Destaca-se que 1,5 milhão de pessoas vieram á óbito, sendo 1,1 milhão destes

HIV-negativos (Figura 1) (World Health Organization, 2015a). Por isso, foi lançada em 2014 pela Assembleia Mundial de Saúde a Estratégia Global e Metas para a Prevenção, Atenção e Controle da Tuberculose Pós-2015, onde foram estabelecidas metas a serem cumpridas até 2035 para erradicação da doença. Os objetivos são: reduzir o coeficiente de incidência para menos de 10 casos por 100 mil habitantes e o número de óbitos em 95%. Fundamentam-se em três pilares: prevenção e cuidado integrado centrado no paciente; políticas arrojadas e sistemas de apoio; e intensificação da pesquisa e inovação (Brasil, 2016).



**Figura 1:** Estimativa de tuberculose no mundo em 2014.

**Fonte:** WHO, 2015a.

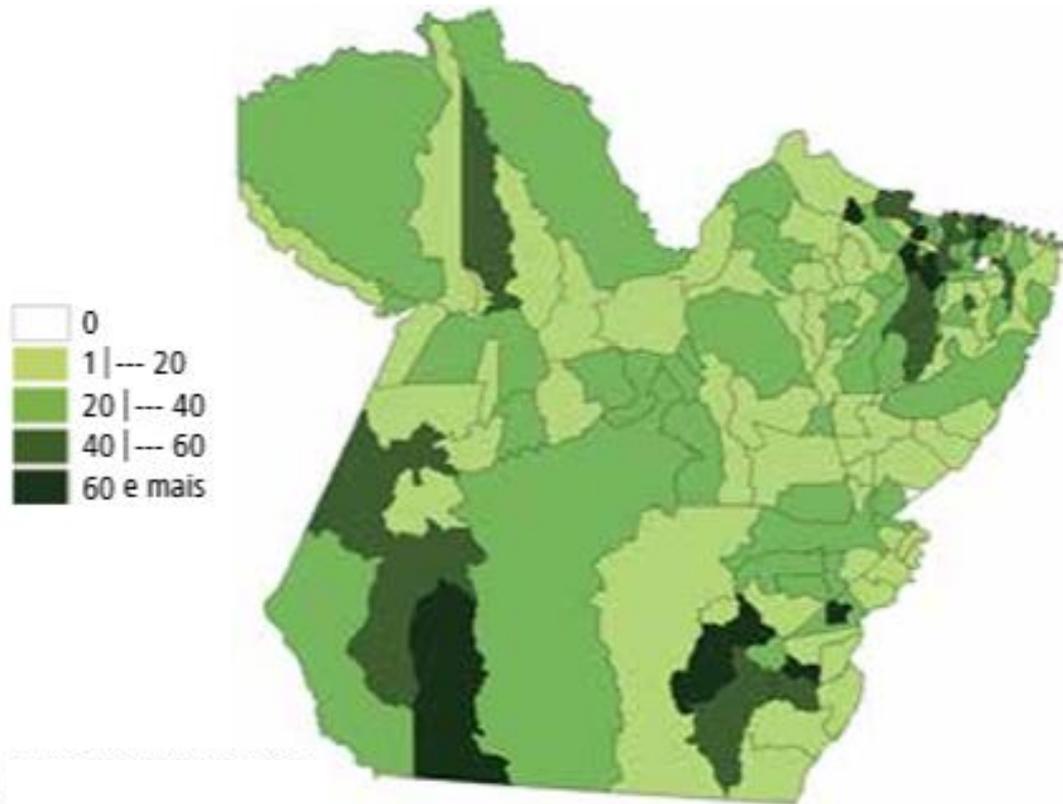
Também foi criado o Plano Global Pelo Fim da Tuberculose 2016-2020, assim como, planos locais para seis regiões estratégicas definidas pela OMS. A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) também propôs linhas de ação, alinhadas aos pilares da Estratégia Global, nas quais foram enfatizadas as populações e grupos de risco, os determinantes sociais da doença, os desafios relacionados ao baixo percentual de cura e da disponibilidade de teste para o HIV, assim como, os casos

não diagnosticados e as formas resistentes da doença. (Brasil, 2016; World Health Organization, 2016).

O Brasil está inserido entre os 28 países priorizados pela OMS que juntos concentram 80% dos casos da doença no mundo. Em 2016, este órgão apontou a TB como a doença infecciosa que mais leva a óbito em todo o planeta, superando inclusive a AIDS (Maciel, 2016; Mota, 2003).

Dos 28 países com TB o Brasil ocupa a 18<sup>o</sup> lugar em número de casos, a OMS contemplou o Brasil onde de 2010 – 2014 (14 anos) houve uma redução considerável, muitas propostas pela OMS alcançadas. Entretanto, houve uma média de 70 mil novos casos de TB causados principalmente por bacilos resistentes aos quimioterápicos de primeira linha (Brasil, 2016; Maciel, 2016).

O Estado do Pará é uma área endêmica na qual se registram anualmente aproximadamente 3.000 novos casos. No ano de 2012, o Pará notificou 3.504 novos casos de TB no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (Figura 2), (Brasil, 2014) A maioria destes nos municípios de Altamira, Ananindeua, Belém, Breves, Itaituba, Marabá, Marituba, Paragominas, Redenção, Santarém e Tucuruí. Destaca-se que esses municípios estão inseridos no Programa Nacional de Controle da Tuberculose (Araújo, 2009).



**Figura 2:** Coeficiente de incidência de tuberculose no estado do Pará.

**Fonte:** Sinan SVS-MS e IBGE.

\*Por 100 mil habitantes

#### 4 Agente etiológico

A tuberculose é uma doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* pertence à ordem *Actinomycetales*, família *Mycobacteriaceae* e gênero *Mycobacterium* (Dunlap *et al.*, 2000). Foi descrito por Robert Koch em 1882 através de seu cultivo e também do desenvolvimento da doença em animais de laboratório. Assim, o *M. tuberculosis* também é denominado de Bacilo de Koch (BK) (Collins *et al.*, 1997; Ferri, 2014).

A tuberculose pode ser causada por outras micobactérias, todas pertencentes ao complexo *Micobacterium*: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* e *M. canetti*. No Brasil, a maioria dos casos é causada pelo *M. tuberculosis*, entretanto há relatos de casos devidos ao *M. bovis*. As espécies *M. africanum*, *M. microti* e *M. canetti* ocorrem em outras partes do mundo (Graça, 2009).

O *M. tuberculosis* é um bacilo álcool e ácido resistente, ligeiramente curvo medindo de 1,0 a 1,4  $\mu\text{m}$  de comprimento e 0,3 a 0,6  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Andersen, 1991). É aeróbio estrito, isto é, necessita de oxigênio para crescer e se multiplicar. Pode sobreviver no interior de células fagocíticas, sendo considerado um parasita

intracelular facultativo de crescimento lento, em torno de 16 ou 20 horas, dependendo da disponibilidade de oxigênio (Flynn e Chan, 2001). O crescimento lento se associa a evolução crônica da doença. No meio ambiente, o bacilo pode sobreviver em meio seco durante semanas, além de possuir resistência a desinfetantes fracos (Melo e Afiune, 1993).

A transmissão da tuberculose se dá de pessoa à pessoa por via respiratória. Ao entrar no organismo pela via respiratória, o *M tuberculosis* se instala inicialmente nos pulmões e por meio da circulação sanguínea ou da linfática migra para outras partes do corpo. O que decidirá o curso da infecção é a fagocitose dessa bactéria por um macrófago alveolar. Pacientes bacilíferos são a fonte de disseminação da doença por eliminarem gotículas de saliva contendo bacilos por meio de tosse ou espirro. A probabilidade de transmissão da doença aumenta devido aos seguintes fatores: pacientes bacilíferos que coabitam com outras pessoas; concentração de bacilos no ar; tempo de exposição e a condição imune da pessoa (Brasil, 1995; IUATLD, 2000; Raja, 2004).

## **5 SINAIS E SINTOMAS DA TUBERCULOSE**

É doença de evolução crônica ou subaguda na qual se sobressaem os sintomas respiratórios, como: (i) tosse devido ao processo inflamatório dos alvéolos, (ii) hemoptise; (iii) dispnéia nos casos mais graves; (iv) rouquidão e dor torácica. Soma-se febre, sudorese e perda de peso acentuada. (Graça, 2009).

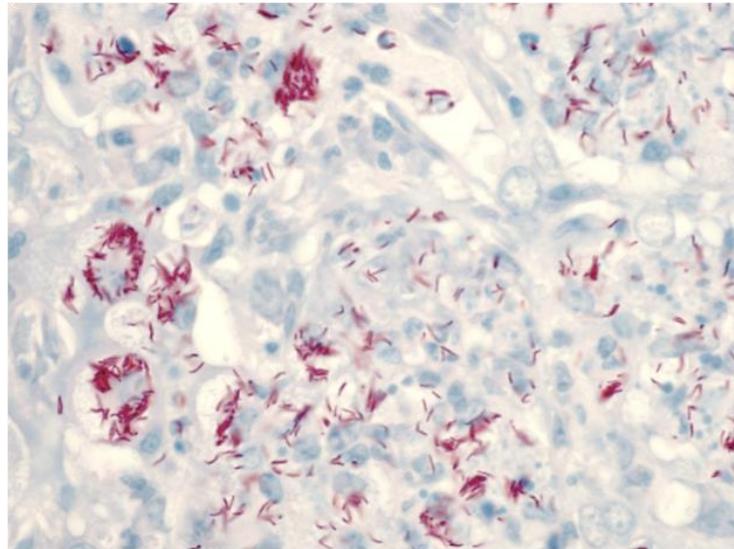
## **6 DIAGNÓSTICO**

Baseado nos sinais e sintomas da doença, diferentes métodos podem ser utilizados para diagnóstico da doença, a saber: (Filho, 2004; II Consenso Brasileiro de Tuberculose, 2004).

### **6.1 Exame microscópico direto de escarro ou baciloscopia**

A baciloscopia do escarro é um método simples e seguro para identificar os casos bacilíferos da doença. O exame deve ser solicitado a toda pessoa que apresenta tosse produtiva há mais de três semanas. O escarro deve ser coletado ao menos duas vezes, a primeira por ocasião da consulta e a segunda no dia seguinte

independente do resultado da primeira baciloscopia (Figura 3). A pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR) é realizada através da coloração de Ziehl-Neelsen. A baciloscopia direta é uma importante ferramenta diagnóstica nas regiões endêmicas dada sua simplicidade e baixo custo, que se aliam a possibilidade de estimar o número de bacilos na amostra biológica (II Consenso Brasileiro de Tuberculose, 2004; Perkins, 2000).



**Figura 3:** Imagem de baciloscopia <http://sbi.org.br/tuberculose-e-o-brasi//>

As lâminas de escarro devem ser lidas cuidadosamente, devendo ser observado a quantidade de bacilos álcool-ácido-resistentes em cada campo microscópico. Os critérios de interpretação estão apresentados no Quadro I (BRASIL, 2011).

**Quadro 1:** Critérios para leitura e interpretação de baciloscopia do escarro, após concentração ou não, corada pelo método de Ziehl-Neelsen (BRASIL, 2011).

BAAR por campo microscópico	Resultado
Nenhum BAAR em 100 campos observados	Negativo
De um a nove BAAR por campo, em 100 campos observados	Relata-se apenas a quantidade de BAAR
De dez a 99 BAAR por campo, em 100 campos observados	+
De um a dez BARR por campo, nos primeiros 50 campos observados	++
Mais de dez BAAR por campo, nos primeiros 20 campos	+++

**Fonte:** Brasil, 2011a.

## 6.2. Cultura de bactérias

Esse exame é solicitado nos casos de persistência da baciloscopia direta negativa, assim como, para a forma extrapulmonar da doença e nos casos de resistência as drogas que compõem o tratamento de primeira escolha (II Consenso Brasileiro de Tuberculose, 2004). O exame de cultura é considerado "padrão ouro" para diagnóstico definitivo da TB (Dunlap et al, 2000; Perkins, 2000).

## 6.3. Exame radiológico

A radiografia do tórax auxilia o diagnóstico nos casos suspeitos. Geralmente, há uma região do tórax mais escura que pode ser indicativo da doença. O exame permite identificar pessoas com imagens sugestivas de portadores de TB, sendo considerado um exame complementar para pacientes com baciloscopia positiva (II Consenso Brasileiro de Tuberculose, 2004).

## 6.4 Prova tuberculínica

A prova da tuberculina auxilia no diagnóstico de TB, contudo deve-se atentar que um resultado positivo isoladamente apenas indica uma infecção e não é suficiente para o diagnóstico definitivo da doença (Figura 3), (II Consenso Brasileiro de Tuberculose, 2004).



**Figura 4:** Resposta imunológica positiva da prova tuberculínica (Fonte:

[www.portaleducacao.com.br/enfermagem/artigos/11417/ppd-proteina-purificada-derivada](http://www.portaleducacao.com.br/enfermagem/artigos/11417/ppd-proteina-purificada-derivada)).

## 7. TRATAMENTO

A partir de 2010, passou a ser empregada a associação dos fármacos em doses fixas combinadas em formulação de comprimidos (Fixed-Dose Combinations – FDCs) 4 em 1 (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol – RHZE) para a fase de tratamento intensivo e 2 em 1 (Rifampicina e Isoniazida – RH) para manutenção (Bombarda, 2009; Conde, 2010).

Existem três tipos de esquemas terapêuticos para TB (básico, meningencefálico e para os casos de multirresistência), sendo que, nas unidades básicas de saúde, são utilizados apenas os esquemas básico e meningencefálico (BRASIL, 2011b). O esquema de tratamento básico da tuberculose está apresentado no Quadro II (Brasil, 2011c).

**Quadro 2:** Esquema básico para o tratamento da TB em adultos e adolescentes.

Regime	Fármacos	Faixa de peso	Unidade/dose	Meses
2 RHZE Fase Intensiva	RHZE 150/75/400/275 comprimido em dose fixa combinada	20kg a 35kg	2 comprimidos	2
		36kg a 50kg	3 comprimidos	
		> 50kg	4 comprimidos	
4 RH Fase de manutenção	RH Comprimido ou cápsula de 300/200 ou de 150/100 ou comprimidos de 150/75*	20 a 35kg	1 comprimido ou cápsula de 300/200mg ou 2 comprimidos de 150/75*	4
		36kg a 50kg	1 comprimido ou cápsula de 300/200mg + 1 comprimido ou cápsula de 150/100mg ou 3 comprimidos de 150/75*	
		> 50kg	2 comprimidos ou cápsulas de 300/200mg ou 4 comprimidos de 150/75*	

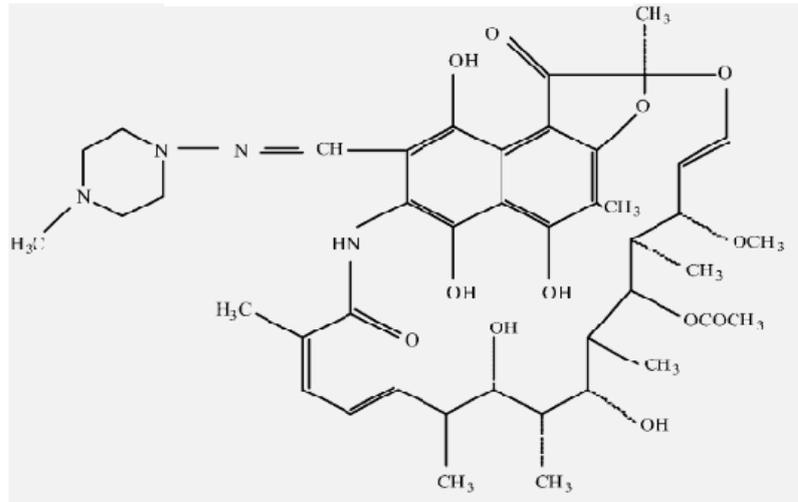
**Fonte:** Brasil, 2011 [C].

Nota: as siglas significam R= rifampicina; H= isoniazida; Z= pirazinamida; e E= etambutol.

## 7.1 Rifampicina (RIF)

A Rifampicina (RIF) é um derivado semi-sintético das rifamicinas – mais especificamente da Rifamicina B. Pertence ao grupo das ansamicinas, que são derivados do fungo *Streptomyces mediterranei*. Este grupo se caracteriza por moléculas com uma cadeia alifática interligando duas posições não-adjacentes de

uma porção aromática (ponte ansa). A fórmula estrutural da RIF está apresentada na figura 5. A fórmula molecular é  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  e sua massa molecular de é de 822,95 g/mol. O nome IUPAC é 3-[[[(4-metil- 1 – piperazinil) imino] metil] rifamicina. (Mandel 1996; Petri-Jr. 1996; Lemke, 2002).



**Figura 5:** Fórmula estrutural da rifampicina.

**Fonte:** Lomillo et al, 2001.

Apresenta-se como um pó cristalino, vermelho alaranjado, pouco solúvel em água, etanol e acetona, solúvel em metanol, tetrahydrofurano (THF) e acetato de etila, muito solúvel em clorofórmio e dimetilsulfoxido (DMSO). A RIF tem dois valores de pKa: 1,7 devido o grupamento 4-hidroxila, e 7,9 relacionado ao nitrogênio do grupo piperazina). A RIF é mais solúvel em meio ácido do que no básico (em pH 2 a solubilidade é de 100mg/mL, já em pH 7,5 é reduzida a 2,8 mg/mL). Quando em solução aquosa seu ponto isoelétrico é 4,8(Galo; Radaelli, 1976; Alves, 2007).

A RIF está disponível como fármaco isolado ou em associação em dose fixa com isoniazida ou pirazinamida e etambutol. A RIF e a isoniazida são os fármacos de maior eficácia no tratamento da TB. A RIF nunca deve ser administrada isoladamente, devido à rapidez com que pode ocorrer o desenvolvimento de resistência pelo bacilo (Mandel, 1996; Petri-Jr. 1996; Brasil, 2011).

### 7.1.1 MECANISMO DE AÇÃO

Pertence ao grupo de antibióticos macrocíclicos complexos e possui ação bactericida para microrganismos intra e extracelulares. Inibe o crescimento da maioria das bactérias Gram-positivas assim como de numerosos organismo Gram-negativos (MANDEL e PETRI-JR, 1996; ROSA, 2006). Sua ação bactericida deve-se a inibição

da RNA polimerase dependente do DNA das micobactérias através da formação de um complexo fármaco-enzima estável que suprime a formação da cadeia de RNA. A RIF em altas concentrações também inibe a RNA polimerase dependente do DNA, bem como as transcriptase reversas (Mandel, 1996; Preti-Jr, 1996; Oliveira, 2013).

### 7.1.2 FARMACOCINÉTICA

- **Absorção**

A RIF é absorvida principalmente no estômago, com biodisponibilidade oral média de 90% (Mariappan, 2003). Entretanto, quando associada à isoniazida, há redução da biodisponibilidade, sugerindo instabilidade da RIF na presença de isoniazida no meio ácido estomacal. De fato, a RIF sofre hidrólise em meio ácido e o processo é acelerado na presença de isoniazida, levando ao aumento da biotransformação do fármaco (Shishoo, et al., 2001). No entanto, comparando a biodisponibilidade da associação RIF, isoniazida e pirazinamida em cápsulas para uso em dose única com aquela destes três fármacos administrados isoladamente observou-se parâmetros farmacocinéticos semelhantes (Zwolska et al., 2002).

A administração oral de RIF produz concentrações plasmáticas máximas em 2 a 4 horas; após ingestão de 600mg, e as concentrações de pico plasmático variam de 7-12µg/ml (Douglas e Mcleod, 1999; Ellenhorn e Barceloux. 1988; Oliveira, 2013; Radner, 1973; Rosa, 2006).

- **Distribuição**

Após a absorção no trato gastrointestinal, a RIF sofre recirculação entero hepática, sendo eliminada pequena fração pela bile. Distribui-se por todo organismo, de forma que concentrações terapêuticas eficazes estão presentes em vários órgãos e fluídos corporais. A sua presença pode ser percebida pela propriedade do fármaco de conferir cor alaranjada à urina, fezes, saliva, escarro e lágrimas (Ellenhorn e Barceloux, 1988; Furesz. 1970; Nfarr, 1975; Sippel, et al., 1974).

- **Biotransformação**

A RIF sofre desacetilação hepática originando o metabólito desacetilrifampicina, que retém toda atividade antibacteriana. Ocorre também hidrólise a formilrifampicina (De Rosa, 2006).

A RIF é um potente indutor das isoformas do CYP450 e de uma série de enzimas envolvidas na biotransformação de outros fármacos (Douglas & Mcleod,

1999), reduzindo sua meia-vida biológica, assim como, de outros fármacos. Adicionalmente, produtos de biotransformação dotados de maior atividade terapêutica ou tóxica podem ser gerados em maior quantidade, aumentando desta forma os efeitos adversos. Por exemplo, a administração de rifampicina e isoniazida pode aumentar a hepatotoxicidade da isoniazida, devido à indução das isoformas do CYP450 que são responsáveis pela conversão a acetilhidrazina, metabólito da isoniazida, e a outros compostos reativos e hepatotóxicos (Chen & Raymond, 2006). Além disso, a RIF é capaz de aumentar sua própria biotransformação, reduzindo sua meia vida plasmática quando é administrada em dose múltiplas (Douglas & Mcleod, 1999). A exemplo, a RIF administrada, por via oral, em dose única apresenta biodisponibilidade em torno de 93%, contudo após doses múltiplas, é reduzida para 68%, dado o aumento da sua biotransformação (Loss et al., 1985).

- **Excreção**

A meia-vida de excreção da RIF varia de 1,5 a 5 horas. Encontra-se aumentada na presença de alterações hepáticas, mas diminui progressivamente em cerca de 40% durante os primeiros 14 dias de tratamento, devido à indução de enzimas microsomais hepáticas, que aceleram sua biotransformação. Cerca de 30% de uma dose de RIF é excretada na urina, enquanto que 60 a 65% são excretados nas fezes. O fármaco original e seu metabólito desacetilrifampicina, ambos farmacologicamente ativos, são excretados primariamente na bile e posteriormente na urina enquanto o metabólito formilrifampicina é excretado exclusivamente pela urina. Ressalte-se que pacientes com disfunção renal não necessitam de ajuste da posologia. O clareamento total é estimado de 8,7 mL/min/kg (Ellenhorne & Barceloux, 1988; De Rosa, 2006).

### 7.1.2 REAÇÕES ADVERSAS A RIFAMPICINA

Diversas reações adversas tem sido relatadas no decorrer do uso de RIF: (i) intolerância gastrointestinal devido ao fármaco apresentar caráter alcalino o que pode provocar irritação local, dor no estômago, náuseas, vômitos e diarreia; (ii) coloração avermelhada das secreções devido à cor da rifampicina, que geralmente aparece no início do tratamento; (iii) reações cutâneas do tipo urticária, prurido, dermatite esfoliativa as quais se relacionam com hipersensibilidade a algum componente do medicamento; (iv) hepatotoxicidade caracterizada pela elevação das aminotransferases que pode evoluir para hepatite fatal; (v) Outros efeitos: anemia

hemolítica, leucopenia, nefrite intersticial, neuropatia periférica, síndrome gripal e hepatite medicamentosa (Bisaglia et al,2003; Yee et al, 2003; Wong, 2001).

Dependendo da gravidade da reação será necessário ajuste na dose administrada, ou mesmo, a suspensão temporária ou ainda definitiva do medicamento. Em alguns casos de hepatite medicamentosa e insuficiência renal aguda é necessária a internação do paciente (Bisaglia et al, 2003).

## **8 METODOLOGIA**

### **8.1 Aspectos éticos**

O presente estudo foi submetido a plataforma Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, sob parecer de nº 1.591.019, conforme os preceitos das normas de pesquisa envolvendo seres humanos que obedece à resolução 466/2012 do Ministério da Saúde (ver anexo I).

### **8.2 Tipo e local de estudo**

Foi realizado estudo prospectivo de casos de tuberculose pulmonar no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2016 na Unidade Básica de Saúde do Guamá, em Belém do Pará, a qual foi selecionada por ser referência secundária da Secretaria Municipal de Saúde para o tratamento da TB. Além disso, possui um programa de tratamento supervisionado (DOTS) bem estruturado, no qual os pacientes incluídos neste estudo participavam e recebiam os medicamentos e orientações mensais sob a forma de uso, assim como, passaram por avaliações clínica e laboratorial mensais durante todo tratamento.

### **8.3 Pacientes**

Participaram do estudo sujeitos com tuberculose pulmonar que realizaram tratamento para a doença na Unidade Básica de Saúde do Guamá, em Belém do Pará, no período de janeiro a dezembro de 2016.

#### **8.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Foram incluídos sujeitos de ambos os gêneros com diagnóstico clínico, radiológico e laboratorial de tuberculose pulmonar, de ambos os sexos, com idade acima de dezoito anos, HIV negativos, e que se dispuseram a realizar todo o

tratamento para tuberculose na Unidade Básica de Saúde do Guamá, assim como, concordaram em participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

### 8.2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídas grávidas e lactantes, menores de idade, sujeitos que apresentaram resistência aos medicamentos após início do tratamento, os que apresentaram reações adversas no decorrer do tratamento, os casos de tuberculose extrapulmonar, os que não concordaram em assinar o TCLE e/ou discordam de qualquer etapa do tratamento e aqueles que abandonaram tratamento.

### 8.3 Esquema terapêutico e seguimento clínico laboratorial

O esquema terapêutico adotado no presente estudo seguiu aquele padrão para tratamento da doença recomendado pela OMS e adotado pelo Ministério da Saúde no Brasil, o qual é composto pelos seguintes fármacos juntamente com as suas respectivas doses (em cada comprimido): 150 mg de rifampicina, 75 mg de isoniazida, 400 mg de pirazinamida e 275 mg de etambutol. O esquema de tratamento é baseado no peso do paciente, administrado em dose única diária, sempre em jejum e da seguinte forma: sujeitos com mais de 50 Kg são administrados quatro comprimidos, de 36 a 50 Kg três comprimidos e de 20 a 35 Kg apenas dois comprimidos (Brasil, 2009; Conde, 2010). A terapia é composta de duas fases: a intensiva com duração de dois meses e a de manutenção em quatro meses. Na primeira são administradas a rifampicina, a isoniazida, a pirazinamida e o etambutol, enquanto na manutenção são administrados somente a rifampicina e a isoniazida nas mesmas dosagens (Brasil, 2009; Conde, 2010).

A dispensação dos medicamentos era realizada pela equipe de saúde da Unidade na qual foi realizado o estudo, e os pacientes e seus acompanhantes eram recomendados quanto a necessidade da tomada diária do medicamento em jejum, assim como, na presença do familiar. A cada visita mensal para recebimento dos medicamentos, os pacientes foram submetidos a avaliação clínica geral, assim como, a coleta de sangue em jejum e antes da próxima dose para análises laboratoriais e de escarro para baciloscopia pelo método de Ziehl -Nielsen. Foram coletadas amostras antes da instituição da terapia (D0), e a seguir, em 30 (D1), 60(D2) e 90(D3) dias do início do tratamento.

## 8.4 Amostras biológica

Para determinação da concentração sanguínea de rifampicina foram coletados 4 ml de sangue venoso em tubo tipo vacutainer sem anticoagulante antes da introdução (D0) da quimioterapia e em 30 (D1), 60 (D2) e 90 (D3) dias de tratamento. Em seguida, as amostras foram transferidas para Laboratório de Toxicologia na Faculdade de Farmácia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará – UFPA, onde foram imediatamente armazenadas em freezer -5°C.

## 8.5 Determinação de rifampicina por cromatografia líquida de alta eficiência

### 8.5.1 REAGENTES E SOLUÇÕES DE REFERÊNCIA

Os comprimidos de rifampicina para confecção da solução padrão foram fornecidos pelo Ministério da Saúde. Para preparação da solução padrão foi utilizado comprimido de rifampicina contendo 98mg na forma de base livre que foi diluído em ácido clorídrico 0,1 M em balão volumétrico, de modo a obter uma solução-mãe de 20mg/ml. A seguir, a solução foi submetida a ultrassom por 60 minutos para total dissolução e por fim armazenada ao abrigo da luz a -5°C. A hidroclortiazida foi obtida do laboratório EMS® em comprimidos contendo 25mg. A seguir, foi diluída em metanol grau HPLC a fim de obter concentração final de 1µg/ml.

Também foram utilizados os seguintes reagentes, com seus respectivos graus de pureza: ácido clorídrico (p.a.), metanol (p.a. e HPLC), éter metil terc-butilico (p.a.), diclorometano (p.a.) e acetonitrila (HPLC). A água utilizada foi de grau ultrapura.

### 8.5.2. EQUIPAMENTOS

A determinação de rifampicina foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido (Perkin Elmer, Waltham, MS, US®), composto por bomba quaternária (Flexar 20 LC®), forno de coluna (Flexar®), detector PDA (Flexar Plus®) e reodine com alça de injeção de 20µl. A integração das áreas do pico de interesse foi realizada pelo software Chromera®. A coluna usada foi uma X-tera (Waters Corporation, Milford, MA, USA ®), RP<sub>18</sub>, 150mm X 2.1mm, com 15.5% de carbono.

Para a extração do analito de interesse da matriz biológica foram usados: ultracentrífuga refrigerada (Sigma®), banho de ultrassom (Quimis®), agitador tipo vortex (Quimis®), pHmetro (Quimis®), banho de água (Quimis®), Bomba de vácuo e agitador de tubos por inversão (Quimis®)

### 8.5.3. PROCEDIMENTO ANALÍTICO

#### **a) Extração de rifampicina da amostra de sangue total**

A extração de rifampicina da matriz biológica seguiu o procedimento proposto por Prasanthi et al. (2015), com modificações: Alíquota de 500 µl de sangue total foram transferidas para tubos de polietileno tipo Ependorf de capacidade de 2,0ml, adicionou-se 25 µL do padrão interno (hidroclorotiazida em concentração de 1 µg/ml) e agitou-se em vórtex por 30 segundos. Em seguida foi adicionado 1,2 ml da solução extratora composta por éter metil terc-butílico e diclorometano (70:30 v/v), agitou-se novamente em vórtex por 30 segundos e centrifugou-se a 5000 rpm por 5 minutos a temperatura de 5°C. A fase orgânica foi separada e levada a evaporação em corrente de ar a temperatura ambiente. O resíduo foi reconstituído com 200µl de acetonitrila e injetado no CLAE.

#### **b) Condições instrumentais:**

As seguintes condições instrumentais foram seguidas para quantificação da rifampicina em amostras de sangue total: fase móvel: composta por acetonitrila: solução aquosa de tampão fosfato pH 3,5 (96:4), eluída a 1ml/min no modo isocrático. O comprimento de onda foi 254nm. O tempo de desenvolvimento cromatográfico foi de 15 minutos. Nestas condições, os tempos de retenção da rifampicina e da hidroclorotiazida foram determinados a partir da injeção, em quintuplicata, de soluções padrões dos respectivos fármacos em concentrações de 3µg/ml.

#### **c) Curva de calibração:**

A curva de calibração foi construída empregando-se soluções crescentes de rifampicina adicionadas a sangue total de voluntário saudável, em intervalo de 0,25 µg/mL a 3 µg/mL. As relações das áreas de rifampicina e do padrão interno (hidroclorotiazida) foram plotadas no eixo das ordenadas e as respectivas concentrações nas abscissas. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e expressa por  $y = a + bx$ , onde o coeficiente angular (a) é a inclinação da reta em relação aos eixos e o coeficiente linear (b) é a interseção da reta com o eixo y. Já a faixa linear de trabalho foi determinada pelo coeficiente de correlação de Pearson (r).

#### **d) Limites de detecção e de quantificação**

O limite de detecção foi determinado por meio de diluições sucessivas das soluções de trabalho de rifampicina a partir de 0.25µg/ml, sendo considerado como a menor concentração a ser distinguida da linha de base, empregando-se atenuação adequada do Software Chromera ®.

O limite de quantificação de rifampicina foi determinado fortificando amostras de plasma de voluntários saudáveis nas concentrações de 0,25; 0,5; 1,25 µg/ml de cada substância, as quais eram submetidas ao procedimento de extração e, as relações de área das substâncias de interesse e do padrão interno nas diversas concentrações foram empregadas para obtenção dos coeficientes de variação. O limite de quantificação foi aquele que apresentou coeficiente de variação igual ou inferior a 15%.

#### **8.6 Análises dos dados**

Os dados estão apresentados como mediana (amplitude) e frequência de ocorrência. Os dados sócio demográficos foram comparados pelo teste do qui-quadrado. Já para comparação das concentrações rifampicina nos diferentes dias de amostragem de sangue foi utilizado o teste H de Kruskal Wallis e a comparação das concentrações do fármaco entre os sexos foi realizada pelo teste U de Mann Whitney. Os dados foram analisados no programa de estatística Bioestat 4.0 (Ayres et al, 2005) EXCEL® e INSTAT®. O nível de significância aceito foi 5%.

## 9. RESULTADOS

O total de 50 pacientes realizaram tratamento na UBS do Guamá e foram incluídos no estudo. Destes, 30 participantes tiveram a concentração de rifampicina estimada em diferentes dias de tratamento, correspondendo ao total de 80 amostras de sangue analisadas. As características sociais e demográficas dos pacientes nos quais os teores de rifampicina foram estimados estão apresentadas na Tabela 1.

<b>Perfil Social e demográfico</b>	<b>n=30</b>	<b>(%)</b>	<b>p valor*</b>
<b>Gênero</b>			
Masculino	19	63	0,0124
Feminino	11	37	
<b>Faixa etária</b>			
19 a 59	27	90	<0,0001
60 a 98	3	10	
<b>Procedência</b>			
Belém	25	83	<0,0001
Ananindeua	4	13	
Breves	1	4	
<b>Escolaridade</b>			
Analfabeto	1	3	<0,0001
Primário	14	46	
Médio	12	40	
Técnico	1	3	
Superior	2	8	

**Tabela 1:** Perfil sócio-demográfico dos pacientes com tuberculose pulmonar atendidos na Unidade Básica de Saúde do Guamá, Belém, Pará.

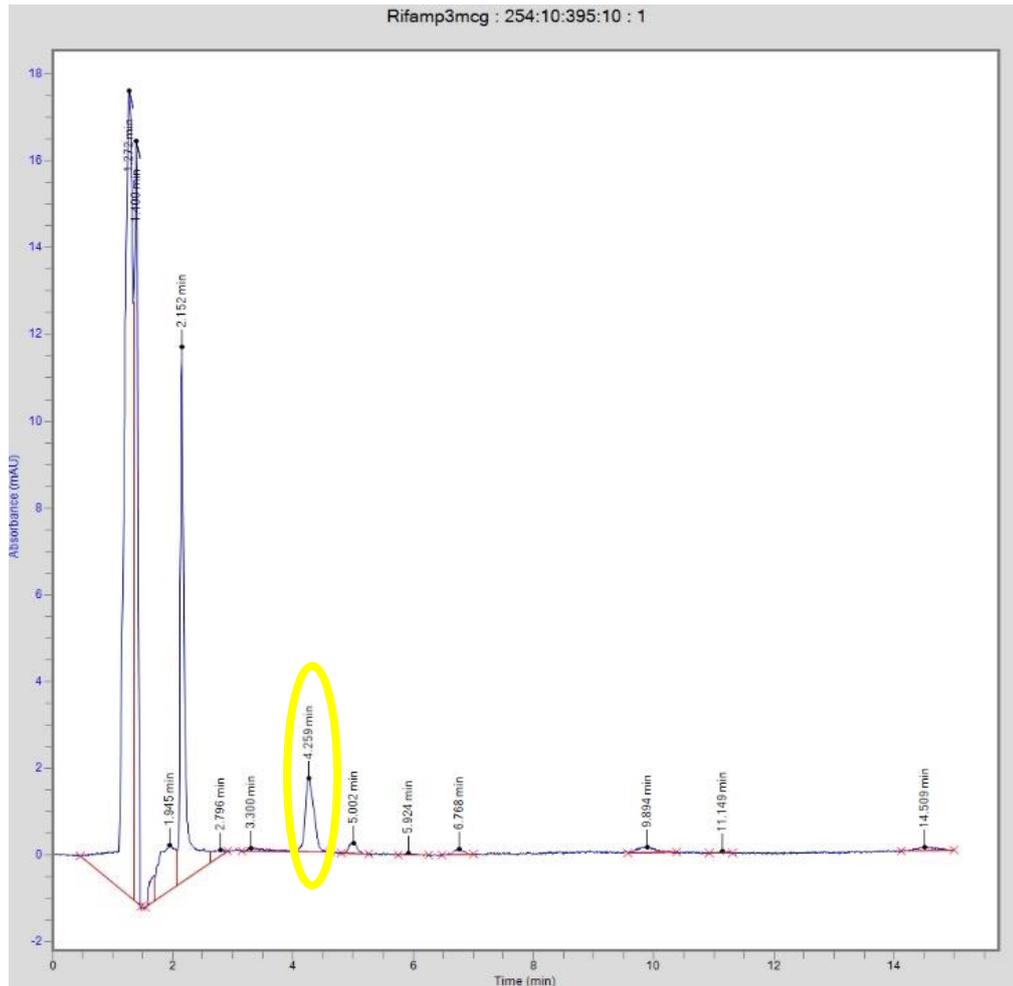
\*qui-quadrado

O abandono do tratamento foi observado em 20 pacientes (40%). Os principais motivos estão apresentados na Tabela 2.

Motivo de exclusão	n	(%)
Abandono	14	70
HIV positivo	1	5
Tuberculose multirresistente	1	5
Reação adversa grave	1	5
Não retornou para consulta e exames de controle	1	5
Mudou local de tratamento	2	10

**Tabela 2:** Motivos de exclusão dos pacientes.

Para determinação dos teores de rifampicina nas amostras de sangue foram realizadas pequenas modificações no método analítico proposto. O tempo de retenção da rifampicina e da hidroclorotiazida em concentrações de 3,0µg/ml nas condições instrumentais previamente validadas descritas no item 8.5.3 b foi de 4,3 minutos e de 2,85 minutos, respectivamente. A Figura 6 aponta a perfeita separação dos picos de interesse em amostra de sangue de voluntário saudável enriquecidas com 3,0µg/ml de cada analito e submetida a procedimento de extração descrito em 8.5.3.a

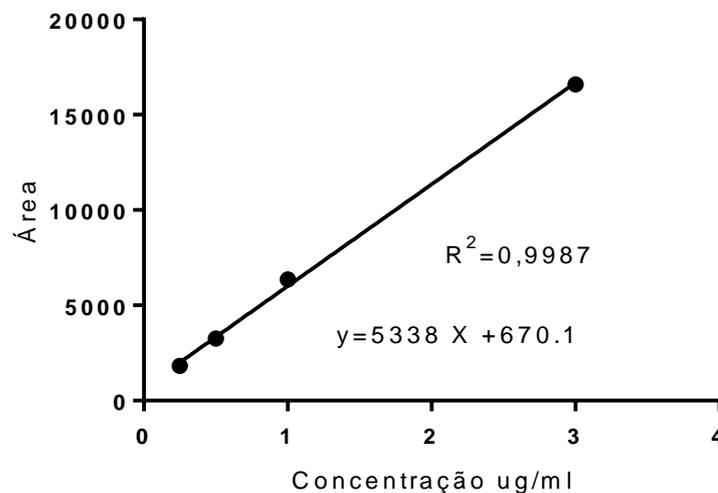


**Figura 6:** Perfil cromatográfico representativo da eluição da rifampicina e da hidroclorotiazida em concentração de 3,0ug/ml.

O limite de detecção do método analítico proposto, descrito no item 8.7.1.3. foi de 0,05ug/ml. Já a curva de calibração apresentou-se linear no intervalo de concentrações de rifampicina analisadas de 0,25 a 3 µg/ml, com coeficiente de determinação ( $r^2$ ) foi igual a 0,9987. A equação da reta obtida pelo método dos mínimos quadrados foi  $Y=5338 X + 670$ . A representação gráfica da curva de calibração encontra-se na Figura 7. Já os dados utilizados para construção estão apresentados na Tabela 3.

Rifampicina ( $\mu\text{g/mL}$ )	Relação de área rifampicina/hidroclorotiazida ( $\bar{X}$ )
3	16597
1	6359
0,5	3261
0,25	1821

**Tabela 3:** Relação de áreas da rifampicina em diferentes concentrações e do padrão interno (hidroclorotiazida)



**Figura 7:** Linearidade da solução padrão de rifampicina em concentrações de 0,25 a 3  $\mu\text{g/ml}$ .

As medianas das concentrações e os respectivos intervalos de concentrações de rifampicina estimadas em diferentes dias nos pacientes incluídos no estudo estão apresentadas na Tabela 4. Todas as amostras analisadas antes da introdução da quimioterapia não apresentaram concentrações detectáveis do analito. A comparação dos teores do fármaco entre os dias de estudo não apresentou diferença significativa ( $H=0,17$ ;  $p=0.915$ ).

Dia	N	Rifampicina (µg/ml)	Intervalo de concentrações (µg/ml)
0	30	Nd	-
30	20	0,73	0,08 - 3,87
60	12	0,63	0,07 - 2,02
90	12	0,6	0,08 - 1,87

**Tabela 4:** Intervalo de concentrações de rifampicina em diferentes dias nos pacientes.

nd=não detectado

Na Tabela 5 estão apresentadas as medianas das concentrações de rifampicina juntamente com o intervalo de concentrações em ambos os sexos na fase intensiva de tratamento. Percebe-se que os indivíduos do sexo feminino apresentaram de mediana significativamente superior aquele do sexo masculino (U=106,5; p=0,0323).

Sexo	N	Rifampicina (µg/ml)	Intervalo de concentrações (µg/ml)
Feminino	19	1,06*	0,08 - 3,87
Masculino	21	0,5	0,07 - 3,01

**Tabela 5:** Medidas de concentrações da rifampicina em ambos os sexos.

## 10. DISCUSSÃO

A tuberculose ainda representa importante problema de saúde pública mundial, principalmente nos países de baixa e média renda *per capita*. No Brasil, a doença persiste com elevadas taxas de incidências nos estados das regiões norte, nordeste e sudeste. Ao longo dos últimos anos, surgiram desafios que dificultaram as ações de controle da doença, quer sejam, a pandemia do HIV, o desenvolvimento de cepas multirresistentes e a falha da vacina BCG (bacilo de Calmette-Guérin modificado), em prevenir a forma pulmonar da doença (BURRIL et al, 2007; NANDI, BEHARI, 2011).

Os grupos populacionais de maior risco são os índios, presidiários, moradores de rua e soropositivos para HIV. Portanto, o aumento da população carcerária nos últimos anos, assim como, dos moradores de rua e dos infectados pelo vírus HIV totalizaram cerca de 3.962.903 indivíduos sob risco de contrair a doença no país, requerendo ações permanentes e elevado investimento financeiro na vigilância em saúde (BOMBARDA et al, 2009).

A doença é diretamente associada as condições sociais e econômicas da população, o que pode ser aferido pelo perfil social e econômico dos pacientes incluídos no estudo, que apesar da maioria residir na região metropolitana da cidade de Belém, apresentavam baixa escolaridade, indicando também a dificuldade de acesso as informações relativas a TB e a seu tratamento. A maior ocorrência em indivíduos do sexo masculino tem sido comumente reportada em vários estudos epidemiológicos e pode estar relacionada as atividades ocupacionais, entretanto, outros fatores de risco, como alcoolismo, tabagismo e consumo de outras drogas de abuso, também devem ser considerados para maior ocorrência neste sexo. Segundo o Ministério da Saúde (2014), no Brasil entre os anos de 2012 e 2013, houve prevalência de infecções no sexo masculino enquanto na cidade de Belém, houve distribuição similar da doença entre os sexos, com discreta prevalência nos homens, o que resulta, provavelmente, do número reduzido de políticas públicas de saúde direcionadas aos homens (GIROTI et al., 2010; SANTO et al., 2009; CALIARI & FIGUEIREDO, 2011 SINAN, 2017).

Estudos epidemiológicos apontam que a TB atinge todas as faixas etárias, principalmente a economicamente ativa, a partir dos 15 anos até os 60 ou mais, mostrando o prejuízo social e econômico da doença. Os dados deste estudo corroboram estatísticas do Ministério da Saúde (2014) que demonstram incidência de 52,8% em pacientes com 40 a 59 anos de idade.

A principal causa de exclusão do estudo foi o abandono do tratamento (70%). De fato, percebe-se uma considerável redução do número de amostras analisadas, e conseqüentemente, do seguimento clínico-laboratorial dos pacientes incluídos no estudo. Chirinos & Meirelles (2011) caracterizam o abandono do tratamento quando o paciente passa 30 dias ou mais dias sem administrar a quimioterapia. Os mesmo autores relataram que o abandono do tratamento ocorreu principalmente no primeiro trimestre do tratamento, provavelmente motivado pela melhora clínica dos sintomas. Além disso, também pode estar associado aos fatores sociais e econômicos, como o absenteísmo temporário para tratamento, ao grau de escolaridade, ao uso de drogas, aos aspectos relacionados ao atendimento no serviço de saúde, a ocorrência de reações adversas e à presença de comorbidades (Mendes & Fensterseifer, 2004; SAGBAKKEN et al., 2008).

Uma estratégia utilizada pelas unidades de saúde para reduzir as taxas de abandono e conseqüentemente aumentar a adesão ao tratamento é estabelecer um vínculo entre a equipe de saúde e o indivíduo sob tratamento da TB, mantendo uma relação de cuidado, interesse e atenção com o paciente (SOUZA et al., 2010). Contudo, não se pode atribuir a não adesão ao tratamento apenas aos pacientes, pois também pode refletir a falta de comprometimento da equipe de saúde, o que evidencia a necessidade de manter constante atenção dos profissionais na humanização do atendimento (JAISWAL et al., 2003; MUNRO et al., 2007).

O esquema terapêutico em uso atualmente ainda é efetivo para maioria dos casos novos da doença (NAHID et al, 2016; OMS, 2010). A rifampicina é usada tanto na fase intensiva, quanto na de manutenção do tratamento. Para mensurar suas concentrações nas amostras de sangue total, foram feitas pequenas alterações na metodologia seguida no estudo. O limite de detecção do método adequou-se aos propósitos do estudo, assim como, o método foi linear no intervalo de concentrações analisadas, dado que as concentrações plasmáticas de pico após uso de doses terapêuticas de 600 mg de rifampicina variam de 3 a 12 µg/ml. Além disso, houve excelente separação entre a rifampicina, hidroclortiazida e demais componentes da matriz biológica. (Douglas & Mcleod, 1999; Ellenhorn & Barceloux, 1988; Oliveira, 2013; Radner, 1973; Rosa, 2006). Por fim, a curva de calibração apresentou linearidade de acordo com as recomendações da ANVISA, referente a validação de métodos bioanalíticos, que recomenda coeficiente de determinação ( $r^2$ ) de 0,9 (Brasil, 2003b).

No presente estudo, as concentrações de rifampicina em sangue total foram mensuradas antes da administração da próxima dose do medicamento, o que justifica as medianas das concentrações encontradas nos diferentes dias de coleta de sangue, terem sido significativamente inferiores as concentrações de pico do fármaco, entre 3 a 12 µg/ml. O horário da coleta de material biológico pode ser justificado pelo objetivo do presente estudo, quer seja a monitorização das concentrações residuais do fármaco e não a obtenção de parâmetros farmacocinéticos. Tal discrepância entre as concentrações plasmáticas de pico e os valores residuais encontrados no presente estudo se deve a meia-vida biológica da rifampicina, que tem sido estimada entre 3 a 5 horas em pacientes com TB. Além disso, não foram observadas concentrações mensuráveis do fármaco antes do início do tratamento, o que é relevante para a política de tratamento da doença no país, ao apontar que não há uso indiscriminado do fármaco, o que poderia contribuir para resistência, Ray et al (2003), Requena-Méndez et al (2012), Medellín-Garibay et al (2014).

A atividade bactericida da rifampicina se associa a relação entre sua área sob a curva (AUC) e a concentração inibitória mínima (MIC), isto é, depende muito mais da quantidade de fármaco administrada, do que o tempo que suas concentrações plasmáticas permanecem acima da MIC. Por exemplo, a supressão da resistência ao fármaco foi a uma elevada relação entre AUC e MIC superior a 175, além de não ter sido associada a duração de concentrações acima da MIC. O efeito biológico do fármaco foi superior a 5.2 dias após uso de doses terapêuticas, e foi relacionado a relação entre a concentração máxima (Cmax) e a MIC, Tawanda et al (2007).

Neste sentido, a estimativa de concentrações residuais de rifampicina em compartimentos sanguíneos em dias e horários padronizados evidencia o uso adequado do fármaco, assim como, auxilia no entendimento das falhas terapêuticas, dado que concentrações sanguíneas sub terapêuticas de rifampicina pode influenciar o desfecho clínico dos casos, com importantes consequências, como falência de tratamento, relapso, óbito, prolongamento da infecção e o surgimento de resistência. A importância da monitorização terapêutica também pode ser evidenciada pelos relatos de elevada variabilidade inter e intra-individual nas concentrações de fármacos usados no tratamento da doença, as quais são devidas a idade, sexo, etnicidade,

formulação, interações medicamentosas e em algumas doenças como diabetes, HIV/AIDS, gastroenterites e fibrose cística. No presente estudo, a elevada variabilidade foi evidenciada pela ampla faixa de concentrações de rifampicina nos diferentes dias de estudo. Por fim, a monitorização dos níveis sanguíneos destes fármacos tem sido sugerida mesmo naqueles pacientes que realizaram o tratamento diretamente observado de forma adequada, Ray et al (2003), Requena-Méndez et al (2012), Babalik et al (2013).

A rifampicina é um indutor de isoformas do CYP-450, especificamente a CYP3A4, CYP2C9, e também das isoformas CYP1A2, CYP2C8 e CYP2C19. Espera-se com isso, redução das concentrações do próprio fármaco e dos outros administrados conjuntamente, contribuindo desta forma, para variabilidade das concentrações sanguíneas do fármaco. Entretanto, ao se comparar as concentrações de rifampicina nos diferentes dias de coleta de sangue, que representam a fase intensiva e de manutenção do tratamento, não foram observadas diferenças significativas entre os teores do fármaco. Várias razões justificam este achado, a saber: (a) o horário de coleta das amostras que corresponde as concentrações residuais do fármaco; (b) a dose de rifampicina empregada; (c) o tempo necessário para indução da atividade destas isoformas. Sem dúvidas, este último é determinante, e estudos apontaram um período de latência para efetiva manifestação da indução enzimática, entre um a dois meses, Acocella (1978), Ray et al (2003), Gorski et al (2004).

No presente estudo as concentrações de rifampicina na fase intensiva de tratamento foram significativamente elevadas no sexo feminino. De fato, vários estudos apontam que as concentrações de rifampicina são maiores no sexo feminino, e vários argumentos tem sido propostos para justificar este achado, a saber: (1) o aumento do volume de distribuição e da área sob a curva em homens; (2) as doses de rifampicina por kg de peso corporal serem geralmente inferiores no sexo masculino pela massa corporal e distribuição de gordura; (3) a absorção oral do fármaco é maior em mulheres; (4) As diferenças relacionadas ao sexo na capacidade de indução da CYP3A hepática e intestinal que é maior em homens, previamente demonstrada. A indução é dependente do substrato e reflete a contribuição relativa dos sítios hepáticos e intestinais de biotransformação de fármacos Gorski et al (2006), Medellín-Garibay et al (2014)

Por fim, estudos futuros devem ser realizados para avaliar se as alterações das concentrações de rifampicina entre os sexos dos pacientes influencia no desfecho do caso, Mccleron et al (2006).

## 11. CONCLUSÃO

Com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- O perfil social e demográfico dos pacientes com tuberculose pulmonar ativa aponta que a maioria era proveniente da região metropolitana de Belém, do sexo masculino, na faixa etária produtiva, com baixa escolaridade;
- O método analítico modificado para determinação de rifampicina apresentou parâmetros de validação que asseguraram a confiabilidade dos resultados;
- As concentrações de rifampicina no decorrer do estudo variaram de 0,6 $\mu$ g/ml a 0,73 $\mu$ g/ml.
- Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações do fármaco quando comparadas amostras coletadas na fase intensiva e de manutenção do tratamento.
- O sexo apresentou influência significativa nas concentrações de rifampicina com os maiores valores encontrados no sexo feminino.

## 12. REFERÊNCIAS

- ACOCELLA, C. **CLINICAL PHARMACOKINETICS OF RIFAMPICIN.** Clin Pharmacokinet. 1978 Mar – Apr; 3 (2): 108 – 127.
- ANDERSON, P., ASKGAARD, D., LJUNGQVIST, L. BENNEDSEN, J. HERON, I. Proteins released from *Mycobacterium tuberculosis* during growth. **Infection and Immunity.** 59(6): 1905-1910. 1991.
- AISWAL, A., SINGH, V., OGDEN, J. A., PORTER, J. D., SHARMA, P. P., SARIN, R., ARORA, V. K., JAIN, R. C. **Adherence to tuberculosis treatment: lessons from the urban setting of Delhi, India.** Trop Med int Health 2003 jul; 8 (7): 625 – 633.
- ARAÚJO, M. S. M. **Investigação do Polimorfismo do Exon-1 do Gene MBL ( Manose Biding Lectin) em Pacientes Portadores de Tuberculose.** Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Universidade Federal do Pará. Belém. 2009.
- BABALIK, A., ULUS, I. H., BAKIRCI, N., KUYUCU, T., ARPAG, H., DAGYILDIZI, L. CAPENER, E., **Plasma Concentrations of Isoniazid and Rifampicin are Decreased in Adult Pulmonary Tuberculosis Patients with Diabetes Mellitus.** Antimicrob Agents Chemother. 2013 nov 57 (11): 5740 – 5742.
- BISAGLIA, J.B., *et al.* Atualização terapêutica em tuberculose: principais efeitos adversos dos fármacos. **Bol pneumol sanit.** 2003, 11(2): 53-59.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. **Tratamento Diretamente observado (TDO) da Tuberculose na Atenção Básica.** 1ª edição. Brasília. 2011a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Tuberculose na Atenção Primária à Saúde.** 2ª edição. Brasília. 2011b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil.** Série A. Normas e Manuais Técnicos. 1ª edição. Brasília. 2011c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 [B]. Disponível em: [http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs\\_leis/vm/vm1.pdf](http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf)

BRASIL. Ministério da Saúde. **Controle da Tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço**. 5ª edição. Rio de Janeiro: FUNASA/CRPHF/SBPT. 2003a, 236p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Panorama da Tuberculose no Brasil**. 1ª edição. Brasília. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. **Perspectivas brasileiras para o fim da tuberculose como problema de saúde pública**. Volume 47. Nº 13. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual técnico para o controle da tuberculose: cadernos de atenção básica**/ Ministério da Saúde, secretaria de Políticas de saúde departamento de Atenção Básica -6. Ed. Ver. e ampl. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. **Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes**. Versão 2. Brasília. 2009. Disponível:[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota\\_tecnica\\_versao\\_28\\_de\\_agosto\\_v\\_5.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_versao_28_de_agosto_v_5.pdf).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil** / Ministério da Saúde, Secretaria de vigilância em saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Grupo Hospitalar Conceição. **Tuberculose na atenção primária à saúde**. – 1. Ed. Ampl. – Porto Alegre: Hospital Nossa Senhora da Conceição, 2011b.

CALIARI, J. S., FIGUEIREDO, R. M., **Tuberculose: perfil de doentes, fluxo de atendimento e opinião de enfermeiros.** Acta Paul Enferm. 2012; 25 (1): 43 – 47.

CHEN, J.; RAYMOND, K. Roles of in drug-drug interactions: underlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor. **Ann Clin Microbiol antimicrob.** v. 5, n. 3, p. 1-11, 2006.

CHIRINOS, N. E. C., MEIRELLES, B. H. S., **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose: uma revisão integrativa.** Texto Contexto Enferm. 2011 Jul – Set; 20 (3): 599 – 606.

CONDE, M.B. et al. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. J. Bras. Pneumol. [s.l.], v.35, n.10, p.1018-1048, 2009.

CONSENSO BRASILEIRO DE TUBERCULOSE II. Guia de vigilância epidemiológica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia.** 30 (Supl 1). 2004.

DOUGLAS, J.G.; MCLEOD, M.J. Pharmacokinetic factors in the modern drug treatment of tuberculosis. **Clin Pharmacokinet.** v. 37, n. 2, p. 127-46, 1999.

DUNLAP, N. E. *et al.* Diagnostic standard and classification of tuberculosis an adult and children. **American Journal Respiratory and Critical Care Medicine**, **161**: 1376-1395. 2000.

ELLENHORN, M.J.; BARCELOUX, D.G. **Medical toxicology.** New York: Elsevier, 1988. p. 367-372.

FERRI, A. O, *et al* Diagnóstico da tuberculose: uma revisão. **Revista Liberato**, Nova Hamburgo, v. 15, n. 24, p. 105-212, jul/dez. 2014.

FILHO, Adauto Castelo.;*et al.* **II Consenso Brasileiro de Tuberculose: Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2004.** Jornal Brasileiro de Pneumologia. Vol.30. Jun, 2004.

FLYNN, J. L., CHAN, J. Immunology of tuberculosis. **Annual Review of Immunology.** 19: 93-129. 2001.

FURESZ, S. Chemical and biological properties of rifampicin. **Antibiot. Chemother.** v. 16, p. 316-351, 1970. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. GOODMAN & GILMAN: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: McGRAW-Hill, 2004. p. 852-855.

HIJJAR, Miguel Aiub.; *et al.* **A tuberculose no Brasil e no mundo.** Boletim de Pneumologia Sanitária. Vol. 9, nº 2. Jun/Dez, 2001.

GALLO, G. G.; RADELLI, P. Rifampicin in FLOREY K (Ed), **Analytical Profiles of Drug Substances.** London Academic Press, 1976.

GIROTI, S. K. O., BELEI, R. A., MORENO, F. N., SILVA F. S. **Perfil dos Pacientes com Tuberculose e os Fatores Associados ao Abandono do Tratamento.** Cogitare Enferm 2010; 15: 271- 277.

GONÇALVES, Hellen.; *et al.* **Adesão à terapêutica da tuberculose em Pelotas, Rio Grande do Sul: na perspectiva do paciente.** Caderno de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 15(4):777-787. Out/Dez, 1999.

GORSKI, J. C., VANNAPRASAHT, S., HAMMAN, M. A., AMBROSIUS, W. T., BRUCE, M. A. HAENHNER-DANIELS, B., HALL, S. D., **The effect of age, sex, and Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Pharmacokinetics in a Cohort of Tuberculosis Patients.** Clin Pharmacol Ther. 2004.marc; 75 (3) 249.

GRAÇA, E. da S. **Caracterização dos Níveis Plasmáticos do Polimorfismo +874T/A no Gene INF- $\alpha$  em Pacientes com Diferentes Formas Clínicas da Tuberculose.** Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infeciosos e Parasitários. Universidade Federal do Pará. Belém. 2009.

LEMKE, T, L. Antimycobacterial agentes In. WILLIAMS, D. A; LEMKE, T. L. eds **Foyes's Principles of Medicinal Chemistry.** 5ª ed. Philadelphia Lippincott Williams e Wilkins, 2002

LOOS, U.; MUSCH, E.; JENSEN, J.C.; MIKUS, G.; SCHWABE, H.K.; EICHELBAUM, M. Pharmacokinetics of oral and intravenous rifampicin during chronic administration. **Klin Wochenschr.** v. 63, n. 23, p. 1205-1211, 1985

MACIEL, E. N., SALES, C. M. M. A vigilância epidemiológica da tuberculose no Brasil: como é possível avançar mais? **Epidemiologia Serviços de Saúde**, Brasília, 25 (1): 175-178, jan-mar 2016.

MANDELL, G. L.; PETRI JR, W. A. Fármacos utilizados na quimioterapia da tuberculose, da doença pelo complexo *Mycobacterium avium* e da lepra in **Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**, L. S.; GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. 9ª ed. Pag 955-956. Rio de Janeiro: McGraw – Hill interamericana, 1996.

MARIAPPAN, T.T.; SINGH, S. Regional gastrointestinal permeability of rifampicin and isoniazid (alone and their combination) in the rat. **Int J Tuberc Lung Dis.** v. 7, n. 8, p. 797-803, 2003.

MCLLERON, H., WASH, P., BURGER, A., NORMAN, J., FOLB, P. I., AND SMITH, P., **Determinants of Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Pharmacokinetics in a Cohort of Tuberculosis patients.** Antimicrob Agents Chemother. 2006; Apr 50 (4): 1170 – 1177.

MENDES, A. M., FENSTERSEIFER, L. M., **Tuberculose: Porque os pacientes abandonam o tratamento?** Bol. Pneumol. Sanit. V. 12 n. 1 Rio de Janeiro abr. 2004.

MOTA, F. F., SILVA, L. M. V. PAIM, J. S., COSTA M. C. N. Spatial distribution of tuberculosis mortality in Salvador, Bahia, Brasil. **Caderno de Saúde Publica.** 2003 Jul-Ago; 19(4): 915-22

MADICO, G., *et al.* Community infection ratio as an indicator for tuberculosis control. **Lancet.** 416-9. 1995.

MEDELLÍN-GARIBAY, S. E., MILÁN-SEGOVIA, R. del C., MAGAÑA-AQUINO, M., PORTALES-PERÉZ, D. P., ROMANNO-MORENO, S. **Pharmacokinetics of Rifampicin in Mexican Patients with Tuberculosis and Healthy Volunteers.** J. Pharm Pharmacol. 2014 Oct; 66 (10): 1421- 1428.

MUNRO, S. A., LEWIN, S. A., SWART, T., VOLMINK, J. A., **Review of Health Behavior Theories: How useful are these for developing interventions to**

**promote long-term medication adherence for TB and HIV/AIDS?** BMC Public Health 2007, 7:104.

PERKINS, M. D. New diagnostic tools for tuberculosis. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 4 (12 suppl 2): 182-188. 2000.

PRASANTHI, B; RATNA, J. V; PHANI, R, S, CH. Development and Validation of RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide in Human Plasma, **Journal of Analytical Chemistry**, 8:1015-1022. 2015

RADNER, D.B. Toxicologic and pharmacologic aspect of rifampin. **Chest**. v. 64, p. 213-216, 1973. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. GOODMAN & GILMAN: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: McGRAW-Hill, 2004. p. 852-855.

RAY, J., GARDINER. I., MARRIOTT, D., **Managing Antituberculosis Drug Therapy by Therapeutic Drug Monitoring of Rifampicin and Isoniazid**. Intern Med J. 2003 may-jun; 33 (5 – 6): 229- 234.

REQUENA- MÉNDEZ, A., DAVIES, G., ARDREY, A., JAVE, O., LÓPEZ-ROMERO, S. L., WARD, S. A., AND MOORE, D. A. J., **PHARMACOKINETICS OF RIFAMPICIN IN PERUVIAN TUBERCULOSIS PATIENTS WITH AND WITHOUT COMORBID DIABETES OR HIV**. Antmicrob. Agents Chemother. May 2012 vol 56 nº 5 2357 – 2363.

ROCHA, D, da S; ADORNO, R de C. F. Abandono ou descontinuidade do tratamento da tuberculose em Rio Branco, Acre. Revista Saude e Soc. São Paulo. V.21. n. 1, p.232-245, 2012.

SAGBAKKEN, M., et al. **PERCEPTION AND MANAGEMENT OF TUBERCULOSIS SYMPTOMS IN ADDIS ABABA, ETHIOPIA**. BMC PUBLIC HEALTH 2008.

Secretaria de Vigilância à Saúde. Sistema de Informação de Agravos e Notificações – Sinan. Normas e Rotinas. Brasília: Ministério da Saúde, 2017

SOUZA, K. M. J., SÁ, L. P., PALHA, P. F., NOGUEIRA, J. A., VILLA, T. C. S., FIGUEIREDO, D. A., **Abandono do Tratamento de Tuberculose e Relações de Vínculo com a Equipe de Saúde da Família**. Rev. Esc. Enferm. USP 2010; 44 (4): 904 – 11 [www.ee.usp.br/reeusp](http://www.ee.usp.br/reeusp).

SHISHOO, C.J.; SHAH, S.A.; RATHOD, I.S.; SAVALE, S.S.; VORA, M.J. Impaired bioavailability of rifampicin in presence of isoniazid from fixed dose combination (FDC) formulation. **Int Pharm**. v. 228, p. 53-67, 2001.

SIPPEL, J.E., MIKHAIL, I.A., GIRGIS, N.I., YOUSSEF, H.H. Rifampin concentrations in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. **Am. Rev. Respir. Dis.** v. 109, p. 579-580, 1974. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. GOODMAN & GILMAN: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: McGRAW-Hill, 2004. p. 852-855.

TAWANDA, G., ARNOLD, L., DEZIEL, M. R., WEIGUO, L., PARSONS, L. M., SALFINGER, M., DRUSANO G. L., **Concentration – Dependent *Mycobacterium tuberculosis* Killing Prevention of Resistance by Rifampicin**. Antimicrob. Agents chemother. Nov 2007 vol. 51 nº 11, 3781 -3788.

YEE, D., *et al.* Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, 2003. 167(11): 1472-77.

WONG, C. Y., LAW, G. T. Treating pulmonary TB. Revisiting na old problem. **Aust Fam Physician**, 2001, 30(8): 763-66.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Tuberculosis Report**. Regional Office for Europe. 2015a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and the millenium developmente gials**. Regional Office Europe. 2015b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The Paradigm shift**. Regional Office Europe 2016.

**APÊNDICE A– Termo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará.**



**NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO**



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** EFEITOS ADVERSOS AO NOVO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE.

**Pesquisador:** CARLOS AUGUSTO ABREU ALBERIO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 51037115.0.0000.5172

**Instituição Proponente:** Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

**Patrocinador Principal:** Departamento de Ciência e Tecnologia

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.591.019

**Apresentação do Projeto:**

O projeto apresenta todos os itens exigidos. Esse estudo irá dosar os níveis séricos das drogas utilizadas no tratamento para tuberculose.

**Objetivo da Pesquisa:**

Os objetivos estão claros e adequados.

**Objetivo Primário:**

Associar as concentrações plasmáticas de rifampicina, isoniazida e pirazinamida à resposta terapêutica e à incidência de efeitos adversos.

**Objetivo Secundário:**

Determinar por cromatografia líquida de alta eficiência as concentrações plasmáticas da rifampicina, isoniazida e pirazinamida. Comparar as concentrações de rifampicina e isoniazida nas duas fases de tratamento. Caracterizar os efeitos adversos no decorrer do tratamento da tuberculose e correlacionar as concentrações séricas de rifampicina, isoniazida e pirazinamida. Avaliar a correlação da falha terapêutica e a concentração plasmática das drogas antituberculosas.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Foram descritos no projeto e está adequado.

**Endereço:** Av. Generalíssimo Deodoro, 92

**Bairro:** Umarizal

**UF:** PA

**Município:** BELEM

**Telefone:** (91)3201-0961

**CEP:** 66.055-240

**E-mail:** cepbel@ufpa.br



NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 1.591.019

**Riscos:**

Ocorrência de pequenos sangramentos ou formação de hematomas relacionados a coleta de amostras de sangue. Quebra de sigilo das informações dos sujeitos, o qual será minimizado através da codificação dos dados e manipulação exclusiva pelo responsável pela pesquisa.

**Benefícios:**

Acompanhamento clínico regular com equipe multidisciplinar, composta por médico pneumologista e fisiologista, enfermeira, técnico de enfermagem, nutricionista e farmacêutico bioquímico. Tratamento das complicações relacionadas a tuberculose. Identificação precoce dos efeitos adversos do tratamento, com o adequado manejo especializado, dificultando a interrupção da terapia e favorecendo a cura da doença. Determinação de alterações orgânicas relacionadas a terapia antituberculose, através da realização de exames laboratoriais periódicos. Identificação dos casos de falência de tratamento com o encaminhamento para os respectivos centros de referência.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa possui relevância científica e o projeto está descrito de maneira clara e objetiva.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos foram apresentados pelo autor.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Parecer do projeto aprovado. Favor enviar relatório deste protocolo, quando finalizado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

*Parecer aprovado ad referendum. O pesquisador submeteu as correções às pendências apontadas na última reunião do colegiado do CEP a tempo, bem antes do período definido para a coleta de dados, a qual foi definida para o mês de abril de 2016. Devido a demora na avaliação destes protocolo, o parecer final está sendo realizada apenas agora, o que autoriza o início da pesquisa a partir de então.*

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_533358.pdf	27/01/2016 12:42:43		Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	27/01/2016 12:42:10	CARLOS AUGUSTO ABREU ALBERIO	Aceito

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 66.055-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0961

E-mail: cepbel@ufpa.br



NÚCLEO DE MEDICINA  
TROPICAL-NMT/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 1.591.019

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_TUBERCULOSE.pdf	25/01/2016 21:20:20	CARLOS AUGUSTO ABREU ALBERIO	Aceito
Outros	CARTA_DE_ACEITE_DA_INSTITUICA O.pdf	12/11/2015 22:35:52	CARLOS AUGUSTO ABREU ALBERIO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	12/11/2015 22:24:12	CARLOS AUGUSTO ABREU ALBERIO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BELEM, 15 de Junho de 2016

---

Assinado por:  
**ANDERSON RAIOL RODRIGUES**  
(Coordenador)

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92

Bairro: Umarizal

CEP: 66.055-240

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-0961

E-mail: cepbel@ufpa.br

## APÊNDICE B Termode Consentimento Livre Esclarecido - TCLE.

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Eu, Carlos Augusto Abreu Alberio, responsável pela pesquisa “Efeitos Adversos ao Novo Tratamento da Tuberculose”, estou fazendo um convite para você participar como voluntário deste estudo.

Esta pesquisa pretende descrever os efeitos adversos que possam estar relacionados ao novo tratamento para tuberculose no Brasil. Acredito que ela seja importante porque, com a identificação e tratamento dos efeitos adversos, possamos reduzir o abandono ao tratamento e melhorar as taxas de cura da doença.

Sua participação constará do comparecimento periódico ao local onde será realizado o estudo, conforme consultas agendadas pelo médico responsável pela pesquisa, quando deverá relatar toda e qualquer alteração apresentada durante o tratamento.

É possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos: dor e/ou queimação no estômago, inflamação no fígado, dores nas juntas, coceira, que são os efeitos adversos mais comuns. Pode haver necessidade de realizar coleta de sangue para a realização de exames, que servirão para diagnosticar as alterações provocadas pelo tratamento e avaliar a gravidade das mesmas. Durante essas coletas pode ocorrer pequenos sangramentos ou formação de hematoma no local. Os benefícios que esperamos com o estudo são: identificar o mais cedo possível os efeitos adversos, orientar a conduta a ser tomada, conseguindo controlar essas alterações e possibilitar a conclusão do tratamento com a cura da doença.

É importante esclarecer que, caso você decida não participar, o seu acompanhamento clínico será mantido, e os problemas relacionados ao tratamento da tuberculose serão prontamente assistidos pela equipe multiprofissional que coordena esse programa.

Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com o pesquisador.

Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação.

### AUTORIZAÇÃO

Eu, \_\_\_\_\_, após a leitura ou a escuta da leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresse minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura de uma testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário ou de seu representante legal para a participação neste estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Dados do pesquisador:

Nome: Carlos Augusto Abreu Alberio.

Conselho Regional de Medicina: 6249.

Endereço: Avenida Gentil Bittencourt, 867, apartamento 501, Bairro: Nazaré, CEP 66040-174.

Telefone: (91) 8115-5048

Endereço eletrônico: ca.alberio@uol.com.br

Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical - UFPA.

Endereço: Avenida Generalíssimo Deodoro, 92, Bairro: Umarizal, CEP 66055-240.

Telefone: (91) 3201-0961. E-mail: cepbel@ufpa.br