



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**DOUTORADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ELIZABETH CLARA BARROSO**

**ESTUDO DA BARREIRA FUNCIONAL INTESTINAL E  
CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE RIFAMPICINA E ISONIAZIDA  
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE**

**FORTALEZA**

**2009**

**ELIZABETH CLARA BARROSO**

**ESTUDO DA BARREIRA FUNCIONAL INTESTINAL E  
CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE RIFAMPICINA E ISONIAZIDA  
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

**FORTALEZA**

**2009**

## FICHA CATALOGRÁFICA

B285e Barroso, Elizabeth Clara

Estudo da barreira funcional intestinal e concentrações séricas de rifampicina e isoniazida em pacientes com tuberculose multirresistente / Elizabeth Clara Barroso. – Fortaleza, 2009.  
272 f.: Il.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza-Ce, 2009.

1. Tuberculose resistente a múltiplos medicamentos. 2. Absorção intestinal. 3. Rifampina 4. Isoniazida I. Lima, Aldo Ângelo Moreira (orient.) II. Título.

CDD: 616.995



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA TESE DE DOUTORADO DE **ELIZABETH CLARA BARROSO**,  
REALIZADA NO DIA NOVE DE JUNHO DE DOIS MIL E NOVE.

1 Às oito horas e trinta minutos do dia nove de junho de dois mil e nove, no Auditório Paulo Marcelo, da  
2 Universidade Federal do Ceará, realizou-se a 11ª Sessão de Defesa da Tese de Doutorado de autoria de  
3 **ELIZABETH CLARA BARROSO**. O trabalho tinha como título: “ESTUDO DA BARREIRA  
4 FUNCIONAL INTESTINAL E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE RIFAMPICINA E ISONIAZIDA EM  
5 PACIENTES COM TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE”. Compunham a Banca Examinadora os  
6 professores doutores: **ALDO ÂNGELO MOREIRA LIMA (ORIENTADOR)**, **AFRÂNIO LINEU**  
7 **KRITSKI**, **MARCUS BARRETO CONDE**, **JEOVÁ KENY BAIMA COLARES** E **VALÉRIA GÓES**  
8 **FERREIRA PINHEIRO**. A sessão foi aberta pela coordenadora do Programa de Pós-Graduação em  
9 Ciências Médicas professora doutora **GEANNE MATOS DE ANDRADE**, que apresentou a Banca  
10 Examinadora e passou a palavra ao orientador afim de que apresentasse a candidata. Após a exposição,  
11 seguiu-se o processo de arguição da doutoranda. O primeiro examinador foi o professor doutor Marcus  
12 Barreto Conde. Logo após procederam à arguição os professores doutores Afrânio Lineu Kritski, Jeová  
13 Keny Baima Colares. e Valéria Góes Ferreira Pinheiro. Em seguida a Banca Examinadora se reuniu  
14 reservadamente a fim de avaliar o desempenho da candidata. Por unanimidade a Banca Examinadora  
15 considerou APROVADO o trabalho da doutoranda. Nada mais havendo a relatar a sessão foi encerrada às  
16 onze horas e quarenta e cinco minutos. E eu, Rita de Cássia de Almeida Antunes, secretária do Programa  
17 de Pós-Graduação em Ciências Médicas, lavrei a presente ata, que depois de lida e aprovada, será assinada  
18 por mim e pelos membros da Banca Examinadora. Fortaleza, nove de junho de dois mil e nove.

Rita de Cássia de Almeida Antunes  
(Secretaria)

Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares (UNIFOR)

Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima  
(Orientador UFC)

Prof. Dra. Valéria Góes Ferreira Pinheiro (UFC)

Prof. Dr. Afrânio Lineu Kritski (UFRJ)

Prof. Dr. Marcus Barreto Conde (UFRJ)

*Ao meu amigo Vicente Teixeira Barroso, por ter sempre acreditado em mim e colaborado de modo permanente em todas as etapas da nossa vida.*

*Madalena, Joana e Maria Clara, minhas filhas, que tiveram que conviver a vida inteira com uma mãe que sempre tinha muito o que estudar, ler, escrever, pesquisar e, mesmo assim, se mantiveram a meu lado, apoiando mais esse projeto.*

*À memória de José Rosemberg, grande mestre, exemplo de pessoa dedicada ao estudo da Arte Médica, incentivador e exemplo para todos os que tiveram o privilégio de por ele passar.*

## **AGRADECIMENTOS**

Sou agradecida a muitas pessoas e instituições que contribuíram para a realização desse trabalho. Corro o risco de deixar de citar algumas, às quais desde já peço sinceras desculpas.

Aos pacientes, que, apesar de seu sofrimento, foram voluntários para participar deste estudo.

Aos voluntários sadios, os quais, sem sintomas, se submeteram a tomar o medicamento para tratar tuberculose, permitiram as coletas de sangue e urina para os exames e dispuseram do seu tempo para participar deste ensaio.

Ao Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, meu orientador, por sua experiência, calma, senso de oportunidade e otimismo.

À Prof<sup>ª</sup>. Msc. Rosa Maria Salani Mota, pela análise estatística, pela disponibilidade e pela capacidade de ler os resultados em dados frios.

À Irmezinda, secretária do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Messejana e aos colegas do ambulatório de Tisiologia: Maria Edna Moura, Maria Romi Dantas e José Ademar Arruda que trabalharam comigo na seleção de pacientes e voluntários sadios e em todo o protocolo de coleta de material nos dias de pesquisa, seis meses antes e doze meses depois.

À Marluce, que colheu e centrifugou todas as amostras de sangue e colaborou com toda presteza em todas as etapas do protocolo de pesquisa que se fizeram necessárias, sempre situando a pesquisa em primeiro plano.

Às coordenadoras do Programa de Controle da Tuberculose da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fátima Verônica e Christiana e à secretária Patrícia

que possibilitaram a realização da licitação para compra de material de laboratório e compra das refeições oferecidas a todos os participantes nos dias de pesquisa.

A Joel Keraveck, coordenador do Projeto *Management Sciences for Health* (MSH), Miguel Aiub Hijjar diretor do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF), e à Maria das Graças do CRPHF, que colaboraram no fornecimento da medicação utilizada no estudo, provenientes de fonte aprovada pela Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS).

A Creusa L. Campelo e Sheyla F. Vale, do Laboratório Central-CE, que realizaram as culturas para BK e Teste de Sensibilidade Antimicrobiana.

A Rosélia, chefe de laboratório do Hospital de Messejana, pela colaboração na realização dos exames bioquímicos, Anti-HIV e parasitológicos de fezes.

Colegas do doutorado – Ana Karine, Walter Correia, Rossana, Tereza, Fabíola e Verônica, e professores e do atual curso de pós-graduação, com quem dividimos a angústia e o prazer de voltar a ser estudantes.

À Marta e Ivone, secretarias da pós-graduação, pelas informações sempre precisas e a gentileza com que sempre nos atenderam.

À bibliotecária Norma de Carvalho Linhares, pelo cuidado e atenção com que revisou as referências bibliográficas.

À Maria do Carmo Nunes Pinho (Carminha), Verônica Maria de Oliveira da Silva, Conceição de Maria Nogueira, por promoverem a infra-estrutura para a coleta de material e confecção da planilha das dosagens de lactulose e manitol nas amostras de urina e sangue deste estudo.

A Domingos Barreto de Oliveira, Gardênia de Sousa Lourenço e Charliene de Sousa Melo, pela imprescindível ajuda na confecção da solução teste de lactulose manitol e realização desse teste.

A Charles Peloquin, pela gentileza na realização das dosagens sangüíneas de rifampicina e isoniazida.



A José Amadeus, Kátia Nogueira, Fabiana Nascimento, equipe administrativa da Unidade de Pesquisas Clínicas, pela atenção e deferência que sempre dispensada.

Ao Prof. Dr. Alberto Melo Soares e ao funcionário Charles, pela presteza e gentileza no atendimento para a realização da dupla entrada dos dados nas planilhas e cálculo do percentual de excreção urinária de lactulose manitol.

À direção do Hospital de Messejana, inicialmente, Dr. Petrônio V. Leitão e em seguida Dr<sup>a</sup>. Maria do Perpétuo Socorro P. Martins, ao chefe do Serviço Médico Dr. Leopoldo Vasconcelos e ao meu chefe Dr. Edísio Machado Carneiro, pelo apoio dado para que eu tivesse condições de me dedicar ao doutorado.

À Direção do Hospital de Maracanaú, inicialmente, Dr<sup>a</sup>. Wanda Maria A. M. Campos e em seguida Dr. João Borges, e, às chefias do Dr. Reginaldo V. F. de Albuquerque, Dr. Nelson L. Evangelista e Dr<sup>a</sup>. Tânia Mara, os quais também colaboraram para o meu desiderato.

Aos colegas do Hospital de Maracanaú: Mary Anne N. Luna, Maria Filomena M. Morais, Josefa Ivonete Cordeiro, Silvia Helena C. Barreto, Maria Abreu, Vera Maria Veras, Elizabeth, Etevaldo e Evandra, muito obrigado e especialmente ao Dr. Álvaro Emidio Pereira Borges que tantas vezes me substituiu nesses quatro anos.

A toda a minha família: minha mãe, Maria Amazônia, meu pai, Sebastião, super tia Madalena, outras tias e tios, irmãos, filhas, primos e primas, cunhados e cunhadas, a todos, enfim, pela compreensão na minha ausência e recusa de convites nos últimos quatro anos.

Ao meu bom Deus, a quem devo luz, saúde, persistência e a sorte de ter tido toda ajuda acima referida, possibilitando-me concluir toda essa tarefa.

## RESUMO

### ESTUDO DA BARREIRA FUNCIONAL INTESTINAL E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE RIFAMPICINA E ISONIAZIDA EM PACIENTES COM TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE

Baixos níveis sanguíneos de drogas antituberculose podem ser causa de resistência do *Mycobacterium tuberculosis*. Este estudo objetivou avaliar a absorção intestinal transcelular e paracelular e verificar possível repercussão nas concentrações séricas de rifampicina (RMP) e isoniazida (INH) em pacientes com tuberculose multirresistente (TBMR). Realizou-se estudo caso-controle no Ambulatório de Tisiologia do Hospital de Messejana, em Fortaleza-Ceará, entre agosto de 2006 e abril de 2007. TBMR foi definida como o caso de portador de bacilo resistente a pelo menos RMP+INH, de acordo com o teste de sensibilidade realizado pelo método das proporções. Foram formados dois grupos para controle, o dos portadores de tuberculose sensível (TBS) e o dos voluntários sãos (VS). Realizaram-se exames hematológicos e bioquímicos, o teste da lactulose / manitol (L/M) (para avaliar a absorção intestinal) e coleta de dados clínicos e sociais de todos os voluntários. Para a avaliação das concentrações séricas foi coletado sangue duas e seis horas após a ingestão observada da RMP+INH. A técnica utilizada para a quantificação da L e M na urina e dosagem sérica de RMP e INH foi a cromatografia líquida de alta pressão. O total de componentes dos grupos com TBMR, TBS e de sadios foi, respectivamente, 41, 33 e 41, emparelhados por gênero e idade. Na análise univariada, encontrou-se mediana / variação do percentual de excreção urinária da L e M menor no grupo com TBMR em relação aos sadios ( $p < 0,05$ ). Ao se corrigir para a associação alcoolismo + tabagismo ou índice de massa corporal (IMC), desapareceu a significância da menor excreção de lactulose nos portadores de TBMR. Após a análise multivariada, a média  $\pm$  desvio-padrão (dv) do percentual de excreção urinária do M foi menor no grupo com TBMR em relação ao grupo de VS ( $p = 0,0291$ ) e em relação ao de TBS ( $p = 0,0369$ ). A relação L/M foi semelhante entre os grupos ( $p = 0,4747$ ). A concentração sérica máxima de INH (CHX) média  $\pm$  desvio-padrão foi maior no grupo com TBMR ( $3,82 \pm 1,18$ ) em relação ao VS ( $2,79 \pm 1,19$ ),  $p < 0,01$ , não havendo diferença entre TBS e VS nem entre TBMR e TBS. Após a análise multivariada, a CHX aumentou no grupo VS ( $3,07 \pm 0,24$ ), mas continuou a ser maior no grupo com TBMR e, agora, com diferença significativa em relação apenas à TBS. Houve CHX  $< 3 \mu\text{g/ml}$  em 18,8% (6/32) dos casos e 56,7% (17/30) dos sadios ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBS, 39,3% (11/28) e sadios. Após a análise multivariada, a média  $\pm$  dp da concentração sérica máxima de RMP (CRX) foi menor no grupo com TBMR do que nos sadios ( $p < 0,05$ ) e no grupo com TBS do que nos sadios ( $p < 0,001$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS. Houve (CRX)  $< 8 \mu\text{g/ml}$  em 90,6% (29/32) dos portadores de TBMR e 66,7% (20/30) dos sadios ( $p < 0,05$ ) e em 82,1% (23/28) do grupo com TBS (em relação aos sadios,  $p < 0,05$ ). Em conclusão, observou-se redução na absorção transcelular intestinal em pacientes com TBMR *versus* TBS ou sadios, e os dados sugerem significativa participação do alcoolismo+tabagismo e IMC na redução do transporte paracelular em portadores de TBMR. A CRX foi mais baixa em portadores de TBMR e TBS do que em sadios, com altas proporções de níveis subterapêuticos de RMP e INH nos três grupos, principalmente para CRX, mas, também preocupante para CHX.

**Palavras-chave:** 1. Tuberculose multirresistente. 2. Concentração sérica de rifampicina, isoniazida. 3. Absorção intestinal.

## ABSTRACT

### INTESTINAL BARRIER FUNCTION AND BIOAVAILABILITY OF RIFAMPIN AND ISONIAZID IN MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS PATIENTS IN CEARÁ STATE, NORTHEAST-BRAZIL.

Reduced antituberculosis drugs concentrations are associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance. This study aims to evaluate intestinal permeability and serum concentrations of rifampin (RIF) and isoniazid (INH) in patients with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). A case-control was conducted with outpatients who attended Messejana's Hospital in Fortaleza-Ceará from August 2006 to April 2007. MDR-TB (case) was defined as resistance to at least RIF+INH according to the susceptibility test by the proportion method. Two control groups were formed. The drug sensible TB (DS-TB) group defined so when the isolate was sensible to RIF, INH, streptomycin and ethambutol and the healthy control group (HC). The final MDR-TB, DS-TB and health control groups composition was 41, 33 and 41 respectively, matched by sex and age. Biochemical and haematological examinations, lactulose:mannitol (L/M) test (to access intestinal absorption) were performed as well as social and clinical interview in all volunteers. To access the serum concentrations two blood samples were collected at two and six hours after RIF and INH ingestion in 32 MDR-TB and 28 DS-TB patients and 30 HC. The drug serum concentrations and L/M test in urine were performed by HPLC. After univariate analysis the median/range of the L and M urinary excretion percentage was significantly lower in MDR-TB patients comparing to HC ( $p < 0.05$ ). Adjusting for alcoholism+tabagism association or Body Mass Index (BMI), this difference disappeared for lactulose. After multivariate analysis the mean  $\pm$  standard (sd) deviation M urinary excretion percentage was lower in MDR-TB than in HC ( $p = 0.0291$ ) group or DS-TB ( $p = 0.0369$ ) group. The L:M ratio did not differ between the groups ( $p = 0.4747$ ). The mean  $\pm$ sd of the INH maximum serum concentration (HCmax) was higher in MDR-TB ( $3.82 \pm 1.18$ ) than in HC ( $2.79 \pm 1.19$ ) group,  $p < 0.01$  and there was no difference between DS-TB and HC nor between MDR-TB and DS-TB groups. After multivariate analysis the HCmax increased in HC ( $3.07 \pm 0.24$ ), but, remained to be higher in MDR-TB group, and now, significantly higher only than DS-TB group. There was HCmax  $< 3 \mu\text{g/ml}$  in 18.8% (6/32) of the cases and 56.7% (17/30) of the HC ( $p < 0.05$ ) and no difference between DS-TB (39.3%, 11/28) and HC. After multivariate analysis the mean  $\pm$ sd RIF maximum serum concentration (RCmax) was lower in MDR-TB than in HC ( $p < 0.05$ ) and in DS-TB than in HC ( $p < 0.001$ ), with no difference between MDR-TB and DS-TB groups. The RCmax was  $< 8 \mu\text{g/ml}$  in 90.6% (29/32) of the cases and 66.7% (20/30) of HC ( $p < 0.05$ ) and in 82.1% (23/28) of the DS-TB patients (comparing to HC,  $p < 0.05$ ). In conclusion there was reduction in transcellular intestinal absorption in MDR-TB versus DS-TB or HC and the data suggest that alcoholism+tabagism association and BMI have an important role in the reduction of paracellular transport in MDR-TB patients. The RCmax was low in MDR-TB and DS-TB patients with high proportions of subtherapeutic levels in these groups, mainly for RCmax, but also worrying for HCmax.

**Key words:**; Multidrug-resistant tuberculosis, intestinal permeability; rifampin and isoniazid bioavailability, intestinal malabsorption.

## LISTA DE SIGLAS

<b>ANCOVA</b>	– Análise de variância com covariáveis
<b>ANOVA</b>	– Análise de variância
<b>ATHM</b>	– Ambulatório de Tisiologia do Hospital de Messejana
<b>BCG</b>	– Bacilo de <i>Calmette Guérin</i>
<b>BK</b>	– Bacilo de Koch
<b>CH2</b>	– Concentração sérica de isoniazida, após duas horas da ingestão
<b>CH6</b>	– Concentração sérica de isoniazida, após seis horas da ingestão
<b>CHX</b>	– Concentração sérica máxima de isoniazida
<b>CR2</b>	– Concentração sérica de rifampicina, após duas horas da ingestão
<b>CR6</b>	– Concentração sérica de rifampicina, após seis horas da ingestão
<b>CRX</b>	– Concentração sérica máxima de rifampicina
<b>CRPHF</b>	– Centro de Referência Professor Hélio Fraga
<b>DFC<sub>s</sub></b>	– Doses fixas combinada
<b>DOTS</b>	– “ <i>Directly Observed Treatment Short-Course Strategy</i> ” - Estratégia de tratamento encurtado diretamente observado
<b>E-I</b>	– Esquema I
<b>E-III</b>	– Esquema III
<b>E-IR</b>	– Esquema I reforçado
<b>E ou EMB</b>	– Etambutol
<b>ETH</b>	– Etionamida
<b>H ou INH</b>	– Isoniazida
<b>Hab</b>	– Habitante
<b>HIV</b>	– Vírus da imunodeficiência adquirida
<b>HIV/TB</b>	– Infecção simultânea por vírus da imunodeficiência adquirida e <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>HM</b>	– Hospital de Messejana
<b>HPLC</b>	– “ <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ” – Cromatografia líquida de alta pressão

<b>HPLC-PAD</b>	– “High Performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection” - Cromatografia líquida de alta pressão com detecção amperométrica de pulso
<b>IC</b>	– intervalo de confiança
<b>IL</b>	– Interleucina
<b>IMC</b>	– Índice de massa corpórea ou corporal
<b>INCQS</b>	– Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
<b>INH ou H</b>	– Isoniazida
<b>IUATLD</b>	– “ <i>International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases</i> ” - União Internacional contra a Tuberculose e Doenças Pulmonares
<b>L</b>	– Lactulose
<b>L/M</b>	– Razão lactulose / manitol
<b>LAFEPE</b>	– Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
<b>M</b>	– Manitol
<b>MDR ou MR</b>	– Tuberculose multidroga resistente
<b>MNT</b>	– Micobactéria não tuberculosa
<b>MS</b>	– Ministério da Saúde
<b>MSH</b>	– <i>Management Sciences for Health</i>
<b>MTD</b>	– Monitoramento terapêutico de drogas
<b>OMS</b>	– Organização Mundial de Saúde
<b>OR</b>	– <i>Odds ratio</i>
<b>PAS</b>	– Ácido para-aminosalicílico
<b>PI</b>	– Permeabilidade intestinal
<b>PTAX</b>	– período entre tratamento atual e o exame (semanas)
<b>PPD</b>	– Purified Protein Derivative – teste tuberculínico
<b>P1TX</b>	– Período entre o primeiro tratamento e o exame
<b>Z ou PZA</b>	– Pirazinamida
<b>RFLP</b>	– “ <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> ” – Polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição
<b>R ou RMP</b>	– Rifampicina
<b>RIF</b>	– Rifampin
<b>S ou SM</b>	– Estreptomicina
<b>SBPT</b>	– Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia

<b>SIDA ou AIDS</b>	– Síndrome da imunodeficiência adquirida ou acquired immunodeficiency syndrome
<b>TBMR</b>	– Tuberculose multirresistente
<b>TBMDR</b>	– Tuberculose multidroga resistente
<b>TBS</b>	– Tuberculose sensível
<b>TBXDR</b>	– <i>Extensive resistant tuberculosis.</i> - Tuberculose extensamente resistente
<b>TJ</b>	– “ <i>Tight Junctions</i> ” - zonas de oclusão
<b>UICTER</b>	– “ <i>Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias</i> ” – União Internacional contra a Tuberculose e Doenças Respiratórias
<b>VS</b>	– Voluntário são
<b>VSs</b>	– Voluntários são
<b>Vs</b>	– <i>Versus</i>
<b>WHO</b>	– “ <i>World Health Organization</i> ” – Organização Mundial da Saúde
<b>XDR</b>	– <i>Extensive resistant tuberculosis.</i> - Tuberculose extensamente resistente

## LISTA DE TABELAS

1	Tuberculose: sumário dos coeficientes de incidência e mortalidade por cem mil habitantes no mundo, Brasil, Nordeste e Ceará, fonte e ano da publicação e anos de referência.....	32
2	Síntese das características do <i>M. tuberculosis</i> e a ação medicamentosa.	34
3	Caracterização quanto à idade, gênero e escolaridade dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	100
4	Distribuição quanto à renda dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	101
5	Distribuição quanto ao tabagismo, alcoolismo e uso de drogas ilícitas dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	103
6	Distribuição quanto ao estado nutricional dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	104
7	Classificação quanto ao grau de desnutrição pelo índice de massa corporal dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Estado do Ceará, 2006-2007.....	105
8	Distribuição das características: leucócitos, linfócitos e hemoglobina dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	106
9	Distribuição quanto à qualidade do 1º tratamento dos voluntários com tuberculose multirresistente e tuberculose sensível, no Ceará, 2006-2007.....	108
10	Distribuição quanto ao número de tratamentos anteriores e o tempo de tratamento dos voluntários com tuberculose multirresistente e tuberculose sensível, no Ceará, 2006-2007.....	109
11	Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pela <b>bacteriologia, parasitas intestinais, alcoolismo e tabagismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	112

12	Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pela <b>intensidade do alcoolismo e do tabagismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	113
13	Comparação dos grupos dois a dois em relação à média do percentual de excreção de manitol em função da <b>intensidade do alcoolismo e do tabagismo</b> .....	114
14	Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pelo <b>deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo e tabagismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	115
15	Comparação dos grupos dois a dois em relação à média do percentual de excreção de manitol em função do <b>deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo e tabagismo</b> .....	116
16	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários com tuberculose multirresistente, no Ceará, 2006-2007.....	117
17	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários com tuberculose sensível, no Ceará, 2006-2007.....	118
18	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários sadios, no Ceará, 2006-2007.....	119
19	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, renda, tabagismo, índice de massa corporal e diferença ponderal nos voluntários com tuberculose multirresistente, no Ceará, 2006-2007..	120
20	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, tabagismo, índice de massa corporal e deficit ponderal nos voluntários com tuberculose sensível, no Ceará, 2006-2007.....	121
21	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, tabagismo, índice de massa corporal e deficit ponderal nos voluntários sadios, no Ceará, 2006-2007.....	121



22	Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, associando-se os voluntários com tuberculose multirresistente e tuberculose sensível, no Ceará, 2006-2007.....	122
23	Caracterização quanto à idade, gênero e escolaridade dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	124
24	Distribuição quanto à renda dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	125
25	Distribuição quanto ao tabagismo, alcoolismo e uso de drogas ilícitas dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	127
26	Distribuição quanto ao estado nutricional dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	128
27	Distribuição das características: leucócitos, linfócitos e hemoglobina dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	130
28	Percentual de excreção urinária do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	132
29	Avaliação das doses de rifampicina e isoniazida ingeridas nos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	133
30	Concentração sérica duas horas e seis horas após a ingestão e a concentração máxima de rifampicina e isoniazida em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	134
31a	Distribuição dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios quanto aos níveis terapêuticos esperados de rifampicina e isoniazida no Ceará, 2006-2007.....	139
31b	Distribuição dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios quanto aos níveis terapêuticos esperados de rifampicina, após ajuste nos grupos TBMR e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	140

32	Distribuição quanto ao número de drogas antituberculose dentro dos níveis terapêuticos entre os voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios no Ceará, 2006-2007.....	140
33	Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, pela presença ou ausência de parasitas intestinais nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	141
34	Comparação dos grupos dois a dois em relação às médias das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida em função da presença ou ausência de <b>parasitas intestinais</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	142
35	Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, pela intensidade do <b>alcoolismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	143
36	Comparação dos grupos dois a dois em relação às médias das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida em função da intensidade do <b>alcoolismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	143
37	Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pela <b>intensidade do alcoolismo + tabagismo</b> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	144
38	Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função da intensidade do <b>alcoolismo + tabagismo</b> .....	145
39	Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pelo <b>índice de massa corporal e deficit ponderal</b> , nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	145
40	Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função do <b>índice de massa corporal e deficit ponderal</b> .....	146
41	Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pelo <b>índice de massa corporal e deficit ponderal, albumina e hemoglobina</b> , nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.....	147

42	Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função do <b>índice de massa corporal, deficit ponderal, albumina e hemoglobina</b> .....	147
43	Correlação entre as doses ingeridas de rifampicina e isoniazida e suas concentrações séricas nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios no Ceará, 2006-2007.....	148

## LISTA DE FIGURAS

1	Curva hipotética de concentração <i>versus</i> tempo.....	59
2	Representação gráfica de curva dose-resposta.....	62
3	Fluxograma de recrutamento dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios no, Ceará, 2006-2007.....	98
4	Distribuição do percentual de excreção urinária de lactulose de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.....	110
5	Distribuição do percentual de excreção urinária de manitol de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.....	111
6a	Concentração sérica máxima e limites esperados de rifampicina em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.....	135
6b	Concentração sérica máxima ajustada (grupo TBMR e sadios) e limites esperados de rifampicina em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.....	136
7	Concentração sérica máxima e limites esperados de isoniazida em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.....	137
8	Efeitos de citocinas na função de barreira das células epiteliais intestinais T84.....	156

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	24
<b>1.1 A Tuberculose</b> .....	24
1.1.1 Histórico.....	24
1.1.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	26
1.1.3 Atual pandemia da tuberculose.....	29
1.1.4 Tratamento da tuberculose.....	33
1.1.5 Imunologia na tuberculose.....	43
1.1.6 Impacto do HIV na tuberculose.....	44
1.1.7 Desenvolvimento de resistência. ....	46
1.1.8 Mecanismos de resistência.....	49
1.1.9 Epidemiologia da resistência.....	54
1.1.10 Tuberculose extensamente resistente.....	57
<b>1.2 Monitoramento terapêutico das drogas antituberculose</b> .....	58
1.2.1 Noções de farmacocinética.....	58
1.2.2 Noções de farmacodinâmica.....	60
1.2.3 Uso de monitoramento terapêutico na tuberculose.....	62
1.2.4 Uso do monitoramento terapêutico na tuberculose multirresistente..	68
<b>1.3 Função da barreira intestinal</b> .....	68
1.3.1 Função intestinal em diversas situações.....	69
1.3.2 Medida da absorção intestinal.....	70
<b>1.4 Justificativa</b> .....	74
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	77
<b>2.1 Objetivos primários</b> .....	77
<b>2.2 Objetivos secundários</b> .....	77

<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>78</b>
<b>3.1 Considerações éticas.....</b>	<b>78</b>
<b>3.2 Delineamento do estudo.....</b>	<b>78</b>
<b>3.3 Local de realização.....</b>	<b>79</b>
<b>3.4 População.....</b>	<b>79</b>
3.4.1 População-alvo.....	80
3.4.2 Definição dos grupos.....	80
<b>3.5 Recrutamento da amostra.....</b>	<b>80</b>
3.5.1 Critérios de inclusão.....	80
3.5.2 Critérios de exclusão.....	81
3.5.3 Critérios de retirada.....	81
<b>3.6 Protocolo clínico.....</b>	<b>81</b>
3.6.1 Triagem dos voluntários.....	81
3.6.2 Coleta de informações clínicas e sociais.....	82
3.6.3 Avaliação do grau de nutrição.....	86
<b>3.7 Procedimentos laboratoriais específicos.....</b>	<b>86</b>
3.7.1 Avaliação da absorção intestinal transcelular e paracelular.....	87
3.7.2 Verificação da bioequivalência das drogas utilizadas no estudo.....	89
3.7.3 Avaliação das concentrações séricas da rifampicina e isoniazida.....	91
<b>3.8 Microbiologia.....</b>	<b>93</b>
<b>3.9 Considerações estatísticas.....</b>	<b>94</b>
3.9.1 Cálculo do tamanho da amostra.....	94
3.9.2 Análise estatística.....	95
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>97</b>
<b>4.1 Descrição geral da amostra.....</b>	<b>97</b>
<b>4.2 Caracterização sociodemográfica da população estudada.....</b>	<b>99</b>
<b>4.3 Avaliação do comportamento de risco dos grupos estudados...</b>	<b>101</b>

<b>4.4</b>	<b>Avaliação nutricional.....</b>	<b>103</b>
<b>4.5</b>	<b>Avaliação hematológica.....</b>	<b>105</b>
<b>4.6</b>	<b>Análise de patologias associadas.....</b>	<b>106</b>
<b>4.7</b>	<b>Avaliação das lesões pulmonares e bacteriologia.....</b>	<b>107</b>
<b>4.8</b>	<b>Avaliação da qualidade dos tratamentos.....</b>	<b>107</b>
<b>4.9</b>	<b>Análise do número de tratamentos e tempo de doença.....</b>	<b>108</b>
<b>4.10</b>	<b>Perfil de resistência dos isolados de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>.....</b>	<b>109</b>
<b>4.11</b>	<b>Avaliação do transporte intestinal transcelular e paracelular.....</b>	<b>109</b>
4.11.1	Análise de variância do transporte intestinal transcelular e paracelular em função das características dos grupos estudados.....	111
4.11.2	Correlação entre o transporte intestinal transcelular e paracelular e as características dos grupos estudados.....	116
<b>4.12</b>	<b>Concentrações séricas de rifampicina e isoniazida.....</b>	<b>123</b>
4.12.1	Seleção da população em estudo.....	123
4.12.2	Caracterização sociodemográfica e do comportamento de risco.....	123
4.12.3	Avaliação clínico-laboratorial.....	127
4.12.4	Análise da absorção intestinal.....	131
4.12.5	Avaliação das doses utilizadas de rifampicina e isoniazida.....	132
4.12.6	Avaliação das concentrações séricas da rifampicina e isoniazida.....	133
<b>4.13</b>	<b>Análise de variância das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, em função das características dos grupos estudados.....</b>	<b>141</b>
<b>4.14</b>	<b>Correlação entre as doses utilizadas de rifampicina e isoniazida e suas concentrações séricas.....</b>	<b>148</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>149</b>
<b>5.1</b>	<b>Considerações gerais.....</b>	<b>149</b>
<b>5.2</b>	<b>Qualidade das drogas antituberculose.....</b>	<b>150</b>
<b>5.3</b>	<b>Limitações do estudo.....</b>	<b>150</b>
<b>5.4</b>	<b>Considerações sobre a absorção intestinal transcelular e paracelular.....</b>	<b>151</b>

<b>5.5</b>	<b>Concentrações séricas de rifampicina e isoniazida.....</b>	<b>157</b>
<b>5.6</b>	<b>Síntese da discussão.....</b>	<b>165</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>167</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>169</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>190</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>204</b>
	<b>ARTIGOS PUBLICADOS.....</b>	<b>210</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A tuberculose

### 1.1.1 Histórico

A tuberculose (TB) é uma doença infecto-contagiosa existente há milênios. Lesões ósseas de múmias egípcias e de índios norte-americanos, datando de cerca de 4.000 anos (datação pelo carbono-14), revelaram já se sofrer nessa época de Mal de Pott. Esse foi um diagnóstico apenas de probabilidade, pois na falta de comprovação etiológica, a actinomicose, a coccidioidomicose e a artrite reumatóide, entre outras, poderiam ser confundidas com TB (ROSEMBERG, 1999).

Em 1994, foi publicada descoberta, no Peru, de múmia de mulher que viveu há cerca de 1.100 anos (datação pelo carbono-14); tendo sofrido mumificação espontânea pelas condições especiais do terreno. No pulmão direito, encontraram-se calcificações e nódulo linfático hilar hipertrofiado. Nestes, os bacilos encontrados tinham o DNA intacto, sendo possível, com técnicas de Biologia Molecular, extraí-lo e identificar a inserção seqüencial IS6110 específica do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Foi o primeiro diagnóstico seguro, bacteriológico, de doente que viveu há mais de dez séculos, provando a existência de TB na América, na era pré-colombiana. Na época da descoberta, entretanto, era impossível saber se o agente era bacilo tuberculoso humano ou bovino (SALO *et al.*, 1994).

Após esta descoberta, não se pode afirmar tenha sido a tuberculose trazida para o Brasil pelos colonizadores portugueses, particularmente pelos padres jesuítas, mas, com certeza, eles deram grande contribuição para a epidemia. Os jesuítas eram enviados para o Brasil não só para catequizar os nativos, mas também para respirarem bons ares como forma de tratamento. A infecção causou inúmeras mortes entre os indígenas e provocou, por parte deles, ações efetivas de caráter profilático. Segundo relatos da época, eles afastavam do convívio social os índios

que começavam a tossir, pois sabiam que os portugueses tinham trazido uma doença que fazia tossir, emagrecer, escarrar sangue e morrer (CAMPOS, 1996).

Apenas no século XVII, Franciscus Silvyus, usou o termo *tubérculo* para descrever lesões nodosas observadas nos pulmões dos que morriam da doença (DUCATI *et al.*, 2006). O termo *tuberculose* foi sugerido pela primeira vez em 1839 por Johann Schonlein (SAKULA apud HAAS; HAAS, 1996).

Em 1865, o cirurgião militar Jean-Antoine Villemin demonstrou que a TB era uma doença contagiosa. Embora seu experimento pudesse ser reproduzido em coelhos, o achado foi ignorado por longo tempo (DUCATI *et al.*, 2006).

Em 24 de março de 1882, Robert Koch anunciou à Sociedade de Fisiologia de Berlim haver descoberto a causa da maior ameaça à saúde pública na Europa: a chamada Tuberculose. Logo aceita e confirmada por Austin Flint, nos Estados Unidos da América (EUA), e por Theodore Williams, no Reino Unido, essa descoberta levantou muitas expectativas quanto a medidas preventivas e curativas e foi seguida por muitas pesquisas (ZUMLA *et al.*, 1999). Em 1891, Koch anunciou haver desenvolvido a cura na forma da *Old Tuberculin* (Tuberculina bruta) ou *Alt Tuberkulin* (GUTIERREZ; OTT; PICON, 1993). Três meses após o “Deutsche Medizinische Wochen schikfit”, em edição extraordinária, publicou nova declaração de Koch, revelando que a referida substância só poderia ser usada para fins diagnósticos (DUCATI *et al.*, 2006)

Em 1895, Wilhelm Konrad Roentgen descobriu os Raios X e, pela primeira vez, lesões pulmonares foram visualizadas em pessoas vivas. Em 1901, Roentgen ganhou o Prêmio Nobel de Física e em 1905 Koch fez jus ao Prêmio Nobel de Medicina (CAMPOS, 1996). Só em 1907 a tuberculina foi utilizada para o diagnóstico da TB no homem. Em 1934, obteve-se uma tuberculina de composição conhecida e desprovida de proteínas - PPD (Purified Protein Derivative) (GUTIERREZ; OTT; PICON, 1993).

Nessa época, a incidência da doença já vinha diminuindo nos países desenvolvidos e também no Brasil (**ANEXO A**) (BETHLEM, 1975). Isso é atribuído a

melhorias nas condições de vida, a medidas específicas de saúde pública e à introdução dos sanatórios (ZUMLA *et al.*, 1999).

Só quase 40 anos após a descoberta do Bacilo de Koch (BK), o casal de cientistas franceses Albert Calmette e Camille Guérin criou a vacina BCG, com suporte em formas atenuadas do *Mycobacterium bovis* (CAMPOS, 1996).

Finalmente, em 1944, Selman A. Waksman e col., trabalhando nos EUA, descobriram a estreptomicina (SM), o primeiro antibiótico efetivo contra o BK. Por essa descoberta, ele ganhou o Prêmio Nobel de Medicina, em 1952. Em 1946, o ácido paraaminosalicílico (PAS) foi introduzido no arsenal terapêutico e, em 1952, a isoniazida (INH). Na década de 1950, foram instituídos os regimes terapêuticos com múltiplas drogas por Sir John Crofton e colaboradores, no Reino Unido, para curar pacientes e prevenir a emergência de resistência às drogas. Em 1966, a Rifampicina (RMP) foi descoberta e posta no comércio em 1967, vindo a ser a base dos modernos esquemas terapêuticos de curta duração (CAMPOS, 1996). Nas décadas de 1970 e 80, cessaram as pesquisas e só na década de 1990 voltaram os cientistas às investigações em busca de uma nova vacina e de drogas novas (BLOOM, 1997).

### 1.1.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Pertencente à ordem das *Actinomycetales*, a família *Mycobacteriaceae* antecede a evolução da vida animal e compreende diversas bactérias saprófitas do solo, as quais desempenham a função de decompor material vegetal morto, enriquecendo o solo, como parte do ciclo vital de plantas e árvores. Igualmente a outros gêneros do reino vegetal, na medida de sua evolução, mutações ao acaso produziram espécies capazes de parasitar animais (répteis, anfíbios, peixes e pássaros, p. ex.). Muito mais tarde, quando os mamíferos evoluíram, um mutante chamado *Mycobacterium bovis* desenvolveu a capacidade de parasitar um amplo espectro de animais de sangue quente: bovinos, roedores, marsupiais e cervos, p. ex.. Permaneceu endêmico em muitas espécies, distribuindo-se entre presas e predadores. Sem disseminação aérea em espaços fechados, não se tornou epidêmico. Os primeiros contatos da micobactéria com a raça humana

provavelmente foram esporádicos e causados pelo ato de comer carne crua ou inadequadamente cozida e beber leite (CAMPOS, 1999).

O gênero *Mycobacterium* engloba o *M. leprae* (agente etiológico do Mal de Hansen), o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* e *M. africanum*) e o grande conjunto das micobactérias não tuberculosas (MNT) (TIMERMAN, 2003). Até o momento, 127 espécies dentro do gênero *Mycobacterium* e 11 subespécies, já foram descritas (EUZÉBY, 2007). As MNTs, geralmente oportunistas, são classificadas conforme sua capacidade de causar doença no homem, como potencialmente patogênicas e não patogênicas (AMERICAN THORACIC SOCIETY - ATS, 2007).

O *Mycobacterium tuberculosis* é o principal agente etiológico da tuberculose em seres humanos; é uma bactéria em forma de bastão, gram-positiva fraca, não flagelada, não forma esporos, não produz toxinas e não tem cápsula. Suas dimensões variam de 0,3 a 0,6 µm em largura e de 1 a 4 µm em comprimento; tem um envelope celular complexo, crescimento consideravelmente lento e homogeneidade genética. É um patógeno intracelular macrofágico, que estabelece sua infecção preferencialmente nos pulmões, onde fica condicionado em um estado dormente enquanto o sistema imunológico prevalece. O tempo de replicação é por volta de 24 horas, tanto em meio sintético como em animais infectados (COLE *et al.*, 1998). O crescimento bacteriano em ambiente laboratorial leva à formação de colônias com superfície seca e enrugada, que requerem de três a quatro semanas para se tornarem visíveis (BLOOM; MURRAY, 1992). Em decorrência da patogenidade e da formação de aerossóis, existem normas de biossegurança que recomendam o uso de capela de fluxo laminar e equipamentos de nível 3 para o trabalho laboratorial com *M. tuberculosis*.

#### GENOMA DO *M. TUBERCULOSIS*

O seqüenciamento genômico completo da cepa de *M. tuberculosis* mais bem caracterizada, H37Rv, permitiu a identificação de características microbianas particulares. O patógeno tem o cromossomo circular com 4.411.529 pares de bases com um conteúdo de 65,6% de G+C (guanina + citosina). Desde seu isolamento em 1905, essa cepa tem grande aplicação, mundialmente, em pesquisas biomédicas em razão da

sua total virulência em modelos animais e também por ser sensível às drogas e passível de manipulação genética (COLE *et al.*, 1998). A determinação da seqüência do *M. tuberculosis* estabeleceu nova fase na batalha contra um dos mais bem-sucedidos predadores da espécie humana (YOUNG, 1998).

A epidemiologia molecular, definida como a integração entre os métodos moleculares de identificação de cepas de *M. tuberculosis* com a epidemiologia convencional, surgiu na década de 1980 e é usada para estabelecer elos de transmissão, assim como para identificar fatores de risco individuais e ambientais para a transmissão da TB (HOPEWELL; SMALL, 1996).

O marcador genético mais utilizado para essa pesquisa e específico do complexo *M. tuberculosis* (não diferencia as espécies do complexo) é a inserção seqüencial IS6110. Obtem-se o *fingerprint* do bacilo pela análise do polimorfismo no comprimento do fragmento de restrição-RFLP (restriction fragment length polymorphism), identificando-se a posição e o número de cópias da IS6110 (zero a 20 cópias) no genoma do bacilo (CAVE *et al.*, 1991).

Embora o RFLP baseado na IS6110 seja considerado o padrão-ouro para a genotipagem do *M. tuberculosis* (KREMER *et al.*, 1999), esse método tem algumas desvantagens. Novas metodologias foram desenvolvidas para superar essas desvantagens (SUN *et al.*, 2004). O *spoligotyping* (*spacer oligotyping*) baseia-se na detecção da presença ou ausência de 43 espaçadores já seqüenciados que se localizam no *locus* de seqüências repetitivas diretas (direct repeat-DR) do genoma do *M. tuberculosis*. O poder de discriminação dessa abordagem é preferido em relação ao RFLP da IS6110, quando o número de cópias da IS6110 é menor do que seis. O método diferencia facilmente entre *M. tuberculosis* e *M. bovis* (geralmente contém apenas uma cópia da inserção IS6110) (KAMERBEEK *et al.*, 1997). Mais recentemente, técnica de tipificação baseada no número variável de seqüências repetitivas (*variable-number tandem repeats – VNTRs*) de unidades repetitivas micobacterianas entremeadas (*Mycobacterial interspersed repetitive units – MIRU*) foi desenvolvida. 41 *locus* de MIRUs foram identificados. São regiões do tipo mini-satélites humanos. 12 destes *locus* apresentam polimorfismos no número de

cópias de MIRUs entre isolados de *M. tuberculosis* não relacionados (SUPPLY *et al.*, 2000, MAZARS *et al.*, 2001).

O poder discriminatório da análise pelo RFLP da IS6110 é maior, mas as metodologias do *spoligotyping* e das MIRU-VNTRs têm as vantagens há pouco descritas e o uso das três abordagens juntas revela ainda mais a diversidade das cepas e desvenda falsos agrupamentos ou *clusterings* (NGUYEN *et al.*, 2004).

### 1.1.3 Atual pandemia da tuberculose

#### EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO MUNDO

Na década de 1980, a incidência da TB no mundo desenvolvido era muito pequena e, conseqüentemente, o interesse clínico e científico foi desviado dessa doença para outros problemas de saúde. Em 1989, o “Center for Disease Control” (CDC), dos EUA, publicou estar prevista a redução dos casos de TB naquele país para < 1/ 1.000.000 no ano 2010 (ORDWAY *et al.*, 1995). Logo em seguida, porém, começou-se a perceber não ser mais iminente a erradicação da doença há tanto tempo esperada. Os países desenvolvidos começaram a descrever mais e mais casos em imigrantes e em comunidades de minorias étnicas e os subdesenvolvidos a mostrar menor declínio nas taxas de incidência, daí surgindo as primeiras alusões segundo as quais a pandemia do HIV/aids poderia ter efeito devastador na epidemiologia da TB. Em conformidade com o centenário da descoberta de Koch, em 24 de março de 1982, a Organização Mundial da Saúde (OMS) decretou este como o Dia Mundial de Luta Contra a Tuberculose (ZUMLA *et al.*, 1999).

Infelizmente, o alarme apenas soou alto o bastante no início de década de 1990, quando foram publicadas as epidemias de TB na cidade de Nova Iorque. Entre 1990 e 1996, dez epidemias nosocomiais foram investigadas pelos CDCs. Na Espanha, foram documentados 20 surtos epidêmicos de tuberculose multidroga resistente (TBMR) num período de dez meses (AUSINA, 1996). Todas essas epidemias eram fortemente associadas à aids. O clamor foi tão forte ao ponto de em 1993 a OMS declarar a TB uma “Emergência Global” (ZUMLA *et al.*, 1999).

Apesar dessa chamada geral, a magnitude da emergência global não era fácil de determinar. A notificação dos casos não é confiável, mesmo em países desenvolvidos. Em 1994, foram notificados 3,3 milhões de casos, mas estes provavelmente representaram um terço do total. Estimativas da prevalência da TB se baseiam no uso do teste tuberculínico para demonstrar a infecção pelo bacilo tuberculoso e no conhecido percentual de desenvolvimento de doença ativa entre reatores positivos. Assim, calcula-se, um terço da população humana, cerca de dois bilhões de pessoas, está infectada (ZUMLA *et al.*, 1999).

A maioria das pessoas infectadas não mostra sinais de doença. O bacilo pode persistir num estado incógnito e desenvolver doença anos ou décadas depois. Esta situação é chamada de reativação endógena. Durante meio século, foi célebre a polêmica sobre se a TB do adulto é fruto de um novo contágio (reinfecção exógena) ou de reativação de focos quiescentes. Com o advento da quimioterapia, constatou-se que indivíduos tuberculino-positivos desde a infância, portanto infectados antes da descoberta das drogas antituberculose, podiam desenvolver TB ativa com germes resistentes, comprovando terem sofrido contágios recentes provenientes de bacilos de doentes que se cronificaram por tratamento irregular gerador de resistência. Essa questão foi resolvida com o advento da Biologia Molecular, obtendo-se o *fingerprint* do bacilo pela análise do RFLP (ROSEMBERG, 1999). Desse modo, conhecendo-se o *fingerprint* dos bacilos de um dado doente e recaindo este após o tratamento, se o *fingerprint* for o mesmo, o caso configura uma reativação endógena. Se o segundo *fingerprint* for diferente do primeiro, é porque se trata de cepa diversa, a qual se instalou por reinfecção exógena (SONNENBERG *et al.*, 2000). A maior frequência de cada uma dessas modalidades está na dependência dos momentos epidemiológicos da TB. Em particular, a suposição há muito tempo sustentada de que apenas 10% dos casos de TB eram resultado de infecção recente e 90% de reativação endógena, em países desenvolvidos, não pode ser sustentada após estudos populacionais, em grandes centros urbanos mediante o *fingerprint* pelo RFLP (SMALL *et al.*, 1994; ALLAND *et al.*, 1994; FRIEDMAN *et al.*, 1995; SCHWOEBEL *et al.*, 1998; LASERSON *et al.*, 2000; FANDINHO *et al.*, 2000), e *fingerprint* pela pTBN<sub>12</sub> (YANG *et al.*, 1998). Eles encontraram percentuais de infecção recente variando de 19% a 79%.

Cinco por cento das pessoas infectadas imunocompetentes desenvolvem doença ativa dentro cinco anos e cinco por cento desenvolvem a doença subseqüentemente, durante o resto da vida (ZUMLA *et al.*, 1999).

Os números de pessoas do total de infectados que desenvolvem TB ativa cada ano foram estimados em 7,5 milhões em 1990, 8,8 milhões em 1995 e 10,2 milhões em 2000, segundo a OMS (ZUMLA *et al.*, 1999).

Como a TB é uma doença crônica e como mundialmente só uma minoria dos pacientes tem acesso a serviços de saúde, a prevalência da TB ativa é muito maior em relação à incidência de novos casos e pode aproximar-se de 16 milhões, com cerca da metade deles tendo formas infecciosas de TB pulmonar. O número de pessoas infectadas por um desses pacientes infectantes é influenciado por muitos fatores e cerca de 100 milhões são adicionados anualmente ao total de infectados.

A carga da TB recai principalmente sobre as nações em desenvolvimento, onde se encontram 95% dos casos e 98% dos óbitos. A TB causa três milhões de mortes anualmente, na maioria em adultos jovens, mas também em pelo menos 100.000 crianças com idade < 5 anos (ZUMLA *et al.*, 1999). Em 2006, a OMS estimou que a incidência mundial da TB em 2004 foi de 140 casos/ 100.000 hab e a mortalidade 27 óbitos/100.000 hab (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2006).

#### EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO BRASIL

A TB mantém sua endemicidade no Brasil, inclusive no período em que era considerada sob controle nos países industrializados (RUFFINO-NETTO, 2002). O coeficiente de incidência observado em 2003 foi de 41 por 100.000 habitantes, com tendência de queda nos últimos anos. Em 2006, a Organização Mundial de Saúde estimou que a incidência de TB no Brasil em 2005 havia sido de 60 casos / 100.000 hab e a mortalidade em 8,1 óbitos/100.000 hab (WHO, 2006a).

No Brasil, entre 1980 e 1991, houve redução de 35% na mortalidade por TB em todas as faixas etárias, exceto nos maiores de 80 anos, sendo que entre 1991 e 1996 essa redução foi pouco significativa nas pessoas de 30 anos ou mais



(CHAIMOWICZ, 2001). Nos anos mais recentes, a letalidade vem se mantendo, evidenciando retardo no diagnóstico e necessidade de aprimoramento nas ações de prevenção secundária nos serviços de saúde.

#### EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO CEARÁ

A situação epidemiológica da TB no Ceará em sua série histórica de 1995 a 2005 mostra uma tendência de declínio discreto nas taxas de incidência. Em 2005, a taxa de incidência foi de 50,1 casos /100.000 hab (CEARÁ, 2007). A taxa de mortalidade em 2004 foi 1,7 óbito/ 100.000 hab (BRASIL, 2005a).

A Secretaria de Estado da Saúde do Ceará, de acordo com parâmetros de indicadores epidemiológicos definidos pelo Ministério da Saúde, selecionou seis municípios prioritários para o controle da TB no Ceará. O número de casos e a incidência nos seis municípios foram: Fortaleza - capital do Ceará (1799 casos e 79,7 casos/100.000 hab), Caucaia (203, 73,3), Juazeiro do Norte (158, 26,4), Maracanaú (150, 80,4), Sobral (88, 39,3), Crato (28 e 25,7) (CEARÁ, 2005).

**TABELA 1** – Tuberculose: sumário dos coeficientes de incidência e mortalidade por cem mil habitantes no mundo, Brasil, Nordeste e Ceará, fonte e ano da publicação e anos de referência.

<b>Área Geográfica</b>	<b>Fonte (ano da publicação)</b>	<b>Incidência<sup>2</sup></b>	<b>Mortalidade<sup>3</sup></b>	<b>Ano de referência</b>
Mundo	WHO <sup>1</sup> (2006a)	140,0	27,0	2004
Brasil	WHO <sup>1</sup> (2006a)	60,0	8,1	2005
Nordeste	Brasil (2005)	13,4	0,5	2004
Ceará	Brasil (2005)	49,1	1,7	2004

<sup>1</sup>WHO – World Health Organization

<sup>2</sup>Casos novos/ 100.000hab

<sup>3</sup>Óbitos/ 100.000hab

#### 1.1.4 Tratamento da tuberculose

Antes da descoberta da quimioterapia antituberculose, as medidas terapêuticas utilizadas para tratar tuberculose compunham-se de sangrias, viagens marítimas, repouso absoluto no leito, exercícios, equitação, cálcio, injeções de sais de ouro e outros metais, pneumotórax, pneumoperitônio, toracoplastia, em geral, em regime de internação em sanatórios (JAWAHAR, 2004).

A SM, o primeiro quimioterápico para o tratamento da TB, foi descoberto em 1944; o PAS em 1949, a INH em 1952 e a RMP e pirazinamida (PZA) no final da década de 1960. Com o advento dos quimioterápicos efetivos contra o bacilo da TB, dois obstáculos se impuseram como os mais importantes para impedir o sucesso do tratamento: a falência durante o tratamento, por seleção de cepas resistentes, e a recidiva, tempos depois, por crescimento de microrganismos viáveis, que teriam permanecido numa forma latente em indivíduos tratados ou infectados. Para minimizar esses problemas, o tratamento passou a ser administrado com três drogas, por 18 a 24 meses. Com o advento da RMP e da PZA, a esterilização da lesão passou a ser possível e a duração do tratamento menor, isto é, durante seis meses (JAWAHAR, 2004).

Por necessitar de oxigênio para seu metabolismo, os bacilos se comportam de maneira diferente de acordo com a sua localização e o tipo de lesão no organismo (**TABELA 2**) (BRASIL, 2007).

**TABELA 2** – Síntese das características do *M. tuberculosis* e ação medicamentosa<sup>1</sup>

<b>Localização</b>	<b>Característica bacilar</b>	<b>Justificativa</b>	<b>Ação medicamentosa</b>
Intracelular (macrófagos)	Crescimento lento	pH ácido Ação enzimática celular Baixa oferta de oxigênio	Rifampicina Pirazinamida Isoniazida Etambutol
Lesão caseosa (fechada)	Crescimento intermitente	pH neutro ou pH ácido (necrose tecidual, acúmulo de CO <sub>2</sub> e ácido láctico)	Rifampicina Isoniazida Pirazinamida
Parede da cavidade Pulmonar	Crescimento geométrico	pH neutro Boa oferta de oxigênio Presença de nutrientes	Rifampicina Isoniazida Estreptomicina Etambutol

<sup>1</sup>BRASIL, **Guia de Vigilância Epidemiológica**, 59 p., 2007.

As pessoas com infecção latente pelo bacilo da TB representam um reservatório do bacilo. Nos países com baixa incidência da doença, há grande preocupação com esses portadores, visto que seu tratamento é feito com isoniazida durante nove meses, o que dificulta muito a adesão ao tratamento. Em 1998, o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recomendou o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para esse grupo populacional (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 1998). Os resultados têm sido promissores, mas, ainda, no modelo animal (NUERMBERGER *et al*, 2005).

Nos países com alta incidência, a principal estratégia para o controle da TB é o tratamento dos pacientes capazes de transmitir a infecção para outras pessoas. Nesse grupo de pacientes potencialmente transmissores de *Mycobacterium tuberculosis*, há preocupação especial com aqueles que eliminam bacilos no escarro, isto é, portadores da TB na forma pulmonar bacilífera (WHO, 2004).

Para que se controle a TB por meio dessa estratégia, há necessidade de que todos os portadores da doença tenham acesso ao tratamento, que tomem a medicação de forma regular até o final do tratamento e que o diagnóstico possa ser feito de forma precoce.

A pobreza está historicamente associada à TB, conseqüentemente, de uma perspectiva econômica, a iniciativa privada jamais considerou a pesquisa em tuberculose como uma ação custo-efetiva, daí existirem poucas investigações e mínimas perspectivas em curto prazo de drogas mais efetivas e tratamento por um período mais curto (CAMINERO, 2005).

#### TRATAMENTO DA TUBERCULOSE PRECONIZADO PELA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE

A OMS considera que qualquer profissional que trate um paciente com TB está assumindo grande responsabilidade sobre a saúde pública. Por esse motivo, o profissional deve ser capaz não apenas de prescrever o medicamento, mas também de acompanhar o tratamento e estimular a adesão do paciente até o final da terapia.

Todos os pacientes, inclusive aqueles portadores de infecção por HIV, devem receber um esquema terapêutico de primeira linha. O esquema preconizado pela OMS é composto por RMP, INH, PZA e etambutol (EMB) por dois meses e RMP+INH por mais quatro meses, perfazendo um total de seis meses. De preferência, as drogas devem ser administradas em doses fixas combinadas (DFCs), com formulações contendo as quatro drogas, três delas ou duas delas, para redução de risco de uso incorreto de medicamentos isolados que favorece a seleção de mutantes resistentes. Pacientes que já abandonaram o tratamento, dependentes químicos, sem teto, e pacientes com TB pulmonar e baciloscopia positiva deveriam ser tratados sob observação direta (*Directly Observed Treatment Short-Course Strategy* - DOTS), para reduzir os abandonos (TUBERCULOSIS COALITION FOR TECHNICAL ASSISTANCE, 2006).

#### DROGAS ANTITUBERCULOSE NAS DOSES FIXAS COMBINADAS

A formulação de medicações antituberculose em doses fixas combinadas (DFC - duas, três ou quatro drogas em uma mesma cápsula ou comprimido) oferece

mais vantagens em relação ao uso de várias medicações tomadas separadamente: prescrição simplificada, dispensação, administração e a facilidade de ingestão de poucos comprimidos (FOURIE, 1999).

Vários autores, contudo, chamam a atenção para o fato de que a formulação combinada só é realmente efetiva se houver garantia de dosagem correta, absorção intestinal e concentração sérica conveniente de cada um dos componentes (BLOMBERG *et al.*, 2001).

A preocupação com a biodisponibilidade da RMP em DFCs foi primeiro levantada por Acocella na década de 1980, em seguida, por Ellard, em 1986 e, em 1990, por Fox, na Índia, com a publicação de vários estudos mostrando que, se a manufatura das preparações combinadas não fosse meticulosamente controlada, a absorção dos componentes, particularmente a RMP, considerada a droga-chave da quimioterapia encurtada, poderia ser incompleta, o que comprometeria o resultado do tratamento (ACOCELLA *et al.*, 1988a; ACOCELLA *et al.*, 1988b; ACOCELLA, 1989; ELLARD; FOURIE, 1999; PADGAONKAR *et al.*, 1999; MCILLERON *et al.*, 1999).

Estudos de bioequivalência de drogas antituberculose utilizadas em combinações fixas, disponíveis no mercado global, levam grande preocupação a organismos como a OMS/IUATLD (Organização Mundial de Saúde / International Union Against Tuberculosis and Lung Disease) pelos resultados obtidos, que demonstram baixa bioequivalência entre medicamentos antituberculose produzidos em diferentes laboratórios (PADGAONKAR *et al.*, 1999).

Pillai *et al.* publicaram em 1999 que de dez formulações testadas, somente três foram consideradas equivalentes, as demais, com 90% IC foram incluídas em valores abaixo de 80%. A margem terapêutica da atividade da RMP é relativamente baixa (MITCHINSON, 1992), portanto qualquer redução na biodisponibilidade tem sérias implicações tanto para o paciente individual quanto para o controle da doença nos diferentes países, quer em razão do potencial de falência de tratamento, quer em virtude da seleção de mutantes resistentes.

Com base nesses estudos, a OMS e a IUATLD passaram a exigir estudos prévios comprovados de biodisponibilidade da RMP na recomendação do uso de DFCs nos programas de controle da tuberculose dos diversos países (IUATLD/WHO, 1999).

No Brasil, até 2001, os medicamentos antituberculose eram categorizados como similares, para os quais não era obrigatória a realização de estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência (BRASIL/MS/ANVISA, 2002).

Há sete anos, o Projeto MSH (*Management Sciences for Health*), organização mundial de apoio a programas de saúde, sem fins lucrativos, implementou um programa de controle de qualidade dos medicamentos anti-TB no Brasil. A direção desse projeto no Brasil teve sede no Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF).

Publicação recente mostra que a preocupação com a biodisponibilidade da RMP em DFCs está longe de ser contornada (TOIT; PILLAY; DANCKWERTS, 2006). A decomposição da RMP ocorre de 8,5-50% no meio ácido do estômago na variação de tempo correspondente ao período de permanência gástrica para a maioria das formulações em humanos (15-105±45 minutos) (SHISHOO *et al.*, 2001). O esvaziamento gástrico de algumas apresentações de unidades isoladas, no entanto, pode durar seis horas (DIGENES, 1994). Os fatores propostos para essa variação na biodisponibilidade da RMP de formulações diferentes incluem: o tamanho da partícula e a forma cristalina da droga, o processo de fabricação e o excipiente empregado (WHO, 2002). O efeito desses fatores não foi convincentemente explicado em estudos anteriores. Já se sabe que a RMP passa por hidrólise em meio ácido e se transforma na substância insolúvel 3-formil rifamicina SV (3 FRSV). A INH acelera a degradação da RMP nesse derivado pobremente absorvido (3 FRSV) no ambiente ácido do estômago por meio da formação reversível da isonicotinil hidrazona, através da 3 FRSV com a INH (SHISHOO *et al.*, 2001). Esse mesmo autor sugeriu que a RMP na presença da INH, em FDC, pode ser objeto de maior decomposição nas condições ácidas do estômago, em comparação com a RMP administrada (oralmente) isolada. Assim, menos RMP será disponível para absorção em DFCs em comparação à RMP

administrada em formulação separada, havendo um reflexo na baixa biodisponibilidade da RMP das DFCs. Sugeriu-se ainda a necessidade urgente de se modificar ou segregar a formulação em DFC, de maneira que a RMP e a INH não sejam liberadas simultaneamente no estômago. Alternativamente as duas drogas precisam ser administradas separadamente após um intervalo médio de esvaziamento gástrico, o que é imprevisível em consequência da grande variabilidade intra e interindividual (SHISHOO *et al.*, 2001).

#### RECOMENDAÇÕES DA OMS PARA A SELEÇÃO DE DROGAS A FIM DE TRATAR A TBMR

Os regimes de tratamento deveriam consistir de pelo menos quatro drogas com certa ou quase certa efetividade, dosadas pelo peso corporal e administradas por pelo menos 18 meses após a conversão da baciloscopia.

As drogas antituberculose podem ser alocadas em cinco grupos, cuja ordem pode ser baseada na potência, evidência de eficácia e experiência de uso da classe de droga, a seguir (WHO, 2006b):

**Grupo 1** – agentes antituberculose orais de primeira linha- INH, RMP, EMB e PZA. Esse é o grupo de drogas mais potentes e mais bem toleradas e deve ser usado em pacientes, apenas, se houver evidência laboratorial ou clínica que sugira sua eficácia. Pacientes que têm cepas resistentes a baixos níveis de INH, mas são susceptíveis a altas concentrações, podem se beneficiar de altas doses da droga. Já que, no entanto, o benefício pode ser pequeno, INH não deve ser incluída como uma das quatro principais drogas. As novas rifamicinas deveriam ser consideradas inefetivas se o Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA) mostrar resistência à RMP. A PZA pode ser usada durante todo o tratamento se é julgada ser efetiva. Muitos pacientes com TBMR têm os pulmões cronicamente inflamados, o que teoricamente produz um ambiente ácido no qual a PZA é ativa;

**Grupo 2** – agentes antituberculose injetáveis- SM, kanamicina, amicacina (AM), capreomicina e viomicina. Esse grupo de agentes deve ser usado em todos os pacientes em que a susceptibilidade é documentada ou suspeitada, de acordo com a ordem hierárquica baseada na eficácia, efeitos adversos e custos. Se a cepa é

susceptível à SM, esse é o agente de escolha. Kanamicina ou AM são a segunda escolha e têm resistência cruzada próxima a 100%. Em seguida vem a capreomicina e por último a viomicina, que tem alto nível de resistência cruzada com kanamicina;

**Grupo 3** – fluoroquinolonas. Atualmente as mais potentes fluoroquinolonas disponíveis, em ordem decrescente, com base na atividade *in vitro* ou em estudos animais, são moxifloxacina = gatifloxacina > levofloxacina > ofloxacina (OFX) = ciprofloxacina. A segurança a longo termo das fluoroquinolonas de nova geração, no entanto, ainda não foi bem avaliada;

**Grupo 4** – drogas antituberculose de segunda linha bacteriostáticas orais - etionamida (ETH), protionamida, cicloserina, terizidona (TRZ), ácido para-amino salicílico (PAS), e tiacetazona. Essas drogas são adicionadas com base na susceptibilidade, história das drogas, eficácia, efeitos adversos e custo. Se for necessário apenas um agente, a ETH / protionamida é adicionada. Se o custo não interfere, então o PAS pode ser adicionado porque é mais bem tolerado. Se forem necessários dois agentes, a cicloserina é comumente associada à ETH / protionamida ou ao PAS. A TRZ contém duas moléculas de cicloserina e pode ser usada em vez da cicloserina. A tiacetazona é pouco utilizada porque pode causar síndrome de Stevens-Johnson e morte, tem resistência cruzada com as tionamidas e é considerada uma droga fraca; e

**Grupo 5** – agentes antituberculose de eficácia incerta- clofazimina (CFZ), amoxicilina-clavulonato, claritromicina e linezolid. A OMS não recomenda o uso de rotina em pacientes com TBMR.

#### TRATAMENTO PARA TUBERCULOSE UTILIZADO NO BRASIL

O Ministério da Saúde (MS) do Brasil segue os preceitos básicos definidos pela OMS para o tratamento da TB. Para isso, fornece gratuitamente todas as drogas e preconiza a supervisão das tomadas das doses (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA -SBPT, 2004). O MS já anunciou mudanças no tratamento para TB para 2009, mas, até o momento, os esquemas utilizados são os seguintes:



O Esquema I (E-I) composto por RMP, INH e PZA durante dois meses e RMP+INH por mais quatro meses, completando um total de seis meses. Portanto, o E-I preconizado pelo MS do Brasil se diferencia do preconizado pela OMS, por ser composto por três drogas, em vez de quatro. Esse esquema terapêutico está indicado para todos os casos sem tratamento anterior, com terapia anterior por um tempo inferior a 30 dias ou há mais de cinco anos (SBPT, 2004).

O E-I reforçado (E-IR) diferencia-se do E-I apenas pela adição do EMB ao longo dos seis meses de tratamento. Está indicado para retratamento, isto é, para os casos de recidiva após cura ou retorno após abandono do E-I (SBPT, 2004).

O esquema II difere do E-I apenas na duração da segunda fase do tratamento, que, em vez de quatro meses, dura sete, completando um total de nove meses. Está indicado primordialmente para o tratamento de tuberculose meningoencefálica (SBPT, 2004).

O esquema III (E-III) utiliza SM, PZA, EMB e ETH por três meses e EMB+ETH por nove meses, completando um ano de tratamento. O esquema III está indicado para os casos de falência do esquema I ou IR. Falência é definida como persistência da positividade do escarro no quarto ou quinto mês de tratamento ou, após dois meses de escarro negativo, uma nova positividade (SBPT, 2004).

#### TRATAMENTO PARA TBMR UTILIZADO NO BRASIL

A definição internacional para TBMR é dada para o caso com bacilo resistente a pelo menos RMP+INH (PABLOS-MENDEZ *et al.*, 1998). A tendência atual é considerar multidroga-resistente, o bacilo resistente a duas drogas ou mais, seja qual for a droga. No Brasil, define-se TBMR como a resistência *in vitro* a pelo menos rifampicina+isoniazida e mais um dos medicamentos dos esquemas I, IR e III ou resistência a rifampicina+isoniazida e falência operacional ao E III (SBPT, 2004).

Desde 1995, o Centro de Referência Professor Hélio Fraga / MS (CRPHF/MS) desenvolvia atividades de controle e vigilância da TBMR e, no ano 2000, iniciou-se a notificação sistemática dos casos de TBMR detectados por cultura e teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA), cujos dados são armazenados no

CRPHF/MS e foi adotado um tratamento alternativo para TBMR, já validado: AM – 500 mg a 1 g (peso>60 kg) – cinco vezes por semana durante oito semanas e, a seguir, duas vezes por semana até o 12º mês (A SM só é usada se não tiver sido usada anteriormente e a cepa for sensível. Caso já tenha sido usada, ela será excluída mesmo com cepa sensível); OFX – 400 a 800 mg (peso>40 kg) – diárias por 18 meses; TRZ – 500 a 750 mg (peso>50 kg) – diárias por 18 meses; EMB – 800 a 1200 mg (peso>45 kg) – diárias por 18 meses; CFZ – 100 mg – diárias por 18 meses (SBPT, 2004). Esse último medicamento deixou de ser usado desde dezembro de 2005, por falta de condições do MS para adquiri-lo e foi substituído pela PZA (nos casos em que houvesse sensibilidade ou na ausência do TSA, tivesse sido usado apenas uma vez) - 1500 mg - diárias nos seis meses iniciais. Esses medicamentos são fornecidos pelo MS aos centros de referência estaduais para tratamento da TBMR, mediante ficha de notificação de cada caso e relatórios trimestrais (BRASIL, 2007).

#### NOVAS DROGAS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Nenhuma das drogas atualmente em uso é capaz de reduzir o tempo de administração do tratamento, o que dificulta a adesão do paciente. Por esse motivo, estão sendo estudadas várias drogas dirigidas para alvos específicos, uma vez que o DNA de *M. tuberculosis* já é completamente conhecido. Também estão sendo avaliadas novas formas de liberação dos fármacos já utilizados (TOIT; PILLAY; DANCKWERTS, 2006).

Entre as novas formulações dos medicamentos já utilizados, cita-se a utilização de micropartículas de INH de consistências diferentes (porosas, não porosas e duras) envoltas por membrana de polímero degradável composto por DL-lactídeo-co-glicolídeo (PLG) administrada por via subcutânea. INH e RMP podem ser administradas por aerosol, em forma de micropartículas envoltas em polímeros de PLG ou PLGA (ácido polilático-co-glicólico) ou PLA. RMP, INH e PZA também podem ser aerosolisadas e administradas sob a forma de nanopartículas, utilizando alginato ou nanocristais em água. INH e PZA também podem ser preparadas com PLGA e administrada sob a forma de depósito (TOIT; PILLAY; DANCKWERTS, 2006).

Em uma mini-revisão, Ballell *et al.* (2005) citam 48 novos compostos que estão sendo estudados. Vinte e cinco deles têm mecanismo de ação conhecido ou possivelmente conhecido, enquanto os outros têm mecanismo de ação desconhecido. Estão sendo seguidos diversos parâmetros para a seleção dessas novas famílias de drogas, entre eles: concentração inibitória mínima, alvo terapêutico conhecido, parâmetros físico-químicos de quantificação das drogas, baixa toxicidade, número de etapas necessárias para a síntese. Uma das drogas mais promissoras é PA-824, um composto da família nitroimidazopiran, cujo alvo é uma enzima envolvida na biossíntese de micolato. Uma vantagem dessa droga, que está sendo avaliada por um consórcio público-privado, é não inibir as isoenzimas do citocromo P 450 e poder ser utilizada junto com as drogas anti-retrovirais. Essa droga entrou em ensaio clínico fase I em junho de 2005 (ONYEBUJOH *et al.*, 2005).

Outra droga promissora é uma diarilquinolona R207910, por ser muito potente contra a maioria das cepas de *M. tuberculosis* (MIC 0,03 a 0,12), por exercer sua ação sobre ATP sintetase da bomba de próton e por não ter resistência cruzada com outras drogas, entretanto, pode ter pouca solubilidade. Os estudos de fase I dessa droga já foram completados (ONYEBUJOH, 2005).

Do grupo das quinolizinas e piridonas, dois compostos estão sendo testados: KRQ-10018, sintetizado na Coréia, e LL3858, sintetizada na Índia. Esta última parece ser menos tóxica do que a isoniazida e pode reduzir a duração do tratamento (ONYEBUJOH *et al.*, 2005).

SQ109 é um análogo do EMB que está em teste pré-clínico (ONYEBUJOH *et al.*, 2005).

Copp (2003) catalogou 352 compostos com ação antimicobacteriana isolados de fontes terrestres ou marinhas pertencentes a diversas classes, como os alcanos, alcenos, alcinos e aromáticos simples, quinonas fenólicas e acetogênicas, peptídeos, alcalóides, terpenos e esteróides. Em razão da toxicidade, solubilidade e outras limitações farmacocinéticas, esses produtos naturais não podem ser utilizados para o tratamento, mas seus “esqueletos” podem servir como ponto de partida para o desenvolvimento de novas drogas.

Embora haja pesquisa nessa área, os estudos ainda se encontram em fases iniciais, não permitindo o uso dessas drogas em curto prazo (BALLELL *et al.*, 2005). Além disso, há relutância da indústria farmacêutica em investir no desenvolvimento de drogas para tratar tuberculose porque o retorno financeiro dessas drogas não é suficiente para cobrir os investimentos (ONYEBUJOH *et al.*, 2005).

#### 1.1.5 Imunologia na tuberculose

Seguindo-se a uma infecção micobacteriana intravenosa em camundongo, o *Mycobacterium tuberculosis* apresenta curto período de multiplicação *in vivo*, quando começa a ativação macrofágica por citocinas pro-inflamatórias, derivadas de macrófago, como interleucina 6 (IL-6), interleucina 12 (IL-12) e fator de necrose tumoral (TNF-*tumor necrosis factor*), ao lado do envolvimento do interferon gama (INF- $\gamma$ ), inicialmente produzidos por células *natural killer* (NK), para conter ou inibir o crescimento bacteriano. Aproximadamente duas semanas após a infecção inicial existe considerável redução no crescimento bacteriano em decorrência da diferenciação de linfócitos específicos, capazes de suprir a falta de IFN- $\gamma$  necessário para aumentar a resposta inata inicial, ativando macrófagos que induzem a óxido nítrico sintase 2 (iNOS) a produzir óxido nítrico, um das moléculas mais efetoras ou mediadoras de bacteriostase em camundongos (EHLERS, 1999).

Em seguida à infecção, existe significativa redução na carga bacteriana no fígado e também em menor intensidade no baço. Os bacilos remanescentes entram num estado de não-replicação persistente, embora estes sejam ainda completamente viáveis (EHLERS, 1999). Conquanto a pressão imposta pelo bacilo nessa fase da infecção em camundongo não mimetize o estado latente no ser humano, ela representa um equilíbrio entre a persistência do patógeno e a resposta imune do hospedeiro (GLICKMAN, JACOBS, 2001). Essa forma bacilar dormente, mas, ainda viável pode voltar a se multiplicar e desenvolver doença ativa em certas situações de imunossupressão, com envelhecimento, corticoterapia, redução no número de células CD4 ou tratamento com inibidores da iNOS ou substâncias anti-TNF. Infelizmente, a eliminação total dos bacilos é improvável somente pelo

sistema imune e consideravelmente difícil de ser alcançada pela quimioterapia (EHLERS, 1999).

Embora a maioria dos bacilos inalados seja, em geral, rapidamente destruída pelo sistema imune, alguns eventualmente estabelecerão infecção, primariamente no macrófago, habitando dentro de um vacúolo ligado à membrana, o fagossomo (GLICKMAN, JACOBS, 2001). Esses podem, às vezes, permanecer na forma dormente dentro de macrófagos pulmonares alojados em estruturas calcificadas, resultante de uma tentativa de isolar a área infectada. A formação do granuloma algumas vezes ocorre onde o platô de replicação é alcançado, causando desestabilização e destruição dos tecidos adjacentes e possivelmente necrose dos tecidos adjacentes, seguida de formação de cavidade (JAGIRDAR, ZAGZAG, 1996). Granulomas são resultantes da reação do tipo hipersensibilidade retardada, mediada por CD4 dentro do parênquima. Da mesma maneira, o mecanismo responsável pela diminuição do crescimento bacteriano (defesa do hospedeiro) é também intrinsecamente associado com o dano tecidual mediante a formação de granuloma e necrose (EHLERS, 1999). Muitos sintomas da TB, incluindo a destruição tecidual que eventualmente liquefaz porções infectadas dos pulmões, são mediados pela resposta imune do hospedeiro contra o bacilo e não pela própria virulência bacilar (GLICKMAN, JACOBS, 2001).

Já se publicaram casos em pessoas sem imunopatias aparentes, mas com defeitos genéticos ao nível do *eixo interferon gamma – interleucina 12*, levando a repercussões imunológicas com o desenvolvimento de tuberculose e micobacterioses (CASANOVA *et al.*, 1995; SAFDAR; ARMSTRONG; MURRAY, 2003; MORAES-VASCONCELOS *et al.*, 2005).

#### 1.1.6 Impacto do HIV na tuberculose

O surgimento e o rápido desenvolvimento da pandemia do HIV/SIDA causou impacto devastante na magnitude global da TB e é de longe o mais importante dos fatores predisponentes para TB ativa nos infectados pelo bacilo de Koch (BK).

Como expresso anteriormente, uma pessoa infectada pelo bacilo tuberculoso tem cerca de 10% de chances de desenvolver TB ativa durante toda a vida. Se essa pessoa subsequente se infecta com o HIV, o risco de desenvolver a doença aumenta em 8-10% a cada ano, ou cerca de 50% durante o resto da vida, a qual, por conta da infecção pelo HIV, pode ser consideravelmente encurtada. Assim, um portador da coinfeção TB/HIV tem quase a mesma chance de desenvolver TB ativa em um ano que uma pessoa infectada apenas pelo BK tem pelo resto da vida (ZUMLA *et al.*, 1999).

Em 1998, estimou-se que 33,4 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV. Como um terço desses, onze milhões, seriam infectados pelo *M. tuberculosis* e 8-10% já teriam desenvolvido TB ativa durante o ano, o HIV poderia ser responsável por até um milhão de casos de TB em 1998 (ZUMLA *et al.*, 1999). Em 2003, cerca de 674.000 pessoas portadores do HIV desenvolveram TB, que representa a principal causa de morte nesses indivíduos (AZIZ *et al.*, 2006).

Uma das mais graves situações provocada pela dupla infecção ocorre na África subsaariana, onde, em 1990, houve uma taxa adicional de 250.000 casos de TB (ROSEMBERG, 1999). As notificações de TB nos países do sudeste e leste africano aumentaram em 1996 mais de 50%, comparado com 1990 (BLEED; DYE; RAVIGLIONE, 2000). Para essa mesma região, estima-se ter havido um adicional de 600.000 casos em 2.000 (ZUMLA *et al.*, 1999).

Os países industrializados, apesar da sua baixa prevalência de infecção por TB, não estão isentos do impacto do HIV na TB. Neles a TB adicional se concentra nos grandes centros urbanos e nos grupos de alto risco. Na Holanda, que já havia atingido o limiar de extinção da TB nos homens de 24 a 49 anos em 1984, com uma incidência de 16,1 / 100.000, houve aumento desse índice para 34,4 em 1990. Do mesmo modo nos EUA, depois de décadas de declínio, em 1986, a incidência começou a subir, resultando num excesso de 52.000 casos até 1992 (ALLAND *et al.*, 1994).

Apesar do HIV e de todo o seu poder para causar doença, começa a haver uma reversão da situação. Nos EUA houve um declínio médio de 26% no

número de casos de TB, de 1992 para 1997, com especial menção para os Estados do Wyoming, Kentucky e Nova Iorque com percentuais de declínio de 75%, 50% e 50%, respectivamente (TUBERCULOSIS, 1998).

Mais de 54% dos infectados portadores do HIV desenvolvem TB ativa na África, de 24 a 28% na América Latina e 4% nos EUA (ROSEMBERG, 1999).

No Brasil, houve aumento da notificação anual de 85.000 na década de 1980 para 90.000 na década de 1990, às custas da notificação no Rio de Janeiro e São Paulo, os quais representam 39% do total. Esse aumento dos casos foi atribuído à piora na situação econômica, deterioração dos serviços de saúde e aumento dos casos de aids (ROSEMBERG, 1999). No Rio de Janeiro, um estudo mostrou prevalência do HIV na TB de 1,5% em 1988 e, em 1994, outro estudo do mesmo autor mostrou uma associação de 10,8% (DALCOLMO; HIJJAR, 1995).

No Ceará, foi reduzida a notificação durante a década de 1990, de 4.636 casos, em 1990, para 4.013, em 1999, depois de se haver mantido em torno de 4.300 durante os anos 1990. De 2000 a 2006, manteve-se em torno de 3.700 anuais (**ANEXO B**). Estudo de prevalência entre pacientes tuberculosos hospitalizados no Hospital de Maracanaú (referência para internações em TB, no Estado), de 1994 a 1996, encontrou uma prevalência do HIV na TB de 2,03% (BARROSO *et al.*, 1996). Estudo em pacientes tuberculosos ambulatoriais das unidades de saúde de Fortaleza (CE), de 1993-1994, mostrou associação de 0,44% (BROUTET *et al.*, 1996). A epidemiologia da TB no Ceará parece não ter sofrido a ação do HIV.

#### 1.1.7 Desenvolvimento de resistência

A resistência do BK às drogas antituberculose é tão antiga quanto a quimioterapia antituberculose; tem aproximadamente 60 anos (CANETTI, 1965; HORSBURGH, 2000). Em 1947, Pyle publicou o primeiro estudo sobre bacilos resistentes à SM (CANETTI, 1965), tendo sido seguido por vários outros. Crofton e Mitchinson mostraram que 12 de 13 casos de TB pulmonar severa bilateral desenvolveram resistência à SM, usando-se 2g/dia por quatro meses ou mais (1948). No Brasil, o primeiro estudo foi veiculado por Rosenberg *et al.*, em 1953.

Nessa pesquisa, eles encontraram resistência primária em um (12,5%) de oito bacilos isolados de pacientes sem tratamento anterior e em dois (20%) de dez bacilos isolados de pacientes durante o tratamento com 200 mg/d de INH, ao decorrerem 42 dias de tratamento para um paciente e 72 dias para o outro.

A monoterapia ou qualquer irregularidade no tratamento permite a seleção de bacilos resistentes, ou seja, determina a “resistência adquirida”. Quando um doente portador de germes resistentes infecta um indivíduo sadio, e este adoece, terá suas lesões colonizadas por bacilos resistentes a drogas que ele nunca tomou; denomina-se isso de “resistência primária”.

Uma característica inata do BK é a “resistência natural”. Numa população selvagem de germes (que nunca teve contato com droga), existe uma constante matemática de mutantes resistentes a uma determinada droga, em proporções variadas para cada uma delas. Assim, um em cada  $10^8$  bacilos é naturalmente resistente à RMP, um em cada  $10^6$  é resistente ao EMB, à INH e à SM (LONG, 2000), um em cada  $10^3$  é resistente à PZA e ETH (CAMPOS, 1996). Como a população bacteriana no organismo doente é enorme (uma caverna de 2cm pode conter  $10^{10}$  bacilos), o número de mutantes é elevado, tornando-se necessário o emprego de três ou mais drogas no tratamento. Desta maneira, os bacilos naturalmente resistentes a uma delas serão mortos pela outra e vice-versa.

A resistência é um fenômeno fundamentalmente ligado às grandes populações bacterianas. Na TB humana, as maiores populações estão nas lesões cavitárias e há mais de meio século se tem conhecimento da resistência mais freqüente durante o tratamento de formas cavitárias, quando comparado às formas não-cavitárias (CANETTI, 1965; BEN-DOV; MASON, 1987). Quanto maior a população bacteriana, maior a chance de haver bacilos resistentes antes do início do tratamento. Enquanto a população bacteriana nas cavidades é da ordem de  $10^7$  a  $10^8$ , nas lesões caseosas endurecidas, não excedem  $10^2$  a  $10^4$  bacilos. Assim, na maioria dos tipos de TB extrapulmonar, a população bacilar inicial é bem menor em relação à TB pulmonar cavitária: a chance de mutantes resistentes pré existentes é muito pequena. Mais verdade é ainda na infecção latente, daí a chance mínima de resistência secundária à quimioprofilaxia com INH (CANETTI, 1965). Isso já foi



comprovado em estudos em populações compostas por pacientes imunocompetentes e imunocomprometidos, isto é, HIV (-) e HIV (+) respectivamente (PENÃ; ORTEGA, 1996, GARCIA VASQUEZ *et al.*, 1999).

Alguns autores citam formas transicionais ou falsas resistências, as quais podem ocorrer ao se colherem amostras no decorrer do tratamento antituberculose, pelo fato de os mutantes naturalmente resistentes demorarem mais a serem eliminados em relação ao restante da população de *M. tuberculosis*. Falsas resistências podem também ocorrer por contaminação de laboratório (PENÃ; ORTEGA, 1996).

A emergência de resistência acontece por seleção de mutantes resistentes pré existentes na população bacteriana original, por “pressão antibiótica”. Por exemplo: se a INH é prescrita isoladamente (ou se é a única droga à qual o paciente adere num esquema de múltiplas drogas) para TB pulmonar cavitária, serão eliminados os organismos sensíveis à INH e aqueles aleatoriamente mutantes resistentes às outras drogas, mas sobreviverão os resistentes à INH. Estes vão continuar multiplicando-se e, eventualmente, dominarão a população. A probabilidade de isso acontecer é influenciada pela duração da monoterapia: 25% entre pessoas recebendo isoladamente INH por duas semanas, 60% por seis meses e 80% por dois anos. Se a RMP isolada é adicionada ao regime, então, pelo mesmo mecanismo, uma cepa multidroga-resistente (resistente à RM+INH) emergirá (LONG, 2000).

Essa teoria clássica da resistência às drogas na TB postula a seqüência de eventos para o paciente receptor da monoterapia. Ela não explica como a resistência emerge por causa da irregularidade na ingestão das drogas em doses fixas combinadas. Esses mecanismos requerem vários ciclos de morte bacteriana (quando as drogas são tomadas) e crescimento bacteriano (quando são suspensas). Em cada ciclo existe uma seleção favorecendo os mutantes resistentes em detrimento dos sensíveis (MITCHINSON, 1998).

Quatro etapas foram descritas por Mitchinson em 1998, favorecendo a seleção de mutantes: as duas primeiras ocorrem durante a fase de inibição ou morte bacteriana e as outras duas durante o recrudescimento.

1- A INH elimina as bactérias mais rapidamente que a RMP no início do tratamento (dois primeiros dias). A não-adesão ao tratamento vai favorecer mais ainda esse mecanismo.

2- Existem populações especiais de bacilos semidormentes seletivamente eliminados pela RMP, porque eles têm surtos de metabolismo, e pela PZA, quando estão em meio muito ácido. Nessas populações, ocorre efetiva monoterapia, já que a INH e o EMB não agem nelas. Essa é uma explicação para a monorresistência à RMP entre pacientes positivos para o HIV (SANDMAN, 1999).

3- Durante o período de recrescimento, pode haver droga em concentrações subinibitórias (em situações especiais durante o tratamento). Por definição, essas concentrações não inibem completamente o crescimento dos bacilos sensíveis, mas o tornam mais lento, enquanto o crescimento dos mutantes resistentes continua o mesmo (para uma droga A). Por definição, uma droga B não afetaria essa seleção porque ocorre em momento de recrescimento.

4- O bacilo tuberculoso é objeto de uma pausa metabólica de duração variável para cada fármaco após a exposição à droga. Se o intervalo entre as ingestas de remédio é superior a esse hiato, haverá recrudescimento da população bacteriana.

A resistência ocorre primeiro a uma droga do esquema, seguindo-se o desenvolvimento de resistência à outra, produzindo a TBMR. Esse estado reflete a acumulação de etapas de mutações individuais de vários genes independentes, e não a aquisição em bloco de resistência a múltiplas drogas (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

#### 1.1.8 Mecanismos de resistência

As bactérias dispõem de vários mecanismos para desenvolver resistência aos antibióticos:

1- mecanismos de barreira (redução de permeabilidade e bombas de efluxo);

2- produção de enzimas ( $\beta$ -lactamases. p.ex.); e

3- modificação do “alvo” do fármaco (mutação de um gen-chave). A modificação pode ser por superprodução do alvo ou por alteração do alvo por mutação.

As informações genéticas para tais propriedades podem ser adquiridas via elementos genéticos móveis exógenos (plasmídeos, p. ex.) ou podem residir nos cromossomos da bactéria.

No caso do *M. tuberculosis*, apenas o último mecanismo foi demonstrado até o momento. Quanto ao material genético extracromossômico, não foi identificado na resistência da TB (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Até o momento vários alvos das drogas e mecanismos de resistência foram identificados para o *M. tuberculosis* (**ANEXO C**).

RESISTÊNCIA À RIFAMPICINA - a RMP é uma ansamicina lipofílica, muito ativa contra o *M. tuberculosis*, porque se difunde rapidamente através do envelope celular hidrofóbico. A RMP é um derivado semi-sintético da rifamicina produzida por *Streptomyces mediterranei* e tem peso molecular de 823 daltons, sendo considerada uma molécula grande. É bactericida para micobactéria, inclusive para as que são de acesso difícil para outras drogas, isto é, para as que estão intracelulares ou dentro de abscessos e em cavidades. Microrganismos suscetíveis são inibidos *in vitro* a uma concentração  $<1 \mu\text{g/mL}$  (CHAMBERS, 2001). Atinge concentração sérica máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) em duas horas depois da administração oral e sua meia vida em humanos é de duas a quatro horas. Entre 60% e 80%, liga-se a proteínas. Tem eliminação hepática (80%) e renal (10%) (MEHTA *et al.* 2001). Sua meia vida pode reduzir-se em até 40% após os 14 primeiros dias de tratamento, em virtude da indução de enzimas hepáticas (BASS Jr *et al.*, 1986). Segundo Acocella *et al.* (1971), a  $C_{\text{máx}}$  diminui 32,4% nos quatro primeiros dias de ingestas consecutivas e depois se estabiliza, mantendo-se com uma redução média de 29,3% ( $p < 0,0001$ ).

A RMP atua ligando-se à enzima RNA polimerase, bloqueando a transcrição e levando à morte bacteriana. A resistência resulta de mutações no gen

rpoB, o qual codifica a subunidade  $\beta$  da RNA polimerase (COLE, 1994; PONCE DE LEON, 2000). Essa é a maior correlação entre resistência fenotípica e genotípica no *M. tuberculosis* descoberta até hoje (aproximadamente 97%).

RESISTÊNCIA À ISONIAZIDA - a isoniazida é a hidrazida do ácido nicotínico. É uma molécula simples pequena (peso molecular 127 daltons) e hidrossolúvel. *In vitro*, é capaz de inibir 80% das cepas sensíveis de *M. tuberculosis* a uma concentração  $<0,1 \mu\text{g/ml}$  (ou  $0,5 \mu\text{g/ml}$  para *M. bovis*, membro do complexo *M. tuberculosis*). Infecções por outras espécies micobacterianas podem ser tratadas com INH com um  $\text{MIC} > 1$  a  $10 \mu\text{g/ml}$  (HORSBURGH, 1991). Em geral, atinge o pico máximo de concentração sérica uma a duas horas depois da ingestão (CHAMBERS, 2001). Pode penetrar os fagócitos, sendo ativa contra bactérias no meio intra e extracelular. O *M. tuberculosis* tratado com a INH perde a ácido-resistência, uma característica associada com os ácidos micólicos da micobactéria. Essas observações levaram à descoberta de que a INH inibia a síntese do ácido micólico e de que isso se correlacionava com a morte celular (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Em 1952, Middlebrook isolou mutantes resistentes à INH desprovidos da atividade catalase. Quase 40 anos após, Zhang e cols. (1992) verificaram que o gen KatG, que codificava a catalase-peroxidase, era defeituoso em muitas cepas resistentes à INH, e que esse gen de um *M. tuberculosis* selvagem, se transferido para uma cepa de *M. smegmatis* resistente à INH, tornaria este último sensível à INH. O achado deu suporte à hipótese sugerida por Winder, 28 anos atrás, segundo a qual a catalase-peroxidase era um ativador da INH e não um alvo da droga (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Em 1994, Banerjee e cols. demonstraram que o gen inhA (alvo para INH) do *M. smegmatis* resistente à INH conferia resistência, após transferência para uma cepa suscetível (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Em 1998, Mdluli e cols. identificaram outro alvo para INH, a kasA ( $\beta$ -ketoacyl ACP sintetase) que formava um complexo com a AcpM (acyl carrier protein) e a cujo complexo estava ligada a INH (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Finalmente, mencione-se o gen *ahpC* que codifica o alquil-hidroperóxido redutase C e se crê desempenhar um papel na ação da INH. Essa enzima, acredita-se, retira o poder tóxico dos intermediários ativos da INH ou mantém a virulência de cepas deficientes de *KatG* (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

Várias mutações têm sido encontradas nos genes *KatG*, *inhA*, *ahpC* e *kasA* em cepas de *M. tuberculosis* clinicamente resistentes à INH; no entanto, 10-25% das cepas resistentes à INH não contêm mutações nesses genes.

RESISTÊNCIA À PIRAZINAMIDA - a PZA, derivada da nicotinamida, levemente solúvel em água, é usada contra TB desde 1952. Ela é uma molécula pequena de 123 Daltons, é capaz de inibir a micobactéria a uma concentração de 20 µg/ml e tem efeito esterilizante na população semidormente intramacrofágica, onde o pH é ácido, não tendo ação em pH neutro. Uma a duas horas depois da ingestão oral de dose de 25 mg/kg, atinge concentração sérica de 30-50 µg/mL (CHAMBERS, 2001).

Como a INH, a PZA é uma pró-droga e requer ativação para se transformar em ácido pirazinóico (POA) pela ação da enzima pirazinamidase (Pzase). Há evidências de que a PZA entra no *M. tuberculosis* por difusão passiva, sendo convertida em POA e excretada por uma bomba de efluxo fraca. Em meio ácido, o POA protonado se acumula e é reabsorvido, levando à lesão celular. PZA e POA podem desenergizar a membrana, pelo colapso do potencial de membrana, afetando a função do transporte através da membrana, em pH ácido (DUCATI *et al.*, 2006).

O gen codificador da Pzase do *M. tuberculosis*, a *pncA*, foi clonado, seqüenciado e inequivocamente associado à resistência à PZA (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

RESISTÊNCIA AO ETAMBUTOL - o EMB é usado desde 1966. Atualmente, sua principal utilidade é como droga acessória em regimes de curta duração com quatro drogas, em áreas onde a resistência primária à INH é 4% (BLOCH *et al.*, 1994). No Brasil, como já mostrado, é utilizado no E-IR, no E-III e no tratamento alternativo

para TBMR, não se podendo esquecer os esquema especiais para os casos de intolerância medicamentosa (SBPT, 2004).

Em geral, o EMB é bacteriostático, podendo ser bactericida em doses elevadas (25 µg/mL) (DUCATI *et al.*, 2006). Inibe cepas de bactérias susceptíveis a uma concentração de 1-5 µg/mL (CHAMBERS, 2001).

O EMB age inibindo a síntese do componente arabinogalactan, um componente essencial da parede celular. Recentemente, identificou-se o grupo de genes *embCAB*, que codifica proteínas que funcionam como arabinosiltransferases. Essas enzimas estão envolvidas na polimerização de D-arabinofuranose para arabinoglicano. Resistência ocorre tanto com superprodução do alvo como por mutação (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

RESISTÊNCIA À ESTREPTOMICINA, AMICACINA, CAPREOMICINA E KANAMICINA - a SM é usada desde 1944 e, por conta disso, demonstra elevado grau de resistência isolada ou associada à INH. A amicacina e a kanamicina, aminoglicosídeos correlatos, mas sem resistência cruzada com SM, são usadas contra a TBMR.

Todos os aminoglicosídeos agem inibindo a síntese protéica, evitando a tradução no ribossomo bacteriano. Resistência à SM ocorre por mutações no gen *rpsL*, que codifica a proteína ribossomal S12, e no gen *rrs*, que codifica o RNA ribossomal 16S (RISKA; JACOBS; ALLAND, 2000).

RESISTÊNCIA ÀS QUINOLONAS - estas drogas demonstraram atividade *in vitro* desde a década de 1980. As fluoroquinolonas utilizadas para o tratamento da tuberculose incluem ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina e esparfloxacina. São antibacterianos bactericidas de amplo espectro. Ciprofloxacina e levofloxacina inibem as cepas de *M. tuberculosis* em concentrações menores do que 2 µg/mL. As fluoroquinolonas mais novas têm concentrações inibitórias mínimas ainda menores. Esses medicamentos inibem a síntese de DNA bacteriano pela inibição da topoisomerase II (DNA girase) e topoisomerase IV, responsáveis pelo relaxamento do DNA e separação do cromossomo replicado, respectivamente. Resistência ocorre por mutações nos genes *gyrA*, e *gyrB* e *lfrA*,

que codificam as subunidades A e B da DNA girase e uma proteína de efluxo, respectivamente (DUCATI *et al.*, 2006).

RESISTÊNCIA À ETIONAMIDA - a ETH é uma droga bacteriostática utilizada no esquema de falência (E-III), isto é, quando deixou de haver resposta ao E-I ou E-IR (SBPT, 2004). É uma droga quimicamente relacionada à isoniazida, convertida a sulfóxido de etionamida por oxidação, e bloqueia a síntese de ácido micólico. Inibe a maioria dos bacilos da tuberculose em concentrações de 2,5 µg/mL (DUCATI *et al.*, 2006). Mutações no gen *inhA* podem conferir resistência cruzada com a INH (CAMPOS, 1999).

#### 1.1.9 Epidemiologia da resistência

Nos últimos 60 anos, a proliferação de agentes antimicrobianos para uso em animais e seres humanos provocou pressão seletiva e sem precedentes nos microrganismos, aí se incluindo o *M. tuberculosis*. Em relação à TB, só no início dos anos 1990, quando as epidemias de TBMR em portadores do HIV, nos EUA e Europa, foram publicadas, é que o problema recebeu atenção internacional (ALLAND *et al.*, 1994; SMALL *et al.*, 1994).

Mutações espontâneas levando à resistência às drogas ocorrem raramente no *M. tuberculosis*, e regimes com múltiplas drogas podem prevenir a emergência da resistência às drogas clinicamente. Resistência às drogas, vale insistir, é uma ameaça aos programas de controle da TB em todo o mundo. Pacientes infectados com cepas resistentes a múltiplas drogas têm menor probabilidade de cura (GOBLE *et al.*, 1993; FIÚZA de MELO *et al.*, 1996; DALCOLMO *et al.*, 1999; UFFREDI *et al.*, 2007), particularmente se estão infectados pelo HIV ou sofrem de outra imunopatia. O tratamento é mais tóxico e muito mais caro em relação ao tratamento de pacientes com organismos sensíveis, em torno de 700 vezes mais dispendioso (MAHMOUDI; MICHAEL; ISEMAN, 1993; HUMMA, 1996; HEYMANN *et al.*, 1999; RAO *et al.*, 2000; STOKSTAD, 2000).

Em 1994, a OMS iniciou o Projeto Global de Vigilância à Resistência às Drogas Anti-Tuberculose, cujo objetivo era medir a prevalência da resistência em

vários países. Participaram do Projeto 35 países e foi encontrado um percentual mínimo de TBMR combinada [primária + adquirida (ISEMAN, 2000)] de zero e máximo de 22,1%, com uma média de 2,2%. O Brasil atingiu um percentual de 1,3%. Foram identificadas as seguintes regiões críticas: Latvia (22,1%), Índia (13,3%), Estônia (11,7%), República Dominicana (8,6%), Argentina (8,0%) e Rússia (7,3%) (PABLOS-MENDEZ *et al.*, 1998).

Estudo realizado por Becerra *et al.* (2000) tenta redefinir os “pontos críticos” de transmissão da TBMR identificados pela OMS. Além do indicador utilizado há pouco, o uso criterioso de mais dois indicadores (estimativa da incidência da TBMR / 100.000 / ano e estimativa do número absoluto de novos casos de TBMR / ano) pode identificar melhor as regiões necessitadas de intervenção no sentido de deter a disseminação da TBMR. Nesse estudo, o Brasil surgiu como um dos pontos críticos.

Estima-se que 3,2% do total de casos de TB, no mundo, no ano 2000 tenham sido multirresistentes e que no Brasil essa proporção tenha sido de 1% (DYE *et al.*, 2002).

Nova análise de dados sobre a resistência às drogas antituberculose, coordenada pela OMS e Projeto Global para a Vigilância da Resistência das Drogas Anti-Tuberculose da União Internacional Contra Tuberculose e Doenças Pulmonares foi publicada em 2006. Os dados foram coletados no período de 1999 a 2002, tendo participado 79 países ou regiões geográficas, sendo testadas quatro drogas antituberculose – INH, RMP, EMB e SM. A prevalência média de qualquer resistência foi 10,2% (variando de 0,0-57,1). A prevalência média de multidroga resistência em casos novos foi 1,0% (variando de 0,0-14,2). Kazakistão, Tomsk Oblast (Rússia), Karakalpakstão (Uzbekistão), Estônia, Israel, províncias chinesas de Liaoning e Henan, Lituânia e Latvia reportaram prevalência de multidroga resistência acima de 6,5%. Análise de tendência utilizando três datas, no período de 1994 a 2002, mostrou significativa aumento na prevalência da multidroga resistência em casos novos em Tomsk Oblast ( $p < 0,0001$ ) e diminuição nos Estado Unidos da América (EUA) ( $p = 0,0002$ ) (AZIZ *et al.*, 2006). O Brasil não participou dessa avaliação.



No Ceará, em estudo da resistência primária (RP), de 98 pacientes sem história de tratamento anterior, internados no Hospital de Maracanaú (referência estadual para internação em TB), no período de 1992 a 1994, não foi encontrado RP à RMP (BARROSO *et al.*, 1994). No período de 1994-1996, em seqüência a esse estudo, os mesmos autores encontraram, entre 53 pacientes, três casos (5,6%) de RP à RMP. Dentre estes, um se tratava de TBMR primária (1,9%). No mesmo período, de 32 pacientes com história de tratamento anterior, foram detectados oito casos (25%) com TBMR adquirida. A prevalência combinada da TBMR no referido período foi de 10,6%. Esses achados não podem ser inferidos para o restante do Estado porque o estudo foi feito numa população selecionada, só de casos graves hospitalares (BARROSO *et al.*, 1996).

No período de julho/1995 a agosto/1996, quando o Ceará participou, como um dos Estados do Brasil, do Projeto Global de Vigilância às Drogas Anti-Tuberculose, foram cultivadas no Laboratório Central do Estado (LACEN-CE) todas as amostras positivas para BK ao exame microscópico direto, provenientes de quatro unidades de saúde de Fortaleza (Capital do Ceará). O estudo foi feito com o intuito de testar a RP e a resistência adquirida (RA). Dos 628 pacientes estudados, 506 não tinham história de tratamento anterior e nesses foram encontrados três (0,6%) de TBMR. De 122 casos com história de tratamento anterior, quatro (3,3%) tinham TBMR. A resistência combinada foi 1,1% (**ANEXO D**).

Realizou-se estudo de prevalência da TBMR no Ceará, no período de 1990-1999 e encontrou-se que a prevalência da TBMR aumentou de 0,82% em 1994 para 1,48% em 1999. A incidência anual durante a década mostrou tendência crescente (**ANEXO E**). Realizou-se nessa mesma pesquisa análise de sobrevivência, na qual 87% dos pacientes com tratamento satisfatório de 3ª linha tiveram sobrevida de cinco anos, 73% dos que tiveram falência ao tratamento de 3ª linha sobreviveram por cinco anos e dos que não tiveram oportunidade com esse tratamento, 32% sobreviveram por cinco anos ( $p < 0,0001$ ). É uma sobrevida pequena para pessoas com média de idade de 40 anos, mas longa, pelo risco de contaminação de membros familiares, pessoas da comunidade e profissionais de saúde (BARROSO *et al.* 2001). Alguns autores acharam resultados semelhantes (GOBLE *et al.*, 1993; PARK; DAVIS, 1996). Outros encontraram sobrevida ainda

menor (FISCHL *et al.*; 1992; SCHAAF *et al.*, 1996). No ano de 2005 foram notificados 4.103 casos de TB de todas as formas (CEARÁ, 2007), e em pesquisa direta no Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN-CE) foram identificados 65 novos casos de TBMR, configurando prevalência de TBMR de 1,58% em 2005.

A TBMR é, portanto, um problema em quase todo o mundo, incluindo o Ceará, e se faz necessário que esforços sejam unidos antes que a TB volte a se tornar praticamente incurável, como antes de 1944. O problema é tão grave ao ponto de já exigir atenção da Justiça e dos Direitos Humanos, tanto para resguardar os direitos dos pacientes quanto dos contactantes desses pacientes (GRANGE; ZUMLA, 2000, COKER, 2000, WALTON; FARMER, 2000).

#### 1.1.10 Tuberculose extensamente resistente

A emergência mundial da TB extensamente droga resistente (TB-XDR) e definição provisória para essa forma de TB foi publicada pela primeira vez em novembro de 2005. A definição inicial classificava como TB-XDR o caso de TB em pessoa cujo *M. tuberculosis* fosse resistente a RMP+INH e pelo menos mais três das seis principais classes de drogas de segunda linha (aminoglicosídeos, polipeptídeos, fluoroquinolonas, tioamidas, cicloserina e PAS) (SHAH; WRIGHT; DROBNIEWSKI, 2005).

Em outubro de 2006, a OMS reuniu a Força-Tarefa Global de Emergência para TB-XDR e reviu a definição de caso para especificar como resistência a pelo menos RMP+INH entre as drogas antituberculose de primeira linha, resistência a uma fluoroquinolona e resistência a pelo menos uma droga injetável de segunda linha (amicacina, capreomicina ou kanamicina) (CDC, 2006).

Nos EUA, paralelamente ao declínio significativo dos casos de TBMR, no período de 1999 a 2002, publicado pela OMS (AZIZ *et al*, 2006) foram reportados os temidos casos de TB-XDR. Adotando a definição revisada para TB-XDR, foram notificados 32 casos no período 1993-1999 e 17 em 2000-2006. Comparando-se os casos dos dois períodos, verificou-se que, no segundo, os casos ocorreram mais em estrangeiros e em negativos para o teste Anti-HIV. Apesar da tendência decrescente

no número de casos, a situação é preocupante e a Força-Tarefa Federal para controle da TB nos EUA está desenvolvendo uma resposta nacional e internacional para as agências governamentais dos EUA com respeito à TB-XDR (CDC, 2007).

Em 2005, na África do Sul, foram detectados casos fatais de TB classificados como TB-XDR. Análise por genotipagem identificou apenas uma família (KwaZulu-Natal - KZN) responsável por 85% dos 46 casos testados e que já foram reconhecidos como circulando na África do Sul há pelo menos uma década. Casos de TB-XDR já foram detectados em 17 países (RAVIGLIONE; SMITH, 2007).

Entre os principais fatores de risco para o surgimento de bacilos multidroga resistentes citam-se a epidemia de infecção pela HIV, o crescimento da pobreza nas áreas urbanas, a imigração de pessoas provenientes de áreas com alta endemicidade, a negligência das práticas de controle e desestruturação dos serviços nos locais em que se imaginava que a doença estivesse sob controle. O controle da TB se apóia na cura dos potenciais transmissores do bacilo e a falta de investimento no controle da TB acarreta retardo no diagnóstico, atraso no reconhecimento da resistência às drogas, esquemas terapêuticos inapropriados, indisponibilidade dos medicamentos, pouca adesão ao tratamento, tanto do paciente, quanto dos profissionais (BARROSO *et al.*, 2003a, BARROSO *et al.*, 2003b, FAUSTINI; HALL; PERUCCI, 2006). Além desses fatores, são também importantes: a susceptibilidade ao desenvolvimento de TB sensível ou multirresistente (CASANOVA *et al.*, 1995; SAFDAR; ARMSTRONG; MURRAY, 2003; MORAES-VASCONCELOS *et al.*, 2005), a oportunidade de contrair TBMR (BARROSO *et al.*, 2004a, BARROSO *et al.*, 2004b) a qualidade das drogas utilizadas no tratamento (PADGAONKAR *et al.*, 1999) e a má absorção intestinal de drogas, que resulta em níveis terapêuticos subótimos (SHARMA; MOHAN, 2004).

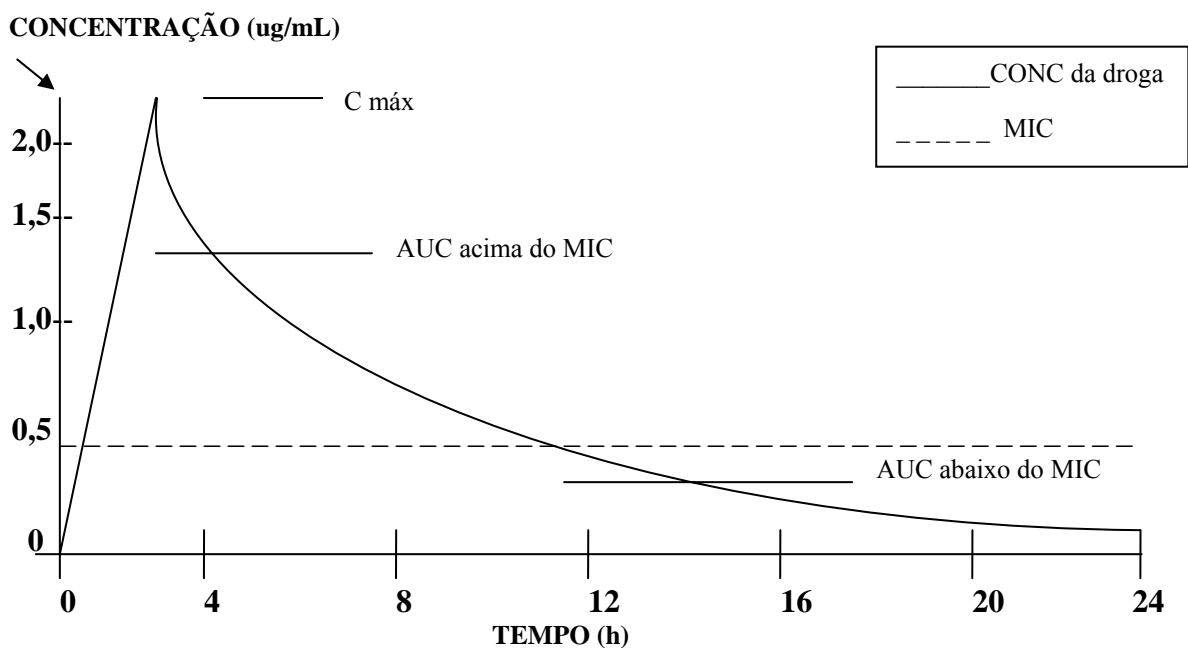
## **1.2 Monitoramento terapêutico das drogas antituberculose**

### **1.2.1 Noções de farmacocinética**

Os parâmetros farmacocinéticos mais freqüentemente descritos são a concentração sérica máxima ( $C_{máx}$ ), o tempo em que o  $C_{máx}$  ocorre ( $T_{máx}$ ) e a velocidade com que a droga deixa o corpo (meia-vida). Para a maioria das drogas

antituberculose administradas oralmente, o  $T_{m\acute{a}x}$  ocorre duas horas após a administração; assim, geralmente, esse é o momento em que se dosa o “pico” de concentrações séricas (PELOQUIN, 1997).

Outros parâmetros incluem a dispersão da droga pelo corpo (volume de distribuição –  $V_d$ ) e a retirada da droga do corpo (*clearance*). Vários métodos calculam esses parâmetros dos dados da concentração sanguínea *versus* tempo (**FIGURA 1**). A demonstração dos dados da concentração sanguínea *versus* tempo revela uma curva, e a área sob essa curva (*area under the curve* – AUC) pode ser calculada. Estimativas dos parâmetros resumem o movimento das drogas no organismo, permitindo que os clínicos prevejam, meçam, ajustem e controlem a terapia medicamentosa (PELOQUIN, 1997).



**FIGURA 1-** Curva hipotética de concentração *versus* tempo. Concentração sérica máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), a área sob a curva (AUC), e o relacionamento desses parâmetros com a concentração inibitória mínima (MIC). CONC = concentração.  
PELOQUIN, C. A. *Clin Chest Med.*, v. 18. p. 79-87, 1997.

Valores de  $C_{\text{máx}}$ ,  $T_{\text{máx}}$  e meia-vida para drogas anti-TB foram determinados em todo mundo inicialmente na década de 1950 e foram validados na década de 1990, no National Jewish Medical and Research Center (NJMRC) (PELOQUIN, 1993, PELOQUIN, 1997, PELOQUIN *et al.*, 1999, PELOQUIN 2002) (**ANEXO F**).

### 1.2.2 Noções de farmacodinâmica

A interação de uma droga com um microrganismo pode ser descrita pela concentração inibitória mínima (*minimal inhibitory concentration* – MIC), concentração bactericida mínima (*minimal bactericidal concentration* – MBC) e a cinética bacteriostática ou bactericida. Isso pode ser estudado *in vitro* (ágar ou caldo), em modelos macrofágicos, e, potencialmente, em modelos animais ou humanos. Farmacodinâmica (“ação da droga”) relaciona a concentração sérica ou tecidual alcançada pela droga à quantidade necessária para inibir ou matar o organismo (MIC ou MBC). Os parâmetros farmacodinâmicos são: relação  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$ , TEMPO acima do MIC (TEMPO>MIC), e AUC acima do MIC (AUC>MIC) (**FIGURA 1**) (PELOQUIN, 1997).

Para infecções por organismos gram-positivos e gram-negativos, sabe-se que venenos intracelulares, como as quinolonas, os aminoglicosídeos, e, provavelmente as rifamicinas, é desejável maximizar o  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  (LODE, 1998; LACY, 1998) ou talvez a porção da AUC acima do MIC. Uma relação  $C_{\text{max}}/\text{MIC}$  alta tende a aumentar a morte bacteriana, pode limitar a resistência adaptativa e a seleção de subpopulações resistentes. Para agentes ativos contra a parede celular, como penicilinas e cefalosporinas, TEMPO>MIC deveriam ser maximizados ao se tratar infecções por gram-positivos e gram-negativos (TURNIDGE, 1998).

Esses relacionamentos se aplicam bem para cocos e bacilos aeróbicos de multiplicação rápida. Um estado semelhante existe para a maioria dos bacilos tuberculosos no início do tratamento para TB. *In vitro*, é mais difícil realizar testes semelhantes para *M. Tuberculosis* de crescimento lento do que para bactérias, e assim menos dados são disponíveis. Além do mais, o *M. Tuberculosis* pode ficar em um estado “latente” *in vivo*, pouco compreendido, que pode interferir nesses

relacionamentos adversamente. Organismos que se multiplicam lentamente ou só intermitentemente, serão menos susceptíveis à ação das drogas. Empenhos científicos continuam tentando definir os parâmetros-chaves para as drogas antituberculose (PELOQUIN, 2001).

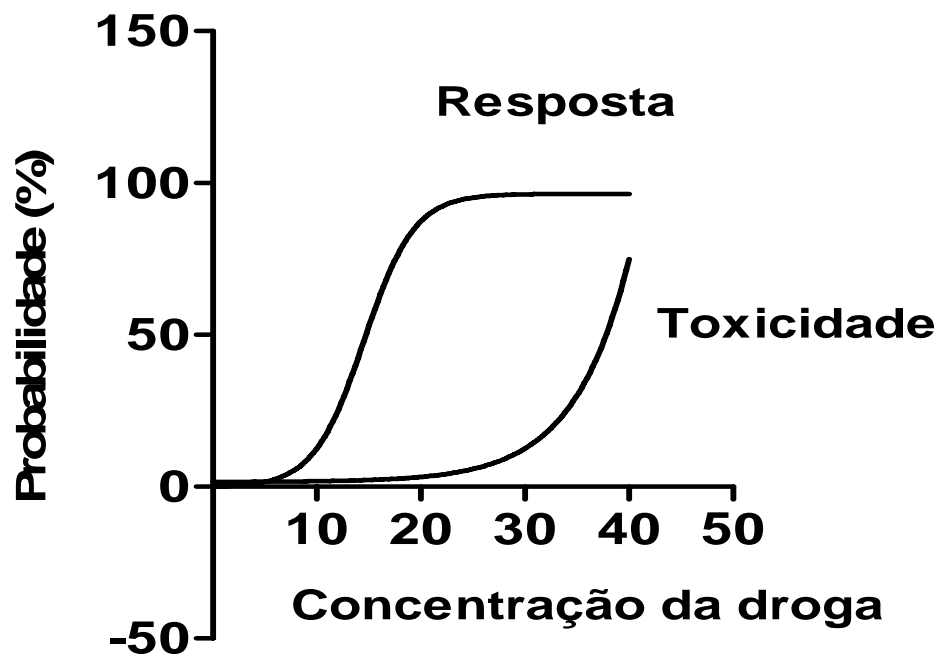
Caso esses relacionamentos sejam verdade para drogas antimicobacterianas, então agentes ativos contra a parede micobacteriana como INH, ETH, cicloserina e EMB deveriam ser administrados de modo a manterem suas concentrações acima do MIC ( $TEMPO > MIC$ ). A dosagem de substâncias tóxicas intracelulares, como RMP, amicacina, kanamicina, ciprofloxacina, OFL e capreomicina, pode ser melhorada, administrando-se altas doses intermitentemente ( $C_{max}/MIC$ ).

Na opinião de Peloquin (2001), o  $C_{max}$ , provavelmente, continua sendo o parâmetro mais importante para drogas como levofloxacina, estreptomicina, amicacina, rifampicina, rifabutina e rifapentina, pelo menos no início de um tratamento.

RMP requer alta razão  $C_{max}/MIC$  para ótima atividade. Com uma  $C_{max} > 8$  mg/L e um MIC normal de 0,25 mg/L, o  $C_{max}/MIC$  estimado será  $> 32$ . Para ótima atividade da INH uma  $C_{max} > 3$  mg/L e um MIC de 0,1 mg/L, o  $C_{max}/MIC$  estimado será  $> 30$  (DOUGLAS, McLEOD, 1999).

Uma forma de conceituar a farmacodinâmica de uma droga, e das drogas antituberculose em particular, é desenhar uma curva em “S”. Tipicamente, essas relações farmacodinâmicas entre concentrações séricas de drogas (X) e a probabilidade de resposta terapêutica (Y) podem ser descritas matematicamente pela equação de Hill (**FIGURA 2**) (BELLISSANT; SÈBILLE; PAINTAUD, 1998). No lado inferior esquerdo da curva, existe insuficiente droga para produzir uma resposta detectável. Na porção íngreme da curva, pequenas mudanças nas concentrações séricas produzem relativamente grandes mudanças na resposta. Essas drogas são classificadas como “dose-dependentes” em relação as suas atividades. Esse parece ser o caso das quinolonas, aminoglicosídeos e rifamicinas. Uma vez que a concentração alcança o platô na porção superior direita da curva, droga adicional

parece não produzir aumentos adicionais na resposta. Drogas agindo nessa porção da curva são classificadas como “dose-independentes” relativamente a sua ação. Nessa categoria incluem-se as penicilinas, cefalosporinas e vancomicina. (PELOQUIN, 2001).



**FIGURA 2-** Representação gráfica de curva dose-resposta. “Resposta” representa a curva da probabilidade de eficácia terapêutica. “Toxicidade” representa a curva da probabilidade de reações adversas da droga. Nesse exemplo, concentrações entre 20 e 30 µg/ml são provavelmente efetivas e atóxicas. Essa é a base para a “faixa terapêutica”. Note-se que alguns pacientes podem responder, enquanto outros podem ter efeitos tóxicos, acima ou abaixo da faixa terapêutica. PELOQUIN, C. A. *Ann. NY Acad. Sci.*, v. 953, p. 157-164, 2001.

### 1.2.3 Uso de monitoramento terapêutico na tuberculose

Monitoramento terapêutico de drogas (MTD) é o processo de obtenção de concentrações séricas de uma medicação e modificação da dose com base nos resultados, visando a otimizar os benefícios terapêuticos ao mesmo tempo e minimizar os riscos de efeitos colaterais e toxicidade (PELOQUIN, 1992).

Em 1991, Welsh publicou na revista *Chest* um caso de paciente que desenvolveu TB após gastrectomia subtotal Billroth II, revelou baixos níveis sanguíneos de várias drogas antituberculose e desenvolveu TBMR.

Níveis séricos abaixo dos normais esperados de drogas antituberculose são descritos por alguns autores (BERNING *et al.*, 1992; PELOQUIN *et al.*, 1993).

Turner *et al.*, em 1994, sugeriram que a má absorção de drogas antituberculose deve ser sempre investigada como uma entre as muitas razões da falência ou recaída após terapia, em pacientes aderentes ao tratamento. Vários estudos demonstram que determinados grupos de pacientes apresentam alterações no perfil farmacocinético das drogas antituberculose (PELOQUIN, 1997). A maior parte deles se refere a pacientes com aids e TB pulmonar (BERNING, 1992), os quais com grande freqüência apresentam baixas concentrações séricas das drogas antituberculose. Má absorção pode também ocorrer em pacientes diabéticos, alcoólatras (HIRSCH *et al.*, 1997), desnutridos (POLOSA; MURPHY; KRISHNASWAMY, 1984) ou patologias outras do trato gastrintestinal (DIETERLEN; CASSEREAU; LESTRADET, 1986).

Choudhri *et al.*, em 1997, desenvolveram estudo para verificar os níveis de drogas antituberculose em pacientes com aids, envolvendo 29 com TB, 14 deles infectados pelo HIV e 15 não infectados, em Nairobi, Quênia. Avaliaram a integridade intestinal pelo teste da xilose. A absorção da xilose foi baixa nos dois grupos. O  $C_{máx}$  da INH foi  $< 3 \mu\text{g/mL}$  em 24/27 (89%) pacientes e o da RMP foi  $< 8 \mu\text{g/mL}$  em 26/29 (90%) pacientes. Não ficou demonstrado que a infecção pelo HIV, a diarreia ou a contagem de linfócitos CD4 contribuíssem para a baixa biodisponibilidade da RMP nem INH.

Kimerling *et al.* (1998) acompanharam os pacientes com TB diagnosticados no Estado do Alabama, EUA, entre 1994 e 1996. Foi feita coleta para dosagem sérica, duas horas depois da ingestão supervisionada, em 24 pacientes que não apresentaram a resposta terapêutica esperada, a seguir: resposta clínica lenta ou falta de negativação do escarro depois de 12 semanas de tratamento; recidiva precoce, isto é, 13 meses ou menos depois de ter sido declarado curado;



reativação da doença depois de mais de 13 meses de ter sido declarado curado ou ter adquirido resistência enquanto recebia tratamento diretamente observado. Dois desses pacientes foram excluídos da análise porque foi colhida a amostra após uma hora da ingestão. Foram encontrados níveis baixos de INH em 15/22 (68%) pacientes e de RMP em 14/22(64%) pacientes. Quatro dos 14 (29%) que estavam usando o esquema duas vezes por semana tinham concentrações muito baixas de ambas as drogas. O uso de dose fixa combinada de RMP e INH associou-se com concentrações menores de INH, e com concentrações mais altas de RMP. Esse estudo chamou a atenção para a associação do uso de álcool com um aumento significativo dos níveis séricos de RMP. O estudo sugere a necessidade de dosagem das drogas antituberculose quando a resposta ao tratamento não for adequada.

Mehta *et al.* (2001) acompanharam 124 adultos com TB, em uso de 600mg de RMP oral em tratamento supervisionado em Washington, EUA. Desses 124, selecionaram seis considerados “responsivos” lentos ao tratamento, porque, depois de três meses do esquema terapêutico com RMP, INH e PZA, não apresentavam melhora clínica ou radiológica. Nesses pacientes, observaram redução da concentração sérica de RMP. A dose de RMP foi elevada para 900 mg e alcançou níveis esperados em cinco deles. No sexto paciente, a concentração normal esperada foi alcançada quando se administrou a dose de 1.500 mg. Não foram feitas dosagens de RMP nos outros pacientes; as outras drogas também não foram dosadas, não foi detectada resistência e houve resposta clínica quatro a oito semanas depois do ajuste da dose. Não foram detectados eventos adversos relacionados com o aumento da dose administrada. O estudo sugere que o pacientes que respondem de forma inadequada ao tratamento podem se beneficiar do ajuste de dose.

Van Crevel (2002), na Indonésia estudou a biodisponibilidade de RMP em 62 pacientes com TB e detectou muito baixos níveis séricos de RMP (<4 µg/mL) associados a preparações locais da droga. Nesse estudo, a resposta bacteriológica foi semelhante em pacientes com níveis terapêuticos e subterapêuticos de RMP: após dois meses de tratamento, as culturas foram positivas para *M. tuberculosis* em, respectivamente, 25% e 20% de pacientes com concentrações plasmáticas de RMP <4mg/L e >4mg/L. MICs para RMP foram disponíveis para 43 isolados de

*M. tuberculosis*. O MIC para RMP foi  $>1$  mg/L em dois pacientes (resistência, 4,6%), entre 0,5 e 1 mg/L em 20 pacientes (intermediário, 46,5%) e  $<0,5$  mg/L em 21 pacientes (sensível, 48,8%). A relação média  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  para RMP foi 9,7 (variando de 0-48,8). Em 64% dos pacientes com nível de RMP  $<4$  mg/L e em 16% dos pacientes com nível de RMP  $>4$  mg/L, o  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  foi  $<10$  ( $p=0,018$ ). RMP requer alta razão  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  para ótima atividade. Como expresso anteriormente, com uma  $C_{\text{máx}}>8$  mg/L e um MIC normal de 0,25 mg/L, o  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  estimado será  $>32$  (DOUGLAS, McLEOD, 1999). No estudo de Van Cravel, o  $C_{\text{máx}}/\text{MIC}$  foi  $<10$  em 50% dos casos. Os autores concluíram que o significado clínico desses achados não estava ainda claro e que investigações adicionais seriam necessárias para avaliar a biodisponibilidade de drogas antituberculose.

Peloquin (2002) revisou diversos aspectos da biodisponibilidade das drogas antituberculose e sugere a necessidade do monitoramento dessas drogas, especialmente em pacientes que demoram a responder ao tratamento, que têm TB com bacilo resistente a drogas, que têm maior risco de interação de drogas e são portadores de co-morbidades que podem complicar suas situações clínicas. O objetivo desse monitoramento seria aumentar a dose administrada da droga antituberculose, caso sua concentração sérica estivesse abaixo de 75% do normal esperado. Essa representaria uma intervenção precoce que teria impacto positivo no tratamento individual do paciente e no controle da transmissão da TB e do desenvolvimento de multirresistência.

Gurumurthy *et al.* (2004) avaliaram 13 pacientes com TB pulmonar, 13 com infecção por HIV e 15 com coinfeção HIV-TB. Os autores encontraram evidência definitiva de má absorção de drogas antituberculose, especialmente de RMP, em pacientes com aids associada a diarreia e evidência de infecção por *Criptosporidium*. A biodisponibilidade para INH também estava comprometida. Para EMB e PZA foi observada redução, embora com menor repercussão.

Outro estudo mostrou que baixas concentrações séricas de RMP e INH foram encontradas tanto em pacientes infectados como não infectados pelo HIV (Human Immunodeficiency Vírus) ( $p = 0,07$ ), mas eram associadas com: tempo de

sintomas  $\leq$  quatro semanas, linfadenopatia, e baixos níveis de albumina sanguínea ( $p < 0,05$ ) (TAPPERO *et al.*, 2005).

McIlleron *et al.* (2006) dosaram RMP INH, PZA e EMB de 139 pacientes internados em razão de resposta inadequada ao tratamento, suspeita de não-adesão, caquexia, doença grave ou suas complicações ou situação socioeconômica desfavorável. 10% desses pacientes tinham infecção associada por HIV. Os autores discutem a associação dos baixos níveis de RMP e EMB com a infecção por vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Fatores relacionados à formulação da droga estavam associados à biodisponibilidade de RMP e INH. Mulheres tiveram concentrações mais elevadas de RMP e INH e mais baixas de EMB. Pessoas mais velhas tiveram níveis mais altos de INH e EMB. Pessoas com história de tratamento prévio com drogas antituberculose apresentaram concentrações menores de EMB. A dose por quilograma de peso associou-se com a concentração em cada uma das quatro drogas. O estudo enfatiza a necessidade de novas pesquisas que avaliem as implicações da variação das concentrações das drogas antituberculose na eficácia e segurança do paciente, antes de modificar a estratégia de dosagem.

Graham *et al.* (2006) estudaram crianças com idade média de 5,3 anos em tratamento para TB, com o objetivo de avaliar a farmacocinética da PZA e do EMB. Vinte e sete delas usavam PZA três vezes por semana e 18 usavam EMB três vezes por semana. Os autores observaram concentrações baixas de ambas as drogas em todas as crianças. As concentrações máximas de PZA em crianças de menos de cinco anos de idade foram significativamente menores do que em crianças de mais de cinco anos. Essas concentrações máximas de PZA também foram menores em crianças infectadas por HIV e com desnutrição grave.

Pinheiro *et al.* (2006) observaram redução da concentração sérica de drogas antituberculose e alterações na permeabilidade intestinal em pacientes com TB pulmonar ativa tratados em Maracanaú, no Ceará. Realizou-se estudo transversal com 41 pacientes com TB pulmonar ativa e 28 adultos saudáveis utilizando o teste L/M. A biodisponibilidade foi avaliada duas horas após a ingestão dos medicamentos em 18 pacientes que receberam dose plena de RMP e INH. A

excreção de manitol e lactulose estava significativamente reduzida nos pacientes com TB e a concentração das drogas também estava significativamente reduzida, sugerindo que a alteração na absorção intestinal poderia explicar a baixa concentração das duas drogas.

Comparado com a década de 1990, o MTD tem se tornado mais largamente aceito, embora uma variedade de opiniões ainda exista. A primeira questão é a seleção dos melhores candidatos para MTD e, tipicamente, esses são os doentes mais graves ou os que são lentos para responder ao tratamento. Programas de TB, geralmente, não têm grandes fontes de financiamento e são forçados a ser bem cuidadosos com o que eles têm. Assim, aplicar dinheiro em MTD não é adotado entusiasticamente, no entanto, o custo do MTD empalidece em comparação com o do retratamento para TB, e, para TBMR, pode não haver opções de retratamento. Idealmente duas amostras devem ser coletadas. Para apenas uma dosagem, o horário mais informativo é duas horas após a ingestão da medicação, no entanto, um valor baixo duas horas pós-dose não distingue entre absorção retardada ou má absorção. Uma segunda amostra seis horas pós-dose pode fazer essa distinção e ainda dá informações sobre o *clearance* e a meia-vida, assumindo-se a noção de que a absorção da droga foi completa com duas horas (PELOQUIN, 2002; PELOQUIN, 2004). As recomendações para MTD são:

- pacientes negativos para o HIV com TB sensível e assegurada adesão ao tratamento que falham na resposta ao tratamento convencional um a dois meses após o início;
- pacientes recebendo tratamento para TBMR, já que muitas das drogas de segunda linha têm janela terapêutica estreita;
- pacientes com infecção pelo HIV, não somente pela má absorção, mas também porque esses pacientes fazem múltiplas terapias e MTD permite o ajuste de dosagens em resposta às interações medicamentosas que podem aumentar a eliminação das drogas antituberculose;
- pacientes com patologias gastrintestinais; e
- pacientes com doença renal ou hepática, com o objetivo de evitar toxicidade.

Desde que concentrações séricas são apenas uma das diversas variáveis clinicamente relevantes, isoladamente elas não podem prever o desfecho dos tratamentos. Combinada com bons cuidados clínicos, entretanto, MTD permite aos clínicos maximizar a probabilidade de sucesso para pacientes com TB e TBMR (PELOQUIN, 2004).

Avaliação de serviço que usou MTD por dois anos, fazendo apenas uma dosagem sangüínea duas horas após a ingestão da RMP e INH, encontrou: 46% com níveis sangüíneos de RMP abaixo do limite terapêutico inferior e dois por cento acima do limite superior, para INH 48% abaixo do limite terapêutico inferior e 29% acima limite superior. O serviço foi considerado de valor por 80% dos que responderam ao questionário e foram necessários aumento de dose em 10% dos pacientes e redução da dose em sete por cento (RAY; GARDINER; MARRIOTT, 2003).

#### 1.2.4 Uso do monitoramento terapêutico da tuberculose multirresistente

Pouco é conhecido sobre a aplicação de MTD em TBMR na prática da clínica. Estudo retrospectivo comparou as características clínicas e demográficas de pacientes com TBMR que receberam MTD com os que não receberam. 49 pacientes que receberam MTD tiveram mais tempo para a conversão da cultura e maior duração do tratamento, maior associação de TB pulmonar com extrapulmonar, maior número de resistência às drogas e mais visitas ao serviço de saúde ( $p < 0,05$ ) que os 60 pacientes sem MTD. A resposta clínica ao MTD variou com a apresentação clínica (gravidade dos casos) do paciente e concluiu-se que normas específicas para o uso do MTD poderiam maximizar os benefícios do MTD (LI *et al.*, 2004).

### 1.3 Função da barreira intestinal

Absorção intestinal adequada depende de fatores diversos, incluindo a mistura mecânica, produção e atividade de enzimas, função apropriada da mucosa, irrigação sangüínea conforme, motilidade intestinal e ecologia microbiana normal (OWENS; GREENSON, 2007).

Em condições fisiológicas, o epitélio do intestino delgado representa uma barreira que impede a entrada, no organismo, de solutos, microrganismos e antígenos luminais. Essa barreira, entretanto, também tem a função de apresentar alguns antígenos de bactérias intestinais, promovendo a maturação do sistema imune e a evolução da imunotolerância, para a composição de uma resposta inflamatória adequada à infecção (LAUKOETTER; BRUEWER; NUSRAT, 2006).

No intestino, uma só camada de células epiteliais faz a interface do compartimento tissular com o ambiente luminal. As células epiteliais são unidas por uma série de junções intercelulares. O movimento de líquidos e de solutos através das células epiteliais polarizadas pode ocorrer tanto por via transcelular quanto por via paracelular. A junção intercelular mais apical é denominada de complexo junctional apical, composto por zona de oclusão (*tight junction*) e zona de adesão (*aderens junction*). A zona de oclusão é uma passagem semipermeável que regula o movimento passivo de líquidos luminais e solutos através da via paracelular. Também limita a passagem de proteínas e lipídios e contribui para a manutenção da polarização da membrana. A zona de adesão é importante para regular a adesão intercelular (LAUKOETTER; BRUEWER; NUSRAT, 2006).

Placas protéicas compõem verdadeiras pontes citoplasmáticas nas zonas de oclusão (*tight junctions*). As principais proteínas transmembrana são representadas pelas ocludinas, claudinas, moléculas de adesão funcional, receptor de adenovírus e coxsackievírus e E-caderina. Claudina é importante na permeabilidade da junção intercelular. O papel das outras proteínas ainda não está bem definido (LAUKOETTER, BRUEWER E NUSRAT, 2006).

### 1.3.1 Função intestinal em diversas situações

A permeabilidade intestinal é definida como um fluxo de solutos através de uma unidade de área de membrana, em um tempo determinado. O conceito de permeabilidade, portanto, refere-se à facilidade com que essa barreira intestinal é transposta. Normalmente é aplicada para a passagem, por difusão, de moléculas com massa acima de 150 daltons (LIMA, 1998) e deve ser diferenciada da função de

absorção de água e nutrientes do intestino, que implica consumo de energia e cujo objetivo principal é a nutrição do ser humano.

A permeabilidade intestinal não parece ser influenciada por idade, raça ou fatores hereditários (TRAVIS; MENZIES, 1992; BARBOZA Jr *et al.*, 1999). A avaliação da permeabilidade intestinal e da capacidade absorptiva é foco de investigação de muitos pesquisadores.

Inúmeros estudos documentam alterações da permeabilidade intestinal em situações clínicas diversas, tais como efeito de dietas, hormônios, uso de drogas (BJARNASON, 1994), alcoolismo (HIRSCH *et al.*, 1997), desnutrição (FERRARIS; CAREY, 2000), pós-trauma (LANGKAMP-HENKEN *et al.*, 1995), na cirrose hepática (ERSOZ, 1999) e em várias doenças intestinais, como doença celíaca (PEARSON *et al.*, 1982; JOHNSTON; SMYE; WATSON, 2001a; JOHNSTON *et al.*, 2001b) doenças diarréicas (BARBOZA Jr *et al.*, 1999), doença de Crohn (MEDDINGS, 1997), doenças intestinais bacterianas, parasitárias ou fúngicas crônicas e ainda em doenças não intestinais, como na AIDS (LIMA *et al.*, 1997), sarcoidose (WALLAERT *et al.*, 1992), asma (BENARD *et al.*, 1996), doenças alérgicas (LAUDAT *et al.*, 1994) entre outras, contudo, os determinantes da alteração da permeabilidade intestinal em cada uma dessas situações não estão ainda claramente definidos. Da mesma forma, as possíveis repercussões que as alterações de permeabilidade possam ter com a absorção de drogas ainda estão pouco estudadas.

### 1.3.2 Medida da absorção intestinal

As drogas antituberculose utilizadas no tratamento de primeira linha são administradas por via oral. Desse modo, para que tenham atuação adequada nos locais onde se alojam os bacilos, precisam ser bem absorvidas pela mucosa intestinal, ter boa concentração sanguínea e ser transportadas na quantidade apropriada.

A pesquisa de substâncias reductoras nas fezes é utilizada há longo tempo como marcador grosseiro da redução da capacidade absorptiva da mucosa intestinal, sendo um indicador indireto de lesão não específica da mucosa intestinal ou de

deficiência congênita de dissacaridases intestinais (lactase e sacarase), capaz de reduzir sua capacidade absorptiva. Fornece porém, poucas informações sobre possíveis alterações dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na regulação da permeabilidade intestinal.

A seleção de um método para a avaliação da permeabilidade intestinal deve ser baseada no conhecimento das propriedades da(s) substância(s)-teste a ser(em) utilizada(s), bem como no entendimento das vias de permeação intestinal, além da avaliação dos outros fatores que possam alterar o seu resultado final.

A substância-teste ou marcador ideal para a avaliação da permeabilidade intestinal, uma vez ingerida por via oral, deve ser atóxica, inerte, não degradada por bactérias intestinais, ser hidrossolúvel e atravessar a barreira intestinal obedecendo à lei da difusão. Deve seguir preferencialmente o padrão de cinética de primeira ordem, não ser metabolizada após sua absorção e ser facilmente recuperada nos fluidos biológicos. Caso vá ser recuperada e dosada na urina, de preferência não deve ser secretada nem reabsorvida pelos túbulos renais.

Testes de integridade intestinal com xilose e lactulose/manitol são utilizados. O teste de xilose foi empregado em 29 pacientes com aids e tuberculose e 15 com tuberculose sem aids para avaliar a hipótese de redução da biodisponibilidade de rifampicina, isoniazida e pirazinamida nos pacientes com a co-infecção HIV/TB (CHOUDHRI *et al.*, 1997). O estudo evidenciou baixa absorção de xilose nos dois grupos, sem diferença na biodisponibilidade.

Marcadores singulares avaliam apenas uma via de absorção, isto é, a via transcelular ou a via paracelular. Por esse motivo, concede-se preferência à utilização de testes com substâncias combinadas. A determinação de mono e poli-açúcares excretados na urina progrediu na década de 1990, quando se passou a utilizar a metodologia de cromatografia líquida de alta pressão com detecção de pulso amperométrico (High Performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection, HPLC-PAD). Esta metodologia permite a análise direta de várias moléculas de açúcares com alta sensibilidade e é utilizada por vários



investigadores (BARBOZA JÚNIOR *et al.*, 1999; LUNN; NORTHROP-CLEWES; DOWNES, 1991a, 1991b; LIMA *et al.*, 2005).

O teste diferencial de absorção de açúcar é um teste não invasivo, que foi validado por estudos com biopsias, cujas especificidade e sensibilidade para atrofia severas das vilosidades são, respectivamente, 98% e 95% (NATHAVITHARANA *et al.*, 1988). A lactulose e o manitol consolidaram-se nos últimos anos como substâncias-teste preferenciais (TRAVIS; MENZIES, 1992; BAO *et al.*, 1996; BARBOZA Jr. *et al.*, 1999) por terem tamanhos moleculares diferentes, por serem moléculas hidrossolúveis, lipofóbicas, inertes e praticamente desprovidas de afinidade pelo sistema transportador de glicídios da mucosa intestinal. Ademais, lactulose e manitol são absorvidos quase que exclusivamente por difusão e, por não serem metabolizados nem serem alvo de degradação pelas bactérias presentes no intestino, são excretados e recuperados praticamente intactos na urina.

A lactulose é um dissacarídeo com peso molecular de 342 daltons. É composto por galactose e frutose. Sua absorção ocorre principalmente através das junções intercelulares e zonas de extrusão dos espaços intervilosos, quando ocorre morte da célula da mucosa intestinal. Praticamente não é absorvida através dos enterócitos. Serve como marcador do transporte paracelular, refletindo a integridade da mucosa intestinal. A recuperação urinária desse açúcar, em condições normais, é mínima. Depois de cinco horas de administração oral de cinco gramas, a média da recuperação urinária, em indivíduos normais, é de 0,25% (NOONE *et al.*, 1986).

O manitol é um monossacarídeo com peso molecular de 182 daltons. É facilmente absorvido por difusão através da parte hidrófila da membrana dos enterócitos. Serve como um marcador do transporte transcelular. Em indivíduos normais, é recuperado em maiores quantidades na urina. Após cinco horas de administração oral de um grama, a média da recuperação urinária, em indivíduos normais, é de 16,8% (TRAVIS; MENZIES, 1992).

A base teórica do teste é que a quantidade de manitol recuperada na urina dá uma indicação da área da superfície de absorção do intestino delgado, por ser o manitol absorvido passivamente através da mucosa; enquanto a quantidade de

lactulose excretada na urina aponta para a funcionalidade das junções intercelulares, uma vez que a lactulose não é absorvida pelo enterócito e apenas uma pequena porção é absorvida por via paracelular no intestino delgado sadio. Quando existe lesão de mucosa, a lactulose cruza a barreira funcional intestinal em maior quantidade (FORD *et al.*, 1985). Se a taxa de excreção urinária do manitol é baixa, significa que a absorção de pequenas moléculas pode estar comprometida e infere-se uma redução da área mucosa absorptiva. Se a taxa de excreção da lactulose está alta, é indicativa do aumento da permeabilidade intestinal a grandes moléculas, o que pode refletir alteração na barreira seletiva intestinal regulada pelas zonas de oclusão entre os enterócitos (*tight junctions*).

No organismo, esses açúcares se mantêm no líquido extracelular e são rapidamente excretados, inalterados nos rins (ELIA *et al.*, 1987), conseqüentemente a quantidade excretada na urina reflete a quantidade que passa pelo epitélio intestinal.

Em vez de analisar separadamente os valores da lactulose e do manitol, a maioria dos autores prefere exprimir o resultado final do teste como a razão da taxa de excreção urinária de lactulose / taxa de excreção urinária de manitol, em virtude dos valores isolados de cada açúcar poderem ser afetados por parâmetros fisiológicos (LIFSCHITZ; SHULMAN, 1990). A quantidade de cada açúcar na urina é dosada cinco horas após a ingestão da solução de lactulose/manitol e a relação lactulose/manitol é calculada.

O teste de lactulose/manitol (L/M) foi validado e utilizado em vários estudos. Demonstrou disfunção e lesão intestinal em pacientes portadores de infecção por HIV (LIMA *et al.*, 1997), mesmo na ausência de diarreia, sendo mais evidente quando havia associação com criptosporidiose ou microsporidiose. Barbosa Jr. *et al.* (1999) evidenciaram comprometimento da integridade intestinal de crianças cearenses com doenças diarreicas. Brantley *et al.* (2003), estudando pacientes portadores de HIV/AIDS acompanhados no Hospital São José de Doenças Infecciosas em Fortaleza-Ceará, demonstraram importante redução nas concentrações sanguíneas de estavudina e didanosina em pacientes portadores de infecção por HIV com diarreia, quando comparados a pacientes sem diarreia,

evidenciando a relação entre alterações intestinais e a biodisponibilidade de drogas. Buschen *et al.* (2004) demonstraram melhora da biodisponibilidade de drogas utilizadas para tratamento anti-retroviral com o uso de alanil-glutamina e de glutamina. Lima *et. al.* (2007) evidenciaram restauração da barreira funcional intestinal de crianças desnutridas com o uso de alanil-glutamina.

Na realidade, poucos são os estudos na literatura avaliando a relação entre as alterações na função intestinal e a extensão de absorção de drogas determinada por estudos farmacocinéticos (CHIOU, 1995). Um dos mais importantes achados está no fato de que existe boa correlação entre a medida efetiva da permeabilidade intestinal humana por técnicas de perfusão intestinal e a extensão da absorção de drogas medida por estudos farmacocinéticos em humanos.

#### **1.4 Justificativa**

A TB continua sendo uma doença de alta endemicidade nos países menos desenvolvidos, onde a baixa renda, a pobreza, a fome, a aglomeração e a precariedade da atenção à saúde são freqüentes. No Brasil e no Ceará, a TB nunca deixou de ser um problema de saúde pública.

Com o advento da aids e a piora das condições socioeconômicas de parte da população dos países desenvolvidos, a TB voltou a ser um problema importante nessas nações o que, associado à alta prevalência em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, fez com que, em 1993, a Organização Mundial de Saúde a considerasse uma “Emergência Global” (ZUMLA *et al.*, 1999).

Existem poucas opções de drogas para o tratamento da TB e estas precisam ser administradas, diariamente, no mínimo, por seis meses, num esquema de três ou quatro drogas nos primeiros dois meses e com efeitos colaterais peculiares a cada droga. Essa situação dificulta muito a adesão do paciente, aumentando o risco de resistência.

Embora possa existir resistência primária a drogas utilizadas para o tratamento da TB, na maioria das vezes, ela está relacionada ao uso irregular dos medicamentos, por diversos motivos, o que, em última análise, significa exposição do bacilo a baixas doses da droga. Além do mais, mesmo sendo tomada de forma adequada, pode não atingir concentrações terapêuticas no pulmão, acarretando o risco de desenvolvimento de resistência (PELOQUIN, 1997, TAPPERO *et al.*, 2005).

Existem várias possibilidades de a droga não atingir concentrações terapêuticas, mesmo com a adesão do paciente: quando não há concentração suficiente da droga no comprimido, quando há interação com outras drogas ou quando não há boa absorção da droga no intestino delgado (STORPIRTIS *et al.* 2004).

Problemas com a permeabilidade intestinal, desnutrição e absorção de drogas são estudados. O teste de L/M demonstrou disfunção e lesão intestinal em pacientes portadores de infecção por HIV (LIMA *et al.*, 1997) mesmo na ausência da diarreia. Barbosa Jr. *et al.* 1999 evidenciaram comprometimento da integridade intestinal de crianças cearenses com doenças diarreicas. Brantley *et al.*, 2003, estudando pacientes portadores de HIV/AIDS acompanhados no Hospital São José de Doenças Infecciosas em Fortaleza-Ceará, demonstraram importante redução nas concentrações sanguíneas de estavudina e didanosina em pacientes portadores de infecção por HIV com diarreia, quando comparados a pacientes sem diarreia, evidenciando a relação entre alterações intestinais e a biodisponibilidade de drogas. Bushen *et al.* (2004) demonstraram melhora da biodisponibilidade de drogas utilizadas para tratamento anti-retroviral com o uso de alanil-glutamina e de glutamina. Em Lima (2006) e Lima *et al.* (2007), ficou demonstrada a restauração da barreira intestinal funcional de crianças desnutridas residentes em Fortaleza, com o uso de alanil-glutamina.

Estudo-piloto sobre a permeabilidade intestinal e a biodisponibilidade de RMP e INH em pacientes com TB pulmonar ativa, atendidos no Hospital de Maracanaú-CE, mostrou a redução da biodisponibilidade das drogas e alterações na permeabilidade intestinal (PINHEIRO, 2006). Esse foi o primeiro registro de estudo de biodisponibilidade de drogas realizado em pacientes com TB no Brasil. A

população de pacientes estudados, a maioria hospitalizados, foi uma amostra dos pacientes mais graves.

Em 17 de agosto de 2007, foi realizada defesa de tese de estudo semelhante ao anterior, só que então com quatro diferenças: 1) foram estudados pacientes ambulatoriais, 2) foram dosadas as três drogas de primeira linha utilizadas no Brasil para o tratamento da TB; RMP, INH e PZA; 3) foram realizadas dosagens sanguíneas duas e seis horas após a ingestão das drogas e; 4) foram avaliados controles sãos. Foram estudados 56 pacientes com TB pulmonar ativa e 29 controles sãos. Quatro (13,3%) casos não chegaram a alcançar os limites mínimos das  $C_{máx}$ s normais esperadas de nenhuma das drogas de primeira linha para o tratamento da TB; 21 (70,0%) alcançaram essa  $C_{máx}$  apenas para uma droga (PZA) e cinco (16,7%) apenas para duas drogas (PZA e INH). Nenhum caso alcançou as  $C_{máx}$ s normais esperadas para as três drogas, simultaneamente. Esses resultados, sugeriram redução da absorção paracelular entre os pacientes com TB bem como má absorção intestinal de RMP e INH (FAÇANHA, 2007).

A TB está associada à desnutrição e esta à alteração na barreira funcional intestinal, o que pode levar a um maior risco na absorção de drogas antituberculose. Trabalhos mostram diminuição na absorção intestinal e baixos níveis séricos de RMP e INH em portadores de TB sensível (TBS) mas nenhum em TBMR. A alteração na função intestinal associada a baixos níveis séricos de RMP e INH pode ser fator de risco para TBMR. Desse ponto de vista, trabalhou-se com a hipótese de haver diferença nesses parâmetros quando se comparar grupo com TBMR, grupo com TBS e grupo de voluntários sãos (VS).

## **2 OBJETIVOS**

Esta tese tem como objetivo geral verificar a existência da disfunção da barreira intestinal e avaliar as concentrações séricas da RMP e INH em pacientes com TBMR.

### **2.1 Objetivos primários**

a) Avaliar a barreira funcional intestinal em pacientes portadores de TBMR e TBS.

b) Verificar as concentrações séricas, duas e seis horas (após a ingestão) e as concentrações máximas de RMP e INH em portadores de TBMR e TBS.

### **2.2 Objetivos secundários**

a) Estudar a função intestinal em portadores de TBMR e comparar com VS.

b) Verificar as concentrações séricas, duas e seis horas (após a ingestão) e as concentrações máximas de RMP e INH em portadores de TBMR e VS.

c) Comparar a barreira funcional intestinal dos portadores de TBS com a do grupo de VS.

d) Comparar as concentrações séricas, duas e seis horas (após a ingestão) e as concentrações máximas de RMP e INH, dos portadores de TBS com as do grupo de VS.

e) Determinar a influência de co-fatores na avaliação da absorção intestinal, nos portadores de TBMR, TBS e VS.

f) Pesquisar a influência de co-fatores sobre as concentrações séricas de RMP e INH nos portadores de TBMR, TBS e VS.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Considerações éticas**

O estudo respeitou a Declaração de Helsinque (1965) e as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa em Seres Humanos, conforme as Resoluções n<sup>os</sup>. 196/96, 251/97 e 292/99 do Conselho Nacional de Saúde/ Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O projeto de pesquisa, o questionário e o termo de consentimento foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Messejana (HM), credenciado pelo CONEP e aprovado em 04-04-2006 (**ANEXO G**).

Todos os voluntários foram informados verbalmente e por escrito dos objetivos do estudo, dos possíveis riscos e desconfortos a que se submeteriam, que sua colaboração seria totalmente voluntária, tanto no aspecto do ingresso no estudo quanto a não haver recompensa financeira pela participação, e à liberdade para se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo de seu tratamento na unidade de saúde. A coleta de dados e amostras para exames só foi iniciada após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**ANEXO H**).

O livre acesso às informações e esclarecimentos sobre etapas, métodos e aos resultados de seus exames foi assegurado a cada voluntário participante do estudo.

#### **3.2 Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo caso-controle, em que os casos são os portadores de TBMR e os controles os portadores de TBS e também os VSs.

### 3.3 Local de realização

O estudo realizou-se no Ambulatório de Tisiologia do HM (ATHM)/Secretaria de Saúde do Estado do Ceará. O HM é um hospital de ensino, terciário, com cerca de 220 leitos, referência no Ceará para doenças do tórax, TBMR e casos de TB de manejo difícil. No ATHM são lotados dois pneumologistas, uma enfermeira, uma assistente social e um auxiliar de enfermagem. Como incentivo ao tratamento da tuberculose, são fornecidos vales transportes e cestas básicas.

Desde 1994, pacientes com TBMR vinham sendo tratados e acompanhados no Ambulatório de Tisiologia do HM e Enfermaria e Ambulatório de Tisiologia do Hospital de Maracanaú. No ano 2000, o HM passou a ser referência estadual para TBMR. Desde então, 151 portadores de TBMR já foram matriculados, incluindo-se aí apenas os casos que se enquadram na definição nacional para TBMR (resistência *in vitro* a pelo menos RMP+INH e mais um dos medicamentos dos esquemas I, IR e III ou resistência a RMP+INH e falência operacional ao E III) (SBPT, 2004).

Pacientes com TBS oriundos das Enfermarias e Ambulatório de Pneumologia, Emergência, Serviço de Cirurgia Torácica e até da Enfermaria de Cardiologia são encaminhados ao Ambulatório de Tisiologia. Alguns são tratados aí, enquanto outros são encaminhados para serviços de saúde próximos as suas residências.

Os voluntários sem TB foram recrutados entre os profissionais de saúde do mesmo setor onde se realizou a pesquisa e pessoas de suas relações familiares, de trabalho e vizinhança.

### 3.4 População

A população estimada do Estado, pelo IBGE, em 2005, foi 8.097.276 habitantes. Houve um total de 41.073 casos de TB notificados no Ceará, no período de 1990 a 1999 (BARROSO *et al.*, 2001). Em 2005, o total de casos novos de todas



as formas foi 4.104 com uma taxa de incidência de 50,7/100.000 habitantes (CEARA, 2007).

#### 3.4.1 População-alvo

A população-alvo foi constituída por pacientes com diagnóstico de TBMR e TBS em acompanhamento no HM e também por VSs.

#### 3.4.2 Definição dos grupos

TBMR foi definida como o caso de portador de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a pelo menos rifampicina e isoniazida, resistência essa detectada pelo TSA realizado no LACEN-CE pelo Método das Proporções Indiretas, de Canetti *et al.* (1963).

TBS foi definida como o portador de *Mycobacterium tuberculosis* sensível às quatro drogas testadas pelo LACEN-CE: RMP, INH, SM e EMB.

O VS foi considerado sadio com base na história clínica e exames de laboratório, incluindo hemograma completo, glicemia, creatinina sérica, bilirrubinas séricas, transaminases, proteínas totais e frações, parasitológico de fezes e teste anti-HIV, neste último ítem para os que concordaram com a realização do exame.

### 3.5 Recrutamento da amostra

De agosto de 2006 a abril de 2007, pacientes e voluntários sadios foram convidados a participar da pesquisa.

#### 3.5.1 Critérios de inclusão

- Preenchimento dos critérios que definiam os três grupos de estudo (acima);
- idade acima de 15 anos; e
- concordância na participação do estudo.

### 3.5.2 Critérios de exclusão

- Ausência de isolamento de *Mycobacterium tuberculosis* em cultura de espécime clínico;
- identificação de MNT em espécime clínico;
- história de intolerância à RMP e/ou INH;
- idade menor do que 15 anos;
- comprovação ou declaração de ser portador de neoplasia maligna, doença intestinal inflamatória crônica, gravidez, insuficiência renal ou hepática ou qualquer outra doença grave; e
- discordância em participar do estudo.

### 3.5.3 Critérios de retirada

- Decisão pessoal do paciente em não continuar participando do estudo;
- não-fornecimento das duas amostras do sangue ou da urina; e
- impossibilidade das dosagens de RMP ou INH ou do teste L/M.

## 3.6 Protocolo clínico

### 3.6.1 Triagem dos voluntários

Foi feito estudo inicial quanto à distribuição por gênero e faixas etárias (16 – 25, 26 – 35, .....66 - 75) do grupo portador de TBMR, já em acompanhamento no serviço. Os portadores de TBS foram sendo selecionados, fazendo-se emparelhamento, por gênero e idade, entre os que estavam em tratamento e consecutivamente entre os que foram sendo inscritos no ambulatório, até que se alcançasse 40 controles com TBS (Vide item 3.9.1).

Para a formação do grupo de VSs, foi também feito o emparelhamento por gênero e faixas etárias até que se atingisse o mesmo número.

A proporção de indivíduos nos três grupos deveria ser, portanto, 40:40:40.

A pesquisa foi feita concomitantemente nos três grupos, sempre se respeitando sua individualidade quanto ao agendamento dos dias de estudo. As atividades da pesquisa foram desenvolvidas em dias em que não são agendadas consultas rotineiras do Ambulatório de Tisiologia.

Todos os voluntários foram entrevistados para detecção de parâmetros que determinassem a exclusão da seleção. Foi-lhes perguntado sobre gestação atual, doença gastrintestinal e outras patologias graves, como insuficiência renal, hepática e neoplasia. À semelhança dos voluntários com TB, os voluntários sadios que responderam de forma positiva a qualquer dessas questões foram excluídos do estudo. Os critérios de retirada do estudo utilizados para os voluntários sadios foram os mesmos utilizados para os voluntários com TB.

### 3.6.2 Coleta de informações clínicas e sociais

Foi preenchido um questionário clínico-epidemiológico de cada voluntário admitido ao estudo (**APÊNDICE A**). Inicialmente identificaram-se o local da coleta de informações e entrevistador, havendo-se também atribuído um código numérico para o entrevistado.

A coleta dos dados sociodemográficos, precedida pela assinatura do termo de consentimento, foi realizada com a privacidade necessária, pela única assistente social da equipe, previamente treinada pela pesquisadora responsável pelo estudo. Os demais indicadores foram recolhidos pela responsável pelo estudo.

#### DEFINIÇÕES DO QUESTIONÁRIO

A renda familiar foi expressa em salários mínimos (sm).

Quanto à escolaridade, considerou-se:

- analfabeta – pessoa que não escreve o nome ou, se o faz, não sabe ler nem escrever.

- alfabetizada – pessoa que sabe ler e escrever, mas cursou menos da metade do 1º Grau.

- 1º Grau – pessoa que cursou mais da metade do 1º grau.

- 2º Grau – pessoa que cursou mais da metade do 2º grau.

- nível superior – pessoa que cursou mais da metade do curso superior.

Alcoolismo grave – ingestão de mais do que 14 doses por semana para homens e mais do que 07 doses para mulher, sendo a dose definida como um conteúdo de 12g de álcool, ou seja: 45ml de cachaça ou uísque, 180ml de vinho ou 360ml de cerveja (O'CONNOR; SCHOTTENFELD, 1998).

Alcoolismo leve – ingestão de bebidas alcoólicas em quantidades menores que as especificadas para o alcoolismo grave.

Tabagismo – consumo de um ou mais cigarros/dia por mais de um ano. A intensidade do tabagismo foi medida através de “anos-maço” (am), assim definidos:  $n^{\circ}$  de cigarros /dia x  $n^{\circ}$  de anos de tabagismo ÷ 20 (FAHN *et al.*, 1998).

Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) – relato de ser portador de uma das seguintes doenças – asma, bronquite crônica, enfisema pulmonar, bronquiectasias ou fibrose cística (ANDREOLI *et al.*, 1997).

HIV – pessoa com duas sorologias (+) sem patologias associadas (BRASIL, 1999).

Aids – paciente já expressando um conjunto de desordens causadas por disfunção imune celular e humoral resultante da infecção pelo HIV (BRASIL, 1999).

Diabetes – relato do próprio paciente de ser diabético ou glicemia > 127mg/dl (CHANG *et al.*, 1998).

Drogas ilícitas – relato do paciente, de membro familiar ou de prontuário de uso de drogas ilícitas.

Doenças psiquiátricas – relato do paciente, de membro familiar ou do prontuário de tratamento psiquiátrico ou uso de drogas controladas.

Quadro radiológico – a classificação foi feita pela pesquisadora responsável pelo estudo, tomando como base exames radiológicos simples do tórax dos pacientes, datados do início do último tratamento, para TBMR ou TBS.

Bacteriologia atual – era o *status* bacilar dentro de um período menor do que um mês, antes ou após o dia da pesquisa. Foram consideradas várias situações em relação à baciloscopia e à cultura para BK e dada uma pontuação, a seguir:

- BAAR (-), cultura para BK (-) = 0
- BAAR (-), cultura para BK (+) = 1
- BAAR (+), cultura para BK (+) = 2
- BAAR (+), cultura não realizada = 3
- BAAR (-), cultura não realizada = 4
- Sem expectoração = 5
- BAAR (+), cultura para BK (-) = 6
- Não realizados BAAR nem cultura = 7

TSA – data do primeiro TSA que diagnosticou o caso de TBMR e para os sensíveis, data do TSA do início do tratamento atual.

Características dos tratamentos – foram analisados os três primeiros tratamentos, porque se chegou à conclusão de que seria o suficiente para se ter um perfil real da qualidade desses tratamentos.

- Abandono de tratamento foi assim considerado quando o paciente passou mais de 30 dias sem tomar a medicação (MS, 1997).
- Tratamento regular foi considerado pelo autor quando não houve falha no uso da medicação, ou quando a falha ocorreu em menos de cinco dias consecutivos ou menos de dez dias alternados por mês.
- Tratamento irregular foi considerado pelo autor quando houve falha no uso da medicação por cinco ou mais dias consecutivos, ou dez ou mais dias alternados, desde que não atingisse 30 dias por mês.
- Intolerância medicamentosa foi considerada quando houve reação atribuída aos medicamentos, de ordem gastrointestinal, hepática, dermatológica, articular, neurológica, hematológica, renal ou quaisquer outras que levem à irregularidade ou abandono do tratamento (Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária - CNPS, 1997).

Número de tratamentos anteriores - número de tratamentos efetivados até o estudo.

Período entre o 1º tratamento de TB e o diagnóstico de TBMR (anos).

Período entre o diagnóstico de TBMR e o exame (dia da pesquisa) (anos).

P1TX= Período entre o 1º diagnóstico de TB e o exame (anos) (verificado o dia do mês:  $\leq 15$  dias= zero).

PTAX = período entre tratamento atual e o exame (semanas) ( $\leq 3$  dias = zero).

Foram relacionadas todas as drogas antituberculose utilizadas pelos pacientes com suas dosagens: amicacina (0,5 e 1 g), ofloxacina (400 e 800 mg), terizidona (500 e 750 mg), clofazimina (100 mg), etambutol (600, 800 e 1200 mg), pirazinamida (1, 1,5 e 2 g), rifampicina (450 e 600 mg), isoniazida (300 e 400 mg), estreptomicina (0,5 e 1 g) e etionamida (500 e 750 mg).

Peso habitual – o que o paciente informava ser seu peso normal.

Peso atual – peso medido no dia da pesquisa.

Diferença ponderal – percentual do peso atual em relação ao habitual.

Os demais itens do questionário serão mais detalhados nos próximos itens.

### 3.6.3 Avaliação do grau de nutrição

Os dados antropométricos dos voluntários foram obtidos por pesagem e por medição em balança antropométrica da marca Filizola.

O índice de massa corporal (IMC) foi um dos parâmetros de avaliação do estado nutricional. O IMC é aceito como padrão de medida internacional. A fórmula relaciona a altura com o peso do corpo de um indivíduo. Foram usados os valores de referência utilizados pela WHO (1995), sendo considerado: nutrido,  $IMC > 18,5 \text{ kg/m}^2$ ; desnutrido,  $16 \leq IMC \leq 18,5 \text{ kg/m}^2$ ; desnutrido severo,  $IMC < 16 \text{ kg/m}^2$ .

A fórmula de cálculo do IMC é:  $IMC = \text{Peso (kg)}/\text{altura (m)}^2$ .

O outro parâmetro utilizado para medir o estado nutricional foi a dosagem sérica de proteínas totais (Método Biureto, normal= 6,1-7,9 g/dl) e albumina (Método BCG, normal= 3,5-4,8 g/dl).

## 3.7 Procedimentos laboratoriais específicos

AVALIAÇÃO LABORATORIAL: HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO, RENAL, GLICÊMICO E ANTI-HIV

Esses exames foram realizados no laboratório do HM, que participa do programa CQ da SBPC (control LAB).

A avaliação hematológica foi feita com a utilização de “analisador automático” \*\*\*CELL – DYN 3.700\*\*\*.

Hemoglobina (normal = homem = 13,0-16,0 g/dl e mulher = 11,5-16,0 g/dl).

Leucócitos (normal = 4.000-10.000 unidades/mm<sup>3</sup>).

Linfócitos (normal= 20-40%).

A função hepática estimada pela dosagem de transaminases e bilirrubinas: Transaminase oxaloacética (Método IFCC, normal = 0,0 – 32,0 U/L).

Transaminase glutâmico pirúvica (Método IFCC, normal = 0,0 – 31,0 U/L).

Bilirrubina total (Método DPD, normal = 0,2 – 1,0).

Bilirrubina direta (Método DPD, normal = 0,1 – 0,3).

Bilirrubina indireta (Método REL, normal = 0,1 – 0,7).

A função renal foi avaliada dosando-se a creatinina sérica (Método Jaffé, normal 0,6 – 1,1).

Os níveis de glicemia sangüínea foram avaliados pelo método Trinder (normal = 70 – 126 mg/dl).

O anti-HIV foi pesquisado pelo método ELFA (Enzyme-linked fluorescent immunoassay).

### 3.7.1 Avaliação da absorção intestinal transcelular e paracelular

Para avaliação da absorção intestinal, foi utilizado o teste L/M pelo método descrito por Barboza *et al.* em 1999.

Os pacientes eram orientados a permanecer em jejum a partir da meia noite (**APÊNDICE B**). Uma hora após a ingestão dos medicamentos antituberculose, foi solicitado aos participantes que esvaziassem a bexiga e foi administrada a solução-teste de lactulose e manitol, em dose única, por via oral e sob supervisão da



pesquisadora responsável pelo estudo. A solução continha as formulações galênicas de 250 mg/mL de lactulose e 50 mg/mL de manitol, preparadas na dose de 5,0/1,0 gramas diluídas em 12,5 ml de água potável esterilizada, perfazendo um volume total de 20 mL.

A solução-teste fora acondicionada em frasco de vidro de tom âmbar do tipo 1 X 40 mL e mantida sob refrigeração (entre 2°C e 8°C) até seu uso.

Toda a solução-teste utilizada neste estudo foi preparada pelo Setor de Biotecnologia, do Instituto de Biomedicina (IBIMED), da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, dentro dos padrões internacionais de “Boas Práticas Clínicas” preconizados. O Dr. Domingos Ferreira, farmacêutico do IBIMED, e sua equipe, prepararam toda a solução-teste utilizada nesse estudo. A lactulose (Lactulona®) foi adquirida da Luitpold Produtos Farmacêuticos Ltda, São Paulo-SP, e o manitol, da Henri Farma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, São Paulo-SP.

Os frascos eram contados antes de serem eliminados para garantir que todos os voluntários tivessem feito uso da solução.

Foi solicitado aos voluntários que, durante as próximas cinco horas, coletassem urina em um recipiente estéril, devidamente identificado, destinado a esse fim e então a urina foi medida em proveta plástica, milimetrada, com capacidade para 1.000 mL. Ao se aproximar a última hora, os voluntários eram orientados para não urinarem para garantir a diurese exatamente ao se completar o período de cinco horas, quando se fazia a última coleta de urina. O fechamento das cinco horas de coleta foi monitorado rigorosamente pela pesquisadora responsável. A urina foi tratada com cloro-hexidina a 20% (anti-séptico utilizado como preservativo), na proporção de uma gota para cada 50 mL de urina. O total de diurese foi registrado. Após agitação manual da mistura, foram retiradas duas alíquotas de 4 mL, que foram colocadas em caixa resfriada, transportadas e estocadas a – 20°C no laboratório da Unidade de Pesquisas Clínicas (UPC) e IBIMED.

A técnica de cromatografia líquida de alta pressão com troca iônica acoplada com detecção amperométrica pulsada (HPLC-PAD) foi utilizada para a quantificação de lactulose e manitol na urina. Utilizou-se como padrão de análise a melibiose, adquirida no Laboratório Sigma (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA). O eluente utilizado para o HPLC-PAD foi o hidróxido de sódio a 50% (v/v).

Amostra de 50 µL da urina de cada voluntário foi diluída em 2.950 µL de água e filtrada por centrifugação por meio de uma membrana de acetato de celulose com espessura de 0,22 µm (Spin – X centrifuge filter Unit, Costar, Cambridge, MA, USA) dentro de um sistema CarboPac MA-1 de coluna de trocas aniônicas com coluna-guarda associada (250 mm X 40 mm) conectado a um sistema analisador de carboidratos BIOL C HPLC fornecidos pela Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA. A eluição foi feita isocraticamente com 480 nM NaOH a um fluxo de 0,4 mL/min, a temperatura ambiente. Um amperômetro pulsátil foi utilizado para a detecção de açúcares. Dionex BioAutolon 450 Data System adquirido junto à Dionex Corporation Sunnyvale, CA, USA foi utilizado para a análise dos produtos.

Os valores obtidos pela análise foram expressos em percentual de lactulose e manitol excretado na urina e a relação lactulose/manitol foi obtida pela divisão simples desses dois valores.

### 3.7.2 Verificação da bioequivalência das drogas utilizadas no estudo

As drogas utilizadas no estudo foram procedentes do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF) – Rio de Janeiro-RJ, órgão do Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde – MS, responsável pela epidemiologia da TB sensível e multirresistente no Brasil. O Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PCT) utiliza medicamentos que, normalmente, provêm de fonte aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Foi mantido contato com o diretor do Projeto *Management Sciences for Health* (MSH) – Joël Keravec, e com o diretor do CRPHF – Miguel Aihub Hijjar, nos dias 08 e 09/12/2005. Eles tomaram conhecimento do projeto de pesquisa e se prontificaram a fornecer os medicamentos para a pesquisa, de lote já examinado.

Em maio de 2006, houve esgotamento total de medicamentos anti-TB no Brasil, exatamente por problemas na qualidade da medicação.

Em 16/06/2006, entrou-se novamente em contato com o Dr. Joël Keravec, que orientou para se verificar quais os lotes de medicamentos disponíveis no Núcleo de Assistência Farmacêutica-NUASF-CE para que ele verificasse junto ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) se já haviam sido submetidos aos ensaios para controle de qualidade. Foram identificados, tendo-se solicitado e recebido os seguintes medicamentos:

- RMP+INH 300+200 – LOTE=05070501, Fab=07-2005, Val=07-2007 – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE e
- RMP+INH 150+100 - LOTE= 1885, Fab= 06-2004, Val=05-2007 – Indústria Química do Estado de Goiás - IQUEGO

O Dr. Joel Keravec constatou que esses lotes não haviam passado pelo controle de qualidade e afirmou que não valia a pena fazer os testes, pois pela sua experiência nos estudos já desenvolvidos, havia 80% de chance de se encontrar algum problema nos referidos medicamentos.

Entrou-se em contato com o diretor do CRPHF – Dr. Miguel Aiub Hijjar e Dr. Joël Keravec, novamente, que gentilmente forneceram todas as cápsulas de RMP<sub>150</sub>+INH<sub>100</sub> em DFCs, extraídas de lote que passara pelo controle e fora aprovado pelo INCQS. Haviam sido realizados, no contexto do programa de controle, os testes previstos na Farmacopéia Brasileira, conforme regulação da vigilância sanitária (teor e identificação do princípio ativo, uniformidade de conteúdo, aspecto, dissolução, peso médio e substâncias relacionadas)

Todos os pacientes receberam medicamentos do mesmo lote. O lote usado foi 05070517, RMP+INH, 150 e 100 mg respectivamente, do – LAFEPE (fabricação = julho-2005, validade = julho-2007). Cópias dos boletins completos de análise dos produtos, extraídos do sistema de gerenciamento de amostras do INCQS, estão em anexo (**ANEXO I**). Todos os ensaios foram satisfatórios, exceto o de rótulo, por um detalhe que não viria a interferir na pesquisa. Esses resultados são

garantia da conformidade dos produtos utilizados em relação aos ensaios regulamentários solicitados pela ANVISA para uso destes produtos no quadro do Programa de Verificação da Qualidade de Medicamentos (PROVEME), distribuídos na rede do Sistema Único de Saúde (SUS)

### 3.7.3 Avaliação das concentrações séricas da rifampicina e isoniazida

Foi solicitado de todos os voluntários convidados a participar do estudo que comparecessem ao local no dia pré determinado. Foi feito esclarecimento a respeito do estudo, seus objetivos e sobre o que aconteceria a cada voluntário, reforçando que sua participação não seria remunerada, não era obrigatória e que poderia se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo do tratamento na unidade de saúde.

Os testes foram realizados em apenas um dia por paciente, juntamente com o teste da L/M (**APÊNDICE B**). Os portadores de TBMR eram orientados a ingerir a última dose do esquema terapêutico vigente até 18 horas do dia anterior, não sendo necessária a suspensão do tratamento 24 horas antes dos testes (PELOQUIN, 1997) e a permanecer em jejum a partir da meia noite.

A RMP+INH foi ingerida juntamente com 150 ml de água, sob observação direta. As doses foram administradas de acordo com o peso, conforme as normas do PCT-MS (SBPT, 2004) (**ANEXO J**). Foi realizada uma coleta de 8 ml de sangue em tubos sem anticoagulante, duas e seis horas após a ingestão, conforme referência da literatura (BERNING, 1992, PELOQUIN, 1997), para a dosagem das C<sub>máx</sub>s da RMP e da INH, que se espera ocorram duas horas após a ingestão dos medicamentos. A dosagem seis horas após é realizada para se verificar possíveis casos de absorção retardada. Após a primeira coleta de sangue os pacientes foram liberados para desjejum e incentivados a tomar água para manter boa diurese. Três horas depois da primeira coleta foi servido o almoço (oferecido no local da pesquisa). Antes do almoço, os portadores de TBMR iniciaram o esquema terapêutico do dia. As amostras foram centrifugadas, o soro foi separado e dividido em duas alíquotas, que foram identificadas com o número atribuído pelo protocolo de estudo, data e hora da coleta em relação à ingestão (duas ou seis horas) e o plasma refrigerado dentro de 15

minutos e dentro de uma a cinco horas congeladas a  $-20^{\circ}$  C. Todas as coletas sangüíneas foram realizadas no ambulatório, pela mesma auxiliar de laboratório que foi também responsável por todo o trabalho de centrifugação e refrigeração das amostras de soro, até que fossem transportadas sob refrigeração para o IBIMED. A cronometragem de todos os passos foi rigorosamente controlado pela pesquisadora responsável.

Os integrantes do grupo de TBS e do grupo de VSs receberam as mesmas orientações e foram submetidos ao mesmo protocolo, em dias específicos. Para o grupo com TBS, foi recomendado que não tomassem o Esquema-I em jejum no dia da pesquisa, pois a dose do dia já seria a dose do estudo. Isso foi verificado caso por caso.

A técnica utilizada para a dosagem sérica das drogas antituberculose foi cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Utilizou-se um sistema analisador composto por bombas Waters 510 (Milford, MA) e controlador com válvula solvente seletiva modelo 680, um *autosampler* de volume fixo Spectra Physics (San Jose, CA) modelo 8875, um detector ultravioleta modelo Waters 486, sendo os resultados analisados por HPLC Data Management System (Rainin Dynamax; Woburn, MA). A dosagem das drogas foi executada pelo Dr. Charles Peloquin, Pharm. D., no Infectious Disease Pharmacokinetics Laboratory do National Jewish Medical and Research Center 1400 Jackson St. Denver, CO-USA.

Valores de  $C_{m\acute{a}x}$  (obtidos duas horas após a ingestão) para drogas anti-TB foram determinados mundialmente, inicialmente na década de 1950, e validados na década de 1990, no National Jewish Medical and Research Center (NJMRC), sendo considerados níveis terapêuticos adequados a dosagem de  $8 \mu\text{g/mL} \leq \text{RMP} \leq 24 \mu\text{g/mL}$  e  $3 \mu\text{g/mL} \leq \text{INH} \leq 6 \mu\text{g/mL}$  (PELOQUIN, 1997, PELOQUIN, 1999, PELOQUIN 2002). De acordo com essas publicações será considerado baixo  $C_{m\acute{a}x}$  para INH  $<3 \mu\text{g/mL}$  (dose ajustada ao peso, 300 ou 400 mg dose) e muito baixo  $<2 \mu\text{g/mL}$ . Para RMP será considerado baixo  $C_{m\acute{a}x} <8 \mu\text{g/mL}$  (dose ajustada ao peso, 450 ou 600 mg) e muito baixo  $<4 \mu\text{g/mL}$ . Foi considerada  $C_{m\acute{a}x}$ , a maior dosagem sangüínea detectada de cada uma das drogas,

independentemente de a amostra ter sido coletada duas horas ou seis horas após a ingestão dos medicamentos.

### 3.8 Microbiologia

A baciloscopia e a cultura de escarro para BK foram definidas de acordo com BRASIL (2005b). As pesquisas de BAAR foram realizadas no HM pela técnica de Ziehl Neelsen. As culturas e TSAs foram realizados no LACEN-CE. Os espécimes foram transportados do HM para o LACEN dentro da rotina de funcionamento do HM, independentemente da pesquisa.

Foi usado o meio de cultura de Löwenstein Jensen. Para o TSA utilizou-se o método das proporções indiretas, de Canetti (1963), com meio sólido, e a resistência foi definida como crescimento de pelo menos 1% de colônias sob concentrações críticas das drogas (0,2 µg/mL para INH, 2 µg/mL para EMB e 40 µg/mL para RMP) e crescimento de pelo menos 10% de colônias sob a concentração crítica de 4 µg/mL de SM. Para a identificação de MNTs foram realizados testes bioquímicos (BRASIL, 2005b).

Parasitas intestinais – a metodologia utilizada foi uma modificação do Método de Ritchie, ou seja, a concentração de parasitas pelo formol-éter: o éter age como solução excretora para gordura e detritos fecais e o formol a 10% age como anti-séptico.

Para a identificação de cistos, larvas e ovos de parasitas, foram utilizadas amostras de fezes frescas. Após rotular um tubo base reta, identificando-o com o nome e número do paciente, foram adicionados 9 ml de formol a 10% e acrescentadas três colheres de fezes, misturando-se bem. A seguir foram adicionadas três gotas de Triton X-100 a 20% para cada tubo e o conteúdo de cada tubo foi completado até a última marca com acetato de etila. O tubo de base reta foi acoplado, por meio da tampa adaptável com filtro a um tubo côncavo; seguiu-se agitação vigorosa durante 30 segundos. Deixou-se passar através do filtro todo o

conteúdo do tubo de base reta para o tubo côncavo. O material foi então centrifugado durante cinco minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi desprezado. Com o auxílio de um *swab*, os detritos superficiais da parede do tubo foram removidos. O sedimento foi colocado novamente em suspensão, utilizando-se algumas gotas de formol a 10%. Com uma pipeta Pasteur, foi colocada uma gota da amostra sobre uma lâmina e adicionada uma gota da solução de Lugol. A preparação foi coberta com uma lamínula e examinada ao microscópio. O método permitiu concentrar cistos de protozoários, larvas e ovos de helmintos, exceto os ovos pesados para facilitar a identificação. O resultado foi expresso como: negativo, significando ausência de parasitas; ou como positivo, sendo nesse caso discriminado o tipo de parasita encontrado. Esses exames foram realizados laboratório do HM que participa do Programa CQ da SBPC (Control LAB).

### 3.9 Considerações estatísticas

#### 3.9.1 Cálculo do tamanho da amostra

A amostragem estimada (80%;  $p < 0.05$ , exposição de 3% entre os sãos [PELOQUIN, 1993]) para o estudo da biodisponibilidade da RMP e INH e o teste da L/M seria de 35:35 (casos:controles) de acordo com prevalência de 30% de baixos níveis sanguíneos de RMP e INH em estudo realizado em Botswana e publicado por Tappero e cols. em 2005. Em estudo realizado no Hospital de Maracanaú-CE, conduzido por Pinheiro e cols. (2003), em grupo de portadores de TBS, foram encontrados 44% de baixos níveis sanguíneos de RMP e INH. Considerando-se esse achado, a proporção de 20:20 de casos:controles seria suficiente para o estudo. Nesse mesmo estudo encontrou-se um aumento médio de 70% na razão L/M urinária no grupo com TB em comparação com voluntários sãos. Levando-se em conta esse dado, para esse parâmetro, a amostragem de casos:controles necessária seria 10:10. Para se ter, porém, maior poder para realização de múltiplas comparações e prevendo-se perdas de pelo menos 10%, tentou-se atingir uma amostragem de 40:40:40 (**APÊNDICE C**).

### 3.9.2 Análise estatística

Foi feita dupla entrada dos dados por dois digitadores independentes e os dados validados por intermédio do programa Microsoft Excel versão 4.0. A análise estatística foi feita utilizando-se o SPSS version 13 for Windows (Microsoft; Seattle, WA).

A análise descritiva para as variáveis qualitativas foi realizada por meio de tabelas e gráficos, enquanto para as variáveis quantitativas, foram usadas medidas de tendência central, de variabilidade e medidas de separatrizes.

Para avaliação da normalidade na distribuição das variáveis quantitativas, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk e, para avaliar a igualdade das variâncias, foi utilizado o teste de Levene.

Os resultados observados para as variáveis quantitativas com distribuição normal foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão (dp). A comparação de médias de populações independentes foi feita pelo Teste T de Student. Para as variáveis quantitativas de distribuição não normal foi usado o teste Mann\_Whitney.

Para a comparação de três grupos, para as variáveis sem normalidade na distribuição, os resultados foram expressos como mediana, valores mínimo e máximo (variação da distribuição) e foi utilizado o teste de Kruskal Wallis. A comparação dos pares de grupos foi feita pelo teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis.

Para comparar os grupos em relação à média das variáveis cuja distribuição foi normal, foi usado a ANOVA, tendo sido o teste F-Snedecor usado para as variáveis cuja variabilidade não diferia e empregado o teste Brown-Forsythe para as variáveis cuja variabilidade diferia.

A análise de comparação dos grupos em relação às médias das concentrações séricas e dos parâmetros de absorção intestinal corrigida pelas covariáveis foi realizada pela ANCOVA, depois da utilização do teste Kruskal Wallis.



Para as variáveis cujo grupo diferia significativamente, os grupos foram comparados dois a dois, e, para as variáveis cuja distribuição foi normal com variabilidades iguais entre os grupos, foi utilizado o teste de sub-hipótese independente pelos mínimos quadrados; para as variáveis cuja distribuição foi normal mas os grupos diferiam em relação a variabilidade, foi usado o teste de sub-hipótese: teste de Tamhane.

Para cada um dos grupos, a análise de correlação linear entre a absorção intestinal e as variáveis quantitativas, foi realizada pela correlação linear de Pearson e regressão linear múltipla, quando ajustada pelas diversas variáveis.

Para verificar homogeneidade entre os grupos em relação à distribuição das variáveis categorizadas, usou-se o teste Exato de Fisher ou o teste de qui-quadrado de Pearson, tendo sido as múltiplas comparações feitas mediante o *odds ratio*.

Os gráficos foram feitos com o programa GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA)

O nível de significância utilizado nos testes estatísticos foi 5% ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Descrição geral da amostra

No período do recrutamento dos casos, foram registrados 193 diferentes pacientes com diagnóstico de TB no Ambulatório de Tisiologia do HM (ATHM): 110 não preencheram os critérios de seleção pelos seguintes motivos: ter TB pulmonar com baciloscopia negativa (52 casos); ser portador de TB extrapulmonar com a confirmação apenas histopatológica (23 casos); ter intolerância à RMP e/ou INH (17 casos); ser portador de MNT (dez casos); recusar a participação na pesquisa (quatro casos); e ter dificuldade de locomoção (quatro casos) (**FIGURA 3**).

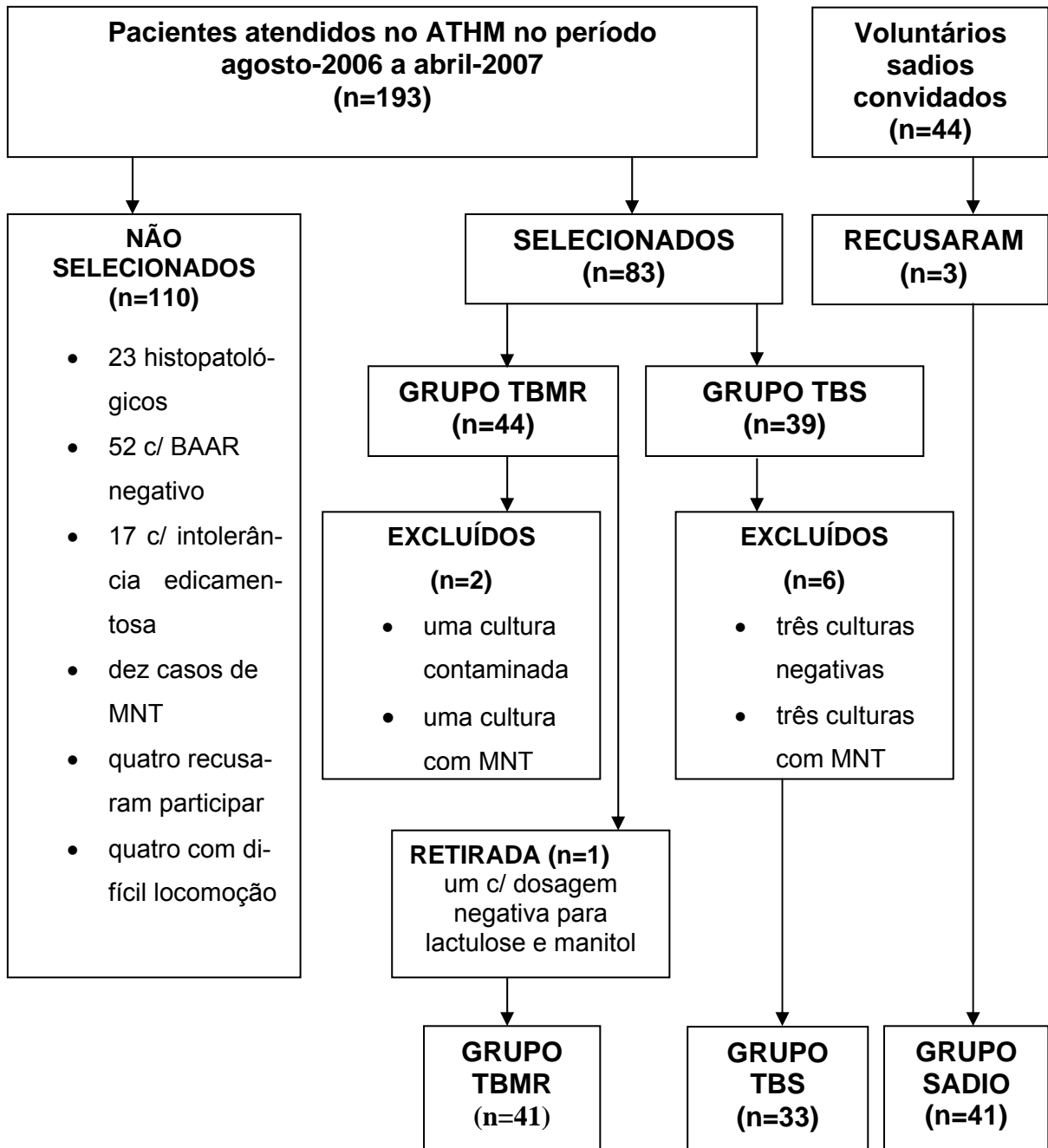
Foram selecionados 124 indivíduos, sendo 44 com TBMR, 39 com TBS e 41 sadios, entre agosto de 2006 e abril de 2007.

Todos assinaram o TCLE, responderam a um questionário e se submeteram à coleta de sangue para exames bioquímicos e concentrações séricas de RMP e INH e coleta de urina para teste de avaliação da absorção intestinal transcelular e paracelular.

Do grupo com TBMR, três foram excluídos: um, com diagnóstico anterior de TBMR curada, apresentara recidiva com BAAR positivo, mas a cultura para BK revelou MNT; um com falência ao esquema com RMP+INH, com BAAR positivo, teve cultura para BK contaminada; e o terceiro com TBMR confirmada, mas a dosagem de lactulose e manitol foi zero para as duas substâncias.

Do grupo com TBS, seis foram excluídos: três com BAAR positivo cuja cultura relevou MNT e três também com BAAR positivo, mas em que não houve crescimento bacteriano na cultura.

Permaneceram para análise final 115 voluntários: 41 com TBMR, 33 com TBS e 41 sadios (**FIGURA 3**).



**FIGURA 3** - Fluxograma de recrutamento dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios no, Ceará, 2006-2007. Dos 193 pacientes atendidos no ATHM, no período do estudo, 83 foram selecionados: 44 com TBMR e 39 com TBS. No grupo com TBMR, três preencheram os critérios de exclusão e retirada permanecendo 41 no grupo. No grupo com TBS seis foram excluídos permanecendo 33. Dos 44 voluntários sadios convidados, três recusaram participar permanecendo 41.

## 4.2 Caracterização sociodemográfica da população estudada

A idade mediana para todos os voluntários foi 43,00 anos, tendo variado de 17 a 69 anos. Entre os 41 voluntários com TBMR, denominados de casos, a mediana foi 43,00 anos, variando de 17 a 61 anos. Para o grupo de 33 portadores de TBS, a idade mediana foi 36,00, variando de 21 a 69 anos. Para os 41 voluntários sem TB, a mediana foi 45,00 anos, variando de 18 a 58 anos. Não houve diferença entre as distribuições das idades nos três grupos ( $p=0,0959$ ) (**TABELA 3**).

Eram do sexo feminino 54/115 (47,0%) voluntários e do sexo masculino 61/115 (53,0%). Entre os casos, 20/41 (48,8%) eram do sexo feminino e 21/41 (51,2%) do masculino, entre os controles com TBS, 17/33 (51,5%) eram do sexo feminino e 16/33 (48,5%) do masculino e, entre os controles sadios, 17/41 (41,5%) eram do gênero feminino e 24/41 (58,5%) do masculino, estatisticamente não havendo diferença na distribuição do gênero entre os grupos ( $p=0,7071$ ) (**TABELA 3**).

Considerando-se sem escolaridade a união dos analfabetos e alfabetizados, 38/115 (33%) voluntários em geral não tinham escolaridade. Entre os casos, 22/41 (53,7%) eram sem escolaridade. No grupo com TBS, 14/33 (42,4%) não tinham escolaridade. Nos controles sadios, 2/41 (4,9%) eram sem escolaridade. Considerando-se boa escolaridade o agrupamento dos que tinham 2º e 3º grau, 49/115 (42,6%) voluntários em geral tinham boa escolaridade. Entre os portadores de TBMR, 8/41 (19,5%) tinham boa escolaridade. No grupo com TBS, 10/33 (30,3%) eram bem escolarizados. Entre os sadios, 31/41 (75,6%) tinham boa escolaridade (**TABELA 3**). Houve significativa diferença entre os grupos (Teste Exato de Fisher,  $p<0,0001$ ). Comparando-se os grupos dois a dois, a proporção dos sem escolaridade foi significativamente maior entre portadores de TBMR em relação aos sadios (OR=42,6; IC 95% [8,2-220,4]) e entre portadores de TBS em relação aos sadios (OR=21,7; IC 95% [4,2-112,3]), não havendo diferença entre portadores de TBMR e TBS (**APÊNDICE D**).

**TABELA 3** - Caracterização quanto à idade, gênero e escolaridade dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

Fatores	TBMR		TBS		Sadios		
Idade (anos)	n	Mediana	n	Mediana	n	Mediana	p
	41	variação	33	variação	41	variação	
		43		36		45	0,0959 <sup>1</sup>
		17-61		21-69		18-58	
Gênero	n	%	n	%	n	%	p
Feminino	20	48,8	17	51,5	17	41,5	0,7081 <sup>2</sup>
Masculino	21	51,2	16	48,5	24	58,5	
Total	41	100,0	33	100,0	41	100,0	
Escolaridade	n	%	n	%	n	%	p
Analfabeto/alfabetizado	22	53,7	14	42,4	2	4,9	<0,0001 <sup>2</sup>
1º Grau	11	26,8	9	27,3	8	19,5	
2º / 3º Grau	8	19,5	10	30,3	31	75,6	
Total	41	100,0	33	100,0	41	100,0	

<sup>1</sup>Teste Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>Teste Exato de Fisher.

Os voluntários procederam de 12 diferentes municípios do Estado do Ceará. 93/115 (80,9%) participantes eram de Fortaleza, 7/115 (6,1%) eram de Maracanaú, 3/115 (2,6%) de Sobral, 3/115 (2,6%) de Juazeiro do Norte, 2/115 (1,7%) de Chaval e sete vinham de sete outros municípios do Ceará. No grupo com TBMR, 30/41 (73,2%) eram de Fortaleza, 3/41 (7,3%) de Sobral, 3/41 (7,3%) de Juazeiro do Norte, 2/41 (4,9%) de Maracanaú, 2/41 (4,9%), de Chaval e 1/41 (2,4%) de Caucaia. Entre os controles com TBS, 27/33 (81,8%) procediam de Fortaleza e seis vinham de seis outros municípios do Ceará. No grupo dos sadios, 36/41 (87,8%) eram de Fortaleza, 4/41 (9,8%) de Maracanaú e 1/41 (2,4%) de Aquiraz. Estatisticamente não houve diferença na distribuição da procedência entre os grupos, ao se avaliar se vinham de Fortaleza ou de outro município do Estado (Teste Exato de Fisher,  $p=0,2378$ ).

A mediana da renda individual foi um salário mínimo, variando de zero a 15 salários. Para os casos, a mediana foi 0,3, variando de zero a 1,5. No grupo com TBS, a mediana foi 0,3, variando de zero a 5,6. Entre os sadios, a mediana foi 1,3, variando de zero a 15 ( $p < 0,0001$ ). Quanto à renda familiar, a mediana foi 1,86 salário mínimo, variando de zero a 32 salários. Para os casos, a mediana foi um, variando de zero a 2,5. No grupo com TBS, a mediana foi 1,3, variando de zero a 6,1. Entre os sadios, a mediana foi 4,6, variando de um a 32 salários (Teste Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Comparando-se os grupos dois a dois, a renda foi significativamente menor no grupo com TBMR em comparação com os sadios ( $p < 0,01$ ) e menor no grupo com TBS em relação aos sadios ( $p < 0,01$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS ( $p > 0,05$ ) (**TABELA 4, APÊNDICE D**).

**TABELA 4** - Distribuição quanto à renda dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	$p^1$	TBS	$p^1$	Sadios	$p^1$
Renda individual (salários mínimos)	N	36		33		41	
	Mediana	0,3	$>0,05^2$	0,3	$<0,01^3$	1,3	$<0,01^4$
	Variação	0,0-1,5		0,0-5,6		0,0-15,0	
Renda familiar (salários mínimos)	N	40		33		41	
	Mediana	1,0	$>0,05^2$	1,3	$<0,01^3$	4,6	$<0,01^4$
	Variação	0,0-2,5		0,0-6,1		1,0-32,0	

<sup>1</sup>Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis, <sup>2</sup>TBMR versus TBS, <sup>3</sup>TBS versus sadios,

<sup>4</sup>TBMR versus sadios.

### 4.3 Avaliação do comportamento de risco dos grupos estudados

A mediana do tabagismo quantificado em anos-maço (am) foi 1,2 am, variando de zero a 153 am. No grupo dos casos, a mediana foi 4,5 am, variando de zero a 153 am. Nos portadores de TBS, a mediana foi 6,5 am, variando de zero a 73,5 am. Entre os sadios, a mediana foi zero, variando de zero a 30 am ( $p < 0,0001$ , **TABELA 5**). Comparando-se os grupos dois a dois (Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis), houve tabagismo significativamente mais intenso nos portadores de

TBMR em relação aos sadios ( $p < 0,01$ ) e no grupo com TBS em relação aos sadios ( $p < 0,01$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS ( $p > 0,05$ ) (**APÊNDICE D**).

Levando-se em consideração que o alcoolismo leve não oferece riscos para a saúde, associou-se o alcoolismo leve à ausência de alcoolismo e, a partir de então a associação será chamada de alcoolismo leve. Detectou-se o fato de que 29/115 (25,2%) dos voluntários em geral praticava alcoolismo grave. Entre os casos, 12/41 (29,3%), entre os portadores de TBS 13/33 (39,4%) e entre os sadios 4/41 (9,8%) eram alcoólatras de risco ( $p = 0,0081$ , **TABELA 5**). Comparando-se os grupos dois a dois, o alcoolismo grave foi significativamente maior entre portadores de TBMR em relação aos sadios (OR=6,9; IC 95% [1,7-28,0]) e entre portadores de TBS em relação aos sadios (OR=6,4; IC 95% [1,6-26,1]), não havendo diferença entre portadores de TBMR e TBS (**APÊNDICE D**).

O uso de drogas ilícitas foi reconhecido por 14/115 (12,2%) participantes. Entre os casos, 2/41 (4,9%) confirmaram uso de drogas ilícitas, no grupo com TBS, 10/33 (30,3%) e no grupo dos sadios, 2/41 (4,9%) ( $p = 0,003$ , **TABELA 5**). Após as comparações múltiplas entre os grupos, observou-se a drogadição ser mais acentuada no grupo com TBS em relação aos sadios (OR=8,5; IC 95% [1,7-42,1]), não havendo diferença entre TBMR e sadios nem entre TBMR e TBS (**APÊNDICE D**).

**TABELA 5** - Distribuição quanto ao tabagismo, alcoolismo e uso de drogas ilícitas dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

Tabagismo (anos-maço)	TBMR		TBS		Sadios		p
N	41		33		41		<b>&lt;0,0001<sup>1</sup></b>
Mediana	4,5		6,5		0,0		
Variação	0,0-153,0		0,0-73,5		0,0-30,0		
Alcoolismo	n	%	n	%	n	%	<b>p</b>
Não/Leve	29	70,7	20	60,6	37	90,2	<b>0,0081<sup>2</sup></b>
Grave	12	29,3	13	39,4	4	9,8	
Total	41	100,0	33	100,0	41	100,0	
Drogas ilícitas	n	%	n	%	n	%	<b>p</b>
Não	39	95,1	23	69,7	39	95,1	<b>0,003<sup>2</sup></b>
Sim	2	4,9	10	30,3	2	4,9	
Total	41	100,0	33	100,0	41	100,0	

<sup>1</sup>Teste Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>Teste Exato de Fisher.

#### 4.4 Avaliação nutricional

A mediana do índice de massa corporal (IMC) dos voluntários no dia da coleta dos exames foi 22,48 kg/m<sup>2</sup>. A mediana do IMC dos casos foi de 19,77 kg/m<sup>2</sup>, dos portadores de TBS foi 20,26 kg/m<sup>2</sup> e dos sadios 26,37 kg/m<sup>2</sup> (Teste Kruskal Wallis, p<0,0001). Avaliando-se as diferenças entre os grupos, encontrou-se IMC significativamente menor entre portadores de TBMR em relação aos sadios (p<0,01), e entre TBS em relação aos sadios (p<0,01), não havendo diferença entre TBMR e TBS (p>0,05) (**TABELA 6** e **APÊNDICE D**).

Os voluntários com TBMR tiveram um deficit ponderal mediano de -6,19%, o grupo com TBS teve deficit mediano menor, de -4,76%, enquanto no grupo dos sadios não houve deficit ponderal (Teste Kruskal Wallis, p<0,0001). Essa diferença foi significativa ao se comparar TBMR com sadios e TBS com sadios (p<0,01), não havendo diferença TB sensível e MR (**TABELA 6**).



A dosagem de proteínas séricas teve mediana de 7,4 mg/dL nos casos, de 7,65 mg/dL nos portadores de TBS e uma mediana significativamente menor nos sadios, de 7,20 mg/dL (Teste Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Houve diferença significativa apenas entre TBS e sadios ( $p = 0,0052$ ) (**TABELA 6**).

A dosagem de albumina sérica teve mediana de 4,3 mg/dL nos casos, de 4,2 mg/dL nos portadores de TBS e uma mediana significativamente maior nos sadios de 4,7 mg/dL (Teste Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Houve diferença significativa entre cada um dos grupos com TB em relação aos sadios ( $p < 0,01$ ), não havendo diferença nos grupos com TB entre si (**TABELA 6**).

**TABELA 6** - Distribuição quanto ao estado nutricional dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR		TBS		Sadios	
Índice de massa corporal (IMC) (peso[kg]/altura <sup>2</sup> [m])	N	41	$p^1$	33	$p^1$	41	$p^1$
	Mediana	19,8	$>0,01^2$	20,3	<b><math>&lt;0,01^3</math></b>	26,4	<b><math>&lt;0,01^4</math></b>
	Variação	13,0-38,4		13,6-26,3		18,5-38,6	
Diferença ponderal (Peso atual/peso habitual)%	N	41		33		41	
	Mediana	-6,2	$>0,01^2$	-4,8	<b><math>&lt;0,01^3</math></b>	0,0	<b><math>&lt;0,01^4</math></b>
	Variação	-39,2-19,1		-25-7,8		-2,8-11,3	
Proteínas totais séricas (g/dL)	N	41		30		41	
	Mediana	7,4	$>0,05^2$	7,7	<b><math>0,0052^3</math></b>	7,2	$>0,05^4$
	Variação	6-8,6		5,7-8,8		6,5-7,9	
Albumina sérica (g/dL)	N	41		30		41	
	Mediana	4,3	$>0,05^2$	4,2	<b><math>&lt;0,01^3</math></b>	4,7	<b><math>&lt;0,01^4</math></b>
	Variação	3,2-4,7		2,6-4,8		4,1-5,3	

<sup>1</sup>Teste de sub-hipóteses de Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>TBMR versus TBS, <sup>3</sup>TBS versus sadios,

<sup>4</sup>TBMR versus sadios.

No grupo dos portadores de TBMR, observou-se que 21/41 (51,2%) eram nutridos, nos portadores de TBS, 20/33 (60,6%) eram nutridos e, entre os sadios, 40/41 (97,6%) eram nutridos. A desnutrição foi constatada em 15/41 (36,6%) dos casos, em 10/33 (30,3%) dos portadores de TBS e em 1/41 (2,4%) dos sadios. A desnutrição severa não foi encontrada entre os sadios, sendo detectada em 3/33 (9,1%) portadores de TBS e 5/51 (12,2%) portadores de TBMR ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 7**). A diferença entre os percentuais de desnutrição+desnutrição severa nos grupos com TBMR e TBS em relação aos sadios foi significativa (OR=38,1; IC 95% [4,8-303,9] e OR=26,0; IC 95% [3,2-213,1], respectivamente, não havendo diferença entre TB sensível e MR.

**TABELA 7** - Classificação quanto ao grau de desnutrição pelo índice de massa corporal (IMC) dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Estado do Ceará, 2006-2007.

Classificação	TBMR		TBS		Sadios		p <sup>1</sup>
	n	%	n	%	n	%	
Desnutrição severa <sup>2</sup>	5	12,2	3	9,1	0	0,0	<0,0001
Desnutrição <sup>3</sup>	15	36,6	10	30,3	1	2,4	
Sem desnutrição <sup>4</sup>	21	51,2	20	60,6	40	97,6	
Total	41	100,0	33	100,0	41	100,0	

<sup>1</sup>Teste Qui-Quadrado, <sup>2</sup>IMC<16, <sup>3</sup>16≤IMC≤18,5, <sup>4</sup>IMC>18,5.

#### 4.5 Avaliação hematológica

Foi observada maior contagem no número de leucócitos sangüíneos entre os portadores de TBMR e TBS em relação aos sadios, embora os valores estejam dentro da normalidade ( $p < 0,0004$ ) (**TABELA 8**). A comparação dos grupos dois a dois (Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis) confirmou a diferença significativa entre TBMR e sadios e entre TBS e sadios ( $p = 0,0028$  e  $p = 0,0004$  respectivamente), não havendo diferença entre TBMR e TBS (**APÊNDICE D**).

Quanto ao percentual de linfócitos sangüíneos, encontrou-se redução significativa nos grupos com TBMR e TBS em relação aos sadios, mas ainda nos limites inferiores da normalidade ( $p < 0,0001$ ). A mesma situação foi encontrada para os níveis de hemoglobina (**TABELA 8**). As múltiplas comparações entre os grupos apresentaram resultado semelhante ao do parágrafo anterior (**APÊNDICE D**).

**TABELA 8** - Distribuição das características: leucócitos, linfócitos e hemoglobina dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	TBS	Sadios	p <sup>1</sup>
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	N	41	33	41	<b>0,0004</b>
	Mediana	8.560	8.650	6.620	
	Varição	4.460-18.600	3.720-17.300	2.710-11.400	
Linfócitos (%)	N	41	33	41	<b>&lt;0,0001</b>
	Mediana	22,0	19,57	29,70	
	Varição	10,0-49,0	8,0-33,0	16,8-52,0	
Hemoglobina (g/dL)	N	41	33	41	<b>&lt;0,0001</b>
	Mediana	12,9	12,30	14,40	
	Varição	8,3-16,1	7,5-17,1	11,8-16,9	

<sup>1</sup>Teste Kruskal-Wallis

#### 4.6 Análise de patologias associadas

Não houve nenhuma associação dos três grupos de estudo com as patologias pesquisadas: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), diabetes, infecção ou doença pelo HIV (apenas um voluntário do grupo com TBS se recusou a se submeter ao teste anti-HIV; todos os outros, incluindo os três grupos, tiveram sorologia anti-HIV negativa), doença psiquiátrica, parasitas intestinais e outras (Teste Exato de Fisher,  $p > 0,05$ ).

#### 4.7 Avaliação das lesões pulmonares e bacteriologia

Houve predominância do padrão radiológico bilateral/cavitário 65,9% (27/41) no grupo com TBMR contra 36,4% (12/33) no grupo com TBS (Teste Exato de Fisher,  $p=0,0189$ ).

Quanto ao *status* bacilar no período de um mês, antes ou após a realização do estudo, não se encontrou diferença entre os voluntários com TBMR ou TBS, se eram bacilíferos ou não (Teste Qui-Quadrado,  $p=0,1231$ ).

#### 4.8 Avaliação da qualidade dos tratamentos

Ao se avaliar a qualidade do primeiro tratamento, observou-se predomínio de intolerância medicamentosa, 19,5% (8/41) *versus* (vs) 0,0% (0/31), comparando-se pacientes com TBMR vs TBS, respectivamente, um predomínio de irregularidade (excluindo-se a intolerância aos medicamentos) 12,2% (5/41) vs 3,2% (1/31), confrontando-se grupo resistente vs sensível, respectivamente, um menor percentual de tratamentos regulares, 58,5% (24/41) vs 77,4 % 24/31), observando-se portadores de TBMR vs TBS, respectivamente, e um menor índice de abandono, 9,8% (4/41) vs 19,4% (6/31), comparando-se resistentes vs sensíveis ( $p=0,0131$ ) (**TABELA 9**). Não foi possível verificar a significância estatística na diferença dessas características ao se avaliar o segundo, o terceiro e o tratamento atual.

**TABELA 9** - Distribuição quanto à qualidade do 1º tratamento dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR) e tuberculose sensível (TBS), no Ceará, 2006-2007.

	TBMR		TBS		p <sup>1</sup>
	n	%	n	%	
Regularidade do 1º tratamento					
Regular	24	58,5	24	77,4	<b>0,0131</b>
Irregular	5	12,2	1	3,2	
Abandonado	4	9,8	6	19,4	
Intolerância	8	19,5	0	0,0	
Total	41	100,0	31	100,0	

<sup>1</sup>Teste exato de Fisher

#### 4.9 Análise do número de tratamentos e tempo de doença

A média do número de tratamentos anteriores em geral foi  $1,96 \pm 1,92$ . Entre os 41 voluntários com TBMR, a média de  $3,15 \pm 1,71$  foi significativamente maior do que a do grupo de 33 portadores de TBS que foi  $0,48 \pm 0,83$  ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 10**).

Para todos os voluntários com TB, a mediana do período entre o primeiro diagnóstico de TB e os exames do estudo (P1DX) foi 2,3 anos, tendo variado de 0,00 a 38,6 anos. Entre os 41 voluntários com TBMR, a mediana de 4,2 anos, variando de 0,30 a 38,60 anos, foi significativamente maior do que a do grupo de 33 portadores de TBS que foi 0,2 anos, variando de 0,0 a 15,00 anos ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 10**).

A média geral do período entre o tratamento atual e os exames do estudo (PTAX) foi  $21,51 \pm 21,66$  semanas, tendo variado de 0,00 a 86,0 semanas. Entre os 41 voluntários com TBMR, a média foi  $33,43 \pm 22,23$ , variando de 2,00 a 86,00 semanas. Para o grupo de 33 portadores de TBS, essa média foi  $6,13 \pm 4,38$ , variando de 0,0 a 17,00 semanas. Essa diferença foi muito significativa ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 10**).

**TABELA 10** - Distribuição quanto ao número de tratamentos anteriores e o tempo de tratamento dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR) e tuberculose sensível (TBS), no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	TBS	P
Tratamentos	N	41	33	<b>&lt;0,0001<sup>1</sup></b>
Anteriores	Média	3,15	0,48	
	DP	1,71	0,83	
P1DX <sup>2</sup>	N	41	33	<b>&lt;0,0001<sup>4</sup></b>
(anos)	Mediana	4,20	0,20	
	Variação	0,3-38,6	0,0-15,0	
PTAX <sup>3</sup>	N	40	31	<b>&lt;0,0001<sup>1</sup></b>
(semanas)	Média	33,43	6,13	
	DP	22,23	4,38	

<sup>1</sup>Teste t-Student, <sup>2</sup>Período entre o 1º diagnóstico de TB e os exames do estudo

<sup>3</sup>Período entre TT atual e os exames do estudo, <sup>4</sup>Teste Mann-Whitney

#### 4.10 Perfil de resistência dos isolados de *Mycobacterium tuberculosis*

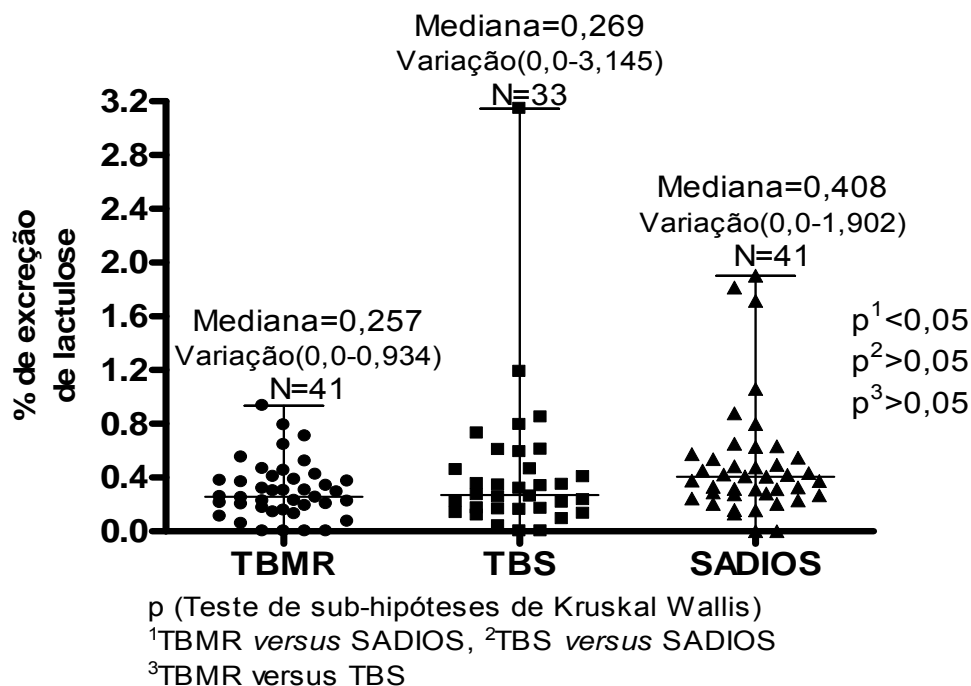
Os 33 isolados do grupo com TBS eram completamente sensíveis às quatro drogas testadas (rifampicina, isoniazida, estreptomicina e etambutol), não tendo sido incluído nenhum caso de monorresistência

Dos 41 isolados de *Mycobacterium tuberculosis*, 24/41 (58,5%) eram resistentes a RMP+INH, 10/41 (24,4%) eram resistentes a três drogas (RMP+INH+EMB ou SM) e 7/41 (17,1%) eram resistentes às quatro drogas testadas na rotina do serviço público de saúde do Brasil, conforme recomendação do Ministério da Saúde.

#### 4.11 Avaliação do transporte intestinal transcelular e paracelular

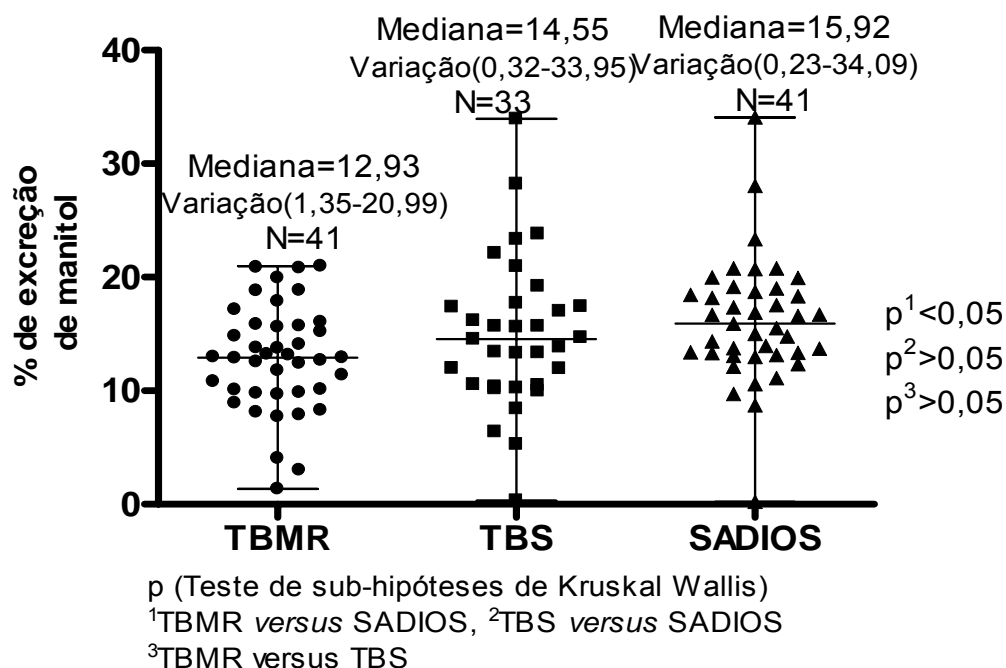
A mediana/variação do percentual de excreção urinária de lactulose nos voluntários com TBMR (0,257%/0,0-0,934) foi significativamente menor do que a dos

sadios (0,408/0,0-1,902), ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios nem entre TBMR e TBS (**FIGURA 4**).



**FIGURA 4** - Distribuição do percentual de excreção urinária de lactulose de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, Ceará, 2006-2007.

A mediana/variação do percentual de excreção urinária de manitol nos voluntários com TBMR (12,93%/1,35-20,99) foi significativamente menor do que a dos sadios (15,92%/0,23-34,09), ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios nem entre TBMR e TBS (**FIGURA 5**).



**FIGURA 5** - Distribuição do percentual de excreção urinária de manitol de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, Ceará, 2006-2007.

Para a relação do percentual de excreção urinária de lactulose/manitol (L/M), não se detectou diferença na mediana/variação de portadores de TBMR (0,021/0,0-0,23), TBS (0,022/0,0-0,093) e sadios (0,026/0,0-0,133) ( $p=0,4747$ )

#### 4.11.1 Análise de variância do transporte intestinal transcelular e paracelular em função das características dos grupos estudados

Não houve diferença no percentual de excreção urinária de lactulose, de manitol nem da relação L/M, ao se comparar o quadro radiológico, não cavitário vs cavitário nos grupos com TBMR e TBS.

Ao se analisar o *status* bacilar, no período de um mês, antes ou após o dia do estudo, não se encontrou diferença no percentual de excreção urinária de



lactulose e manitol nem da relação L/M, ao se comparar o estado bacilífero vs não bacilífero nos grupos com TBMR e TBS, ou seja, o comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e a relação L/M, em função dos grupos estudados, não depende da bacteriologia, bem como o comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e a relação L/M, em função da bacteriologia, não depende dos tipos de grupos ( $p > 0,05$ ) (**TABELA 11**).

Esta análise se aplica aos parasitas intestinais, alcoolismo (não+leve [leve] vs grave) e ao tabagismo (**TABELA 11**).

**TABELA 11** - Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pela **bacteriologia, parasitas intestinais, alcoolismo e tabagismo** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.

EFEITO	% manitol <sup>1</sup>	% lactulose <sup>2</sup>	L/M <sup>3</sup>
<b>Bacteriologia</b>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>
Grupos	0,0710	0,2177	0,5974
Bacteriologia <sup>5</sup>	0,8056	0,3049	0,3389
Grupos vs Bacteriologia	0,4055	0,8959	0,8684
<b>Parasitas intestinais</b>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>
Grupos	<b>0,0213</b>	0,0972	0,5561
Parasitas intestinais (não/sim)	0,4577	0,5987	0,5118
Grupos vs Parasitas intestinais	0,5484	0,0987	0,1253
<b>Alcoolismo</b>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>
Grupos	0,2653	0,3682	0,9204
Alcoolismo (leve/grave)	0,4053	0,6392	0,5708
Grupos vs Alcoolismo	0,4356	0,8918	0,6406
<b>Tabagismo</b>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>	P <sup>4</sup>
Grupos	<b>0,0481</b>	0,2148	0,5461
Tabagismo (anos maço)	0,5755	0,9731	0,6782
Grupos vs Tabagismo	0,0664	0,4484	0,3535

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose/manitol, <sup>4</sup>ANOVA

<sup>5</sup>Bacilífero vs não bacilífero

Usando-se a análise de variância com covariáveis (ANCOVA), para verificar se os grupos diferem em relação ao percentual de excreção do manitol, da lactulose e a relação L/M, ajustando pela intensidade do alcoolismo (não/leve vs grave) + tabagismo (anos maço), permaneceu a significativa diferença entre os grupos em relação ao percentual de excreção de manitol ( $p=0,0488$ ) e a semelhança para relação L/M, mas a reduzida excreção da lactulose deixou de ser significativa no grupo com TBMR (**TABELA 12**).

**TABELA 12** - Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pela **intensidade do alcoolismo**<sup>1</sup> + **tabagismo**<sup>2</sup> nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	n	Media	DP <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>
<b>Percentual de excreção do manitol</b>	Sadios	41	16,52	1,0073	<b>0,0488</b>
	TBS	33	15,16	0,9713	
	TBMR	41	13,40	0,9291	
<b>Percentual de excreção da lactulose</b>	Sadios	41	0,4885	0,0759	0,1348
	TBS	33	0,4266	0,0732	
	TBMR	41	0,2958	0,0700	
<b>Relação Lactulose / Manitol</b>	Sadios	41	0,0300	0,0054	0,7494
	TBS	33	0,0250	0,0052	
	TBMR	41	0,0296	0,0050	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Desvio-padrão, <sup>4</sup>ANCOVA.

Para se verificar qual dos grupos diferia em relação ao percentual de excreção de manitol,  $p=0,0488$  (**TABELA 12**), em função da intensidade do alcoolismo + tabagismo, fez-se a comparação dos grupos dois a dois e encontrou-se: excreção significativamente menor no grupo com TBMR em comparação com os sadios,  $p=0,0182$ , não havendo diferença entre TBMR e TBS nem entre TBS e sadios (**TABELA 13**).

**TABELA 13** - Comparação dos grupos dois a dois em relação à média do percentual de excreção de manitol em função da **intensidade do alcoolismo<sup>1</sup> + tabagismo<sup>2</sup>**

Percentual de excreção do manitol	TBMR <sup>3</sup>		TBS <sup>4</sup>		SADIOS	
		p <sup>5</sup>		p <sup>5</sup>		p <sup>5</sup>
<b>Média</b>	13,40	0,1817 <sup>6</sup>	15,16	0,3191 <sup>7</sup>	16,52	<b>0,0182<sup>8</sup></b>
<b>Desvio-padrão</b>	0,9291		0,9713		1,0073	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Tuberculose Multirresistente, <sup>4</sup>Tuberculose sensível, <sup>5</sup>ANCOVA, <sup>6</sup>TBMR versus TBS, <sup>7</sup>TBS versus sadios, <sup>8</sup>TBMR versus sadios.

Ao se avaliar o comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pelo **IMC e diferença ponderal**, permaneceu a significativa diferença entre os grupos em relação ao percentual de excreção de manitol ( $p=0,0246$ ) e a semelhança para relação L/M, mas a reduzida excreção da lactulose deixou de ser significativa no grupo com TBMR. Após as múltiplas comparações, o percentual de excreção de manitol foi menor no grupo com TBMR ( $12,69\pm 0,89$ ) em relação aos sadios ( $16,48\pm 0,99$ ),  $p=0,0080$ , não havendo diferença nas outras comparações.

Usando-se a ANCOVA para verificar se os grupos diferem em relação ao percentual de excreção do manitol, da lactulose e a relação L/M, ajustando pelo deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo + tabagismo, encontrou-se significativa diferença entre os grupos em relação ao percentual de excreção de manitol,  $p=0,0322$ , não havendo diferença para o percentual de excreção de lactulose nem para a relação L/M (**TABELA 14**).

**TABELA 14** - Comportamento médio do percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol, ajustando o modelo fatorial pelo **deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo<sup>1</sup> + tabagismo<sup>2</sup>** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	n	Media	DP <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>
<b>Percentual de excreção do manitol</b>	Sadios	41	16,61	1,1574	<b>0,0322</b>
	TBS	30	16,03	1,0772	
	TBMR	41	13,18	0,9648	
<b>Percentual de excreção da lactulose</b>	Sadios	41	0,4389	0,0908	0,1666
	TBS	30	0,4932	0,0845	
	TBMR	41	0,3010	0,0757	
<b>Relação Lactulose / Manitol</b>	Sadios	41	0,0322	0,0065	0,6895
	TBS	30	0,0241	0,0061	
	TBMR	41	0,0287	0,0054	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Desvio-padrão, <sup>4</sup>ANCOVA

Para se verificar qual dos grupos diferia em relação ao percentual de excreção de manitol,  $p=0,0322$  (**TABELA 14**), em função do deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo e tabagismo, fez-se a comparação dos grupos dois a dois e encontrou-se: excreção significante-mente menor no grupo com TBMR (média= $13,13 \pm 0,9648$ ) em comparação com os sadios (média= $16,61 \pm 1,1514$ ),  $p=0,0291$  e em comparação com o grupo com TBS (média= $16,03 \pm 1,0772$ ),  $p=0,0369$ , não havendo diferença entre os portadores de TBS e sadios (**TABELA 15**).

**TABELA 15** - Comparação dos grupos dois a dois em relação à média do percentual de excreção de manitol em função do **deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo<sup>1</sup> e tabagismo<sup>2</sup>**.

Percentual de excreção do manitol	TBMR <sup>3</sup>	p <sup>5</sup>	TBS <sup>4</sup>	p <sup>5</sup>	SADIOS	p <sup>5</sup>
<b>Média</b>	13,18	<b>0,0369<sup>6</sup></b>	16,03	0,7307 <sup>7</sup>	16,61	<b>0,0291<sup>8</sup></b>
<b>Desvio-padrão</b>	0,9648		1,0772		1,1574	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Tuberculose Multirresistente, <sup>4</sup>Tuberculose sensível, <sup>5</sup>ANCOVA, <sup>6</sup>TBMR versus TBS, <sup>7</sup>TBS versus sadios, <sup>8</sup>TBMR versus sadios

#### 4.11.2 Correlação entre o transporte intestinal transcelular e paracelular e as características dos grupos estudados

Realizou-se ainda estudo de correlação para se verificar a associação linear entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação L/M e as diversas características dos voluntários. No grupo dos casos, foram encontrados correlação negativa significativa entre o percentual de excreção do manitol e o IMC ( $r=-0,3228$ ,  $p=0,0396$ ); correlação negativa significativa entre o percentual de excreção da lactulose e a albumina sérica ( $r=-0,4135$ ,  $p=0,0072$ ); e correlação negativa entre a relação L/M e as proteínas séricas ( $r=-0,3151$ ,  $p=0,0448$ ), albumina sérica ( $r=-0,3482$ ,  $p=0,0257$ ) e hemoglobina ( $r=-0,3381$ ,  $p=0,0306$ ) (**TABELA 16**).

**TABELA 16** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), no Ceará, 2006-2007.

Características	TBMR						
	% Manitol <sup>1</sup>			% Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
	N	R <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Idade (anos)	41	0,1353	0,3988	-0,0048	0,9765	-0,1730	0,2793
Renda <sup>5</sup> (sm - salários mínimos)	36	-0,0657	0,7034	0,0235	0,8918	-0,0512	0,7670
Renda Familiar (sm)	40	-0,0764	0,6394	0,0552	0,7353	0,0353	0,8286
Tabagismo (anos maço)	41	-0,0311	0,8467	-0,0415	0,7967	-0,0682	0,6718
Número tratamentos anteriores	41	0,0049	0,9759	-0,1380	0,3895	-0,0416	0,7963
P1DX <sup>6</sup> (anos)	41	0,0941	0,5585	-0,0436	0,7867	-0,1127	0,4831
PTAX <sup>6</sup> (semanas)	40	-0,0826	0,6125	0,0817	0,6164	0,0862	0,5968
P1DMR <sup>8</sup> (anos)	41	0,0906	0,5734	0,0072	0,9646	-0,0367	0,8200
PMRX <sup>9</sup> (anos)	41	0,0086	0,9572	-0,1328	0,4077	-0,1624	0,3105
Deficit Ponderal (PA/PH)%	41	-0,0067	0,9671	0,0343	0,8315	-0,0006	0,9972
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	41	-0,3228	<b>0,0396</b>	-0,0034	0,9832	-0,0446	0,7817
Proteínas Totais (g/dL)	41	0,1302	0,4172	-0,2418	0,1278	-0,3151	<b>0,0448</b>
Albumina (g/dL)	41	-0,1529	0,3398	-0,4135	<b>0,0072</b>	-0,3482	<b>0,0257</b>
Hemoglobina (g/dL)	41	0,1020	0,5257	-0,1658	0,3001	-0,3381	<b>0,0306</b>
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	41	0,0357	0,8247	-0,0090	0,9556	0,1547	0,3342
Linfócitos(%)	41	0,0444	0,7829	-0,0939	0,5595	-0,1929	0,2268

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária de manitol, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária de lactulose, <sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose/manitol, <sup>4</sup>Correlação linear de Pearson, <sup>5</sup>Renda individual, <sup>6</sup>Período entre o 1º diagnóstico e os exames, <sup>7</sup>Período entre tratamento atual e os exames, <sup>8</sup>Período entre o 1º tratamento e o diagnóstico de TBMR, <sup>9</sup>Período entre o diagnóstico de TBMR e os exames.

Entre os portadores de TBS, detectou-se correlação positiva significativa entre o percentual de excreção do manitol e a renda individual ( $r=0,3753$ ,  $p=0,0314$ ) e albumina sérica ( $r=0,3860$ ,  $p=0,0351$ ); notou-se correlação positiva significativa entre o percentual de excreção da lactulose e a renda individual ( $r=0,5330$ ,  $p=0,0014$ ) e a albumina sérica ( $r=0,3936$ ,  $p=0,0314$ ); detectou-se uma correlação positiva entre a relação L/M e a renda individual ( $r=0,3583$ ,  $p=0,0406$ ) e albumina sérica ( $r=0,4371$ ,  $p=0,0157$ ) (**TABELA 17**).

**TABELA 17** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários com tuberculose sensível (TBS), no Ceará, 2006-2007.

Características	TBS						
	N	Manitol <sup>1</sup>		Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
		r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Idade (anos)	33	-0,0709	0,6952	0,2368	0,1846	0,0695	0,7007
Renda <sup>5</sup> (sm - salários mínimos)	33	0,3753	<b>0,0314</b>	0,5330	<b>0,0014</b>	0,3583	<b>0,0406</b>
Renda Familiar (sm)	33	0,2597	0,1445	0,2896	0,1021	0,1575	0,3815
Tabagismo (anos maço)	33	-0,1645	0,3603	0,0466	0,7969	0,0749	0,6786
Número tratamentos anteriores	33	-0,0631	0,7274	0,0388	0,8302	0,0427	0,8134
P1DX <sup>6</sup> (anos)	33	0,0824	0,6486	0,2911	0,1003	0,1803	0,3153
PTAX <sup>7</sup> (semanas)	31	-0,1271	0,4956	-0,1140	0,5416	-0,0649	0,7286
Deficit Ponderal(PA/PH)%	33	0,3104	0,0788	0,1408	0,4344	0,1783	0,3210
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	33	0,1503	0,4039	0,2165	0,2262	0,1878	0,2952
Proteínas Totais (g/dL)	30	0,1644	0,3854	0,1971	0,2965	0,2142	0,2558
Albumina (g/dL)	30	0,3860	<b>0,0351</b>	0,3936	<b>0,0314</b>	0,4371	<b>0,0157</b>
Hemoglobina (g/dL)	33	0,1416	0,4320	0,2996	0,0903	0,2950	0,0956
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	33	0,1781	0,3215	0,0606	0,7375	0,0353	0,8454
Linfócitos(%)	33	-0,2477	0,1647	-0,1545	0,3907	-0,0646	0,7210

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária,

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol,

<sup>4</sup>Correlação linear de Pearson, <sup>5</sup>Renda individual

<sup>6</sup>Período entre o 1º diagnóstico e os exames, <sup>7</sup>Período entre o tratamento atual e os exames

No grupo dos sadios, encontrou-se correlação negativa significativa entre o percentual de excreção do manitol e o tabagismo (p=0,0175) (**TABELA 18**).

**TABELA 18** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características dos voluntários sadios, no Ceará, 2006-2007.

Características	SADIOS						
	Manitol <sup>1</sup>			Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
	N	R <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Idade (anos)	41	-0,1089	0,4980	0,1907	0,2324	0,2468	0,1198
Renda <sup>5</sup> (sm - salários mínimos)	41	-0,0333	0,8364	-0,1202	0,4542	-0,0832	0,6052
Renda Familiar (sm)	41	-0,0359	0,8235	-0,1698	0,2884	-0,1464	0,3611
Tabagismo (anos maço)	41	-0,3694	<b>0,0175</b>	-0,1195	0,4569	-0,0020	0,9901
Deficit Ponderal(PA/PH)%	41	-0,0625	0,6978	-0,1508	0,3465	-0,1133	0,4807
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	41	0,1019	0,5259	-0,0028	0,9861	-0,0477	0,7672
Proteínas Totais (g/dL)	41	0,2404	0,1300	0,1909	0,2319	0,1461	0,3621
Albumina (g/dL)	41	-0,2074	0,1932	-0,1526	0,3408	-0,0928	0,5639
Hemoglobina (g/dL)	41	-0,1020	0,5255	-0,0321	0,8419	-0,0327	0,8394
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	41	0,0294	0,8554	-0,0614	0,7028	-0,1533	0,3385
Linfócitos(%)	41	-0,0156	0,9231	0,1367	0,3940	0,1990	0,2122

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária,

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol,

<sup>4</sup>Correlação linear de Pearson, <sup>5</sup>Renda individual

Para se verificar melhor a influência das variáveis relacionadas aos tratamentos e das variáveis laboratoriais sobre o percentual de excreção de manitol, de lactulose e relação L/M, foi feita a correção por gênero, idade, renda, tabagismo, índice de massa corporal e diferença ponderal nos voluntários.

Nessa nova situação, entre os portadores de TBMR, mantiveram-se a correlação negativa significativa entre o percentual de excreção da lactulose e a albumina sérica ( $r=-0,4770$ ,  $p=0,0050$ ) e a correlação negativa entre a relação L/M e a albumina sérica ( $r=-0,3804$ ,  $p=0,0290$ ) e a hemoglobina ( $r=-0,3491$ ,  $p=0,0464$ ) (**TABELA 19**).



**TABELA 19** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, renda, tabagismo, índice de massa corporal e diferença ponderal nos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), no Ceará, 2006-2007.

Características	TBMR						
	N	Manitol <sup>1</sup>		Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
		r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Número tratamentos anteriores	41	-0,1981	0,2692	-0,1270	0,4812	0,0427	0,8137
P1DX <sup>5</sup> (anos)	40	-0,0290	0,8728	-0,0660	0,7151	-0,0682	0,7061
PTAX <sup>6</sup> (semanas)	39	-0,0589	0,7489	0,0937	0,6101	0,1367	0,4556
P1DMR <sup>7</sup> (anos)	40	-0,0831	0,6459	0,0369	0,8383	-0,0114	0,9498
PMRX <sup>8</sup> (anos)	40	0,1224	0,4973	-0,2478	0,1644	-0,1410	0,4338
Proteínas Totais (g/dL)	40	0,0934	0,6051	-0,2359	0,1863	-0,2707	0,1276
Albumina (g/dL)	40	-0,0698	0,6997	-0,4770	<b>0,0050</b>	-0,3804	<b>0,0290</b>
Hemoglobina (g/dL)	40	0,2786	0,1164	-0,1821	0,3105	-0,3491	<b>0,0464</b>
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	40	-0,0385	0,8316	-0,0076	0,9665	0,1418	0,4313
Linfócitos(%)	40	0,0902	0,6175	-0,0706	0,6963	-0,1100	0,5423

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária,

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol,

<sup>4</sup>Regressão Linear Múltipla, <sup>5</sup>Período entre o 1º diagnóstico e os exames

<sup>6</sup>Período entre tratamento atual e os exames, <sup>7</sup>Período entre 1º tratamento e o diagnóstico de TBMR,

<sup>8</sup>Período entre o diagnóstico de TBMR e os exames

Após a correção referida há pouco, entre os portadores de TBS, surgiram correlação negativa significativa entre o percentual de excreção da lactulose e o período entre o tratamento atual e o exame (PTAX) ( $r=-0,4120$ ,  $p=0,0455$ ) e correlação positiva da relação L/M com a albumina, que era significativa, agora é apenas limítrofe ( $p=0,0579$ ) (**TABELA 20**).

**TABELA 20** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, tabagismo, índice de massa corporal e deficit ponderal nos voluntários com tuberculose sensível (TBS), no Ceará, 2006-2007.

Características	TBS						
	N	Manitol <sup>1</sup>		Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
		r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Número tratamentos anteriores	33	0,1481	0,4703	0,2403	0,2370	0,2347	0,2485
P1DX <sup>5</sup> (anos)	33	0,0597	0,7722	0,2359	0,2459	0,1774	0,3861
PTAX <sup>6</sup> (semanas)	31	-0,2812	0,1831	-0,4120	<b>0,0455</b>	-0,3203	0,1270
Proteínas Totais (g/dL)	30	0,2675	0,2172	0,2500	0,2499	0,2778	0,1994
Albumina (g/dL)	30	0,2469	0,2561	0,3161	0,1417	0,4010	0,0579
Hemoglobina (g/dL)	33	-0,0807	0,6953	0,1568	0,4444	0,2029	0,3202
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	33	0,2644	0,1919	0,2019	0,3226	0,1340	0,5140
Linfócitos(%)	33	-0,2696	0,1830	-0,2841	0,1596	-0,1532	0,4549

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol, <sup>4</sup>Regressão Linear Múltipla, <sup>5</sup>Período entre o 1º diagnóstico e os exames, <sup>6</sup>Período entre tratamento o atual e os exames

No grupo dos sadios, após a correção, a correlação negativa significativa entre o tabagismo e o percentual de excreção de manitol desapareceu e não se observou nenhuma correlação entre a função intestinal e as variáveis estudadas (TABELA 21).

**TABELA 21** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, corrigindo por gênero, idade, tabagismo, índice de massa corporal e deficit ponderal nos voluntários sadios, no Ceará, 2006-2007.

Características	SADIOS						
	N	Manitol <sup>1</sup>		Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
		r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Proteínas Totais (g/dL)	41	0,1363	0,4421	0,2402	0,1713	0,2655	0,1291
Albumina (g/dL)	41	-0,2827	0,1052	-0,1431	0,4194	-0,0553	0,7561
Hemoglobina (g/dL)	41	0,0768	0,6659	-0,0827	0,6419	-0,0962	0,5885
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	41	0,1667	0,3462	0,0756	0,6710	-0,0717	0,6871
Linfócitos(%)	41	0,1210	0,4955	0,0727	0,6829	0,1749	0,3226

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol, <sup>4</sup>Regressão Linear Múltipla

Finalmente, foi feita avaliação com a junção de todos os portadores de TB, independentemente de serem sensíveis ou resistentes, para se verificar a correlação entre a função intestinal e as características estudadas em portadores de TB em geral. Foram encontradas correlação positiva significativa entre o percentual de excreção do manitol e a renda individual ( $r=0,2921$ ,  $p=0,0149$ ) e correlação positiva entre o percentual de excreção da lactulose e a renda ( $r=0,4793$ ,  $p=0,0001$ ) e renda familiar ( $r=0,2812$ ,  $p=0,0160$ ) (**TABELA 22**).

**TABELA 22** - Correlação entre o percentual de excreção do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol e as características, associando-se os voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR) e tuberculose sensível (TBS), no Ceará, 2006-2007.

Características	TB + TBMR						
	N	Manitol <sup>1</sup>		Lactulose <sup>2</sup>		L/M <sup>3</sup>	
		r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p	r <sup>4</sup>	p
Idade (anos)	74	-0,0099	0,9333	0,1092	0,3546	-0,0832	0,4808
Renda <sup>5</sup> (sm - salários mínimos)	69	0,2921	<b>0,0149</b>	0,4793	<b>0,0001</b>	0,1226	0,3154
Renda Familiar (sm)	73	0,2054	0,0814	0,2812	<b>0,0160</b>	0,0510	0,6684
Tabagismo (anos maço)	74	-0,1011	0,3915	0,0144	0,9033	-0,0297	0,8016
Número tratamentos anteriores	74	-0,1421	0,2271	-0,1353	0,2505	-0,0307	0,7950
P1DX <sup>6</sup> (anos)	74	0,0087	0,9416	0,0304	0,7974	0,0349	0,7679
PTAX <sup>7</sup> (semanas)	71	-0,1921	0,1085	0,0913	0,4487	0,1047	0,3851
Deficit Ponderal(PA/PH)%	74	0,1259	0,2850	0,0820	0,4873	0,0361	0,7601
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	74	-0,1509	0,1995	0,0623	0,5980	0,0050	0,9660
Proteínas Totais (g/dL)	71	0,2008	0,0931	0,0977	0,4176	-0,1555	0,1952
Albumina (g/dL)	71	0,1235	0,3049	0,1451	0,2272	-0,0785	0,5151
Hemoglobina (g/dL)	74	0,0924	0,4337	0,1245	0,2905	-0,1154	0,3275
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	74	0,1048	0,3742	0,0314	0,7907	0,1149	0,3295
Linfócitos(%)	74	-0,1321	0,2620	-0,1464	0,2132	-0,1355	0,2496

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária,

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol,

<sup>4</sup>Correlação linear de Pearson, <sup>5</sup>Renda individual

<sup>6</sup>Período entre o 1º diagnóstico e os exames, <sup>7</sup>Período entre o tratamento atual e os exames.

## 4.12 Concentrações séricas de rifampicina e isoniazida

### 4.12.1 Seleção da população em estudo

Foram realizadas dosagens séricas em um total de 90 voluntários, obedecendo à ordem de registro na pesquisa, iniciando pelo primeiro de cada grupo. Assim, o grupo com TBMR ficou composto por 32 voluntários, o grupo com TBS por 28 e o dos sadios por 30.

### 4.12.2 Caracterização sociodemográfica e do comportamento de risco

A idade mediana/variação de todos os voluntários foi 42,5/17-69 anos. Entre os 32 voluntários com TBMR, foi 41,5/17-61 anos. Para o grupo de 28 portadores de TBS, foi 36,5/21-69 anos. Para os 30 voluntários sem TB, foi 44,0/19-58 anos. Não houve diferença entre as distribuições das idades nos três grupos ( $p=0,1796$ ) (**TABELA 23**).

Eram do sexo feminino 45/90 (50,0%) voluntários. Entre os casos, 17/32 (53,1%) eram do sexo feminino e 15/32 (46,92%) do masculino; entre os controles com TBS, 12/28 (42,9%) eram do sexo feminino e 16/28 (57,1%) do masculino; e entre os controles sadios, 16/30 (53,3%) eram do gênero feminino e 14/30 (46,7%) do masculino, estatisticamente não havendo diferença na distribuição do sexo entre os grupos ( $p=0,676$ ) (**TABELA 23**).

Considerando-se sem escolaridade a união dos analfabetos e alfabetizados, 32/90 (35,6%) voluntários em geral não tinham escolaridade. Entre os casos, 20/32 (62,5%) eram sem escolaridade. No grupo com TBS, 11/28 (39,3%) não tinham escolaridade. Nos controles sadios, 1/30 (3,3%) eram sem escolaridade. Considerando-se boa escolaridade o agrupamento dos que tinham 2º e 3º grau, 39/90 (43,3%) voluntários em geral tinham boa escolaridade. Entre os portadores de TBMR, 6/32 (18,8%) tinham boa escolaridade. No grupo com TBS, 10/28 (35,7%) eram bem escolarizados. Entre os sadios, 23/30 (76,6%) tinham boa escolaridade (**TABELA 23**). Houve significativa diferença entre os grupos (Teste Exato de Fisher,  $p<0,001$ ). Comparando-se os grupos dois a dois, a proporção dos sem

escolaridade foi significativamente maior entre portadores de TBMR em relação aos sadios (OR=76,67; IC 95% [8,5-692,0]) e entre portadores de TBS em relação aos sadios (OR=25,3; IC 95% [2,9-223,3]), não havendo diferença entre portadores de TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

**TABELA 23** - Caracterização quanto à idade, gênero e escolaridade dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

<b>Características</b>	<b>TBMR</b>		<b>TBS</b>		<b>Sadios</b>		<b>P</b>
Idade (anos)	N	Mediana Variação	n	Mediana Variação	n	Mediana Variação	
	32	41,50 17,0-61,0	28	36,50 21,0-69,0	30	44,00 19,0-58,0	0,1796 <sup>1</sup>
Gênero	N	%	n	%	n	%	
Feminino	17	53,1	12	42,9	16	53,3	0,676 <sup>2</sup>
Masculino	15	46,9	16	57,1	14	46,7	
Total	32	100,0	28	100,0	30	100,0	
Escolaridade	N	%	n	%	n	%	p <sup>2</sup>
Analfabeto/alfabetizado	20	62,5	11	39,3	1	3,3	<b>&lt;0,001</b>
1º Grau	6	18,8	7	25,0	6	20,0	
2º / 3º Grau	6	18,8	10	35,7	23	76,7	
Total	32	100,0	28	100,0	30	100,0	

<sup>1</sup>Teste Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>Teste Exato de Fisher.

Os voluntários procederam de 11 diferentes municípios do Estado do Ceará. 75/90 (83,3%) participantes eram de Fortaleza, 2/90 (2,2%) eram de Maracanaú, 3/90 (3,3%) de Sobral, 2/90 (2,2%) de Juazeiro do Norte, 2/90 (2,2%) de Chaval e seis vinham de seis outros municípios do Ceará. No grupo com TBMR, 23/32 (71,9%) eram de Fortaleza, 3/32 (9,4%) de Sobral, 2/32 (6,3%) de Juazeiro do Norte, 1/32 (3,1%) de Maracanaú, 2/32 (6,3%), de Chaval e 1/32 (3,1%) de Caucaia. Entre os controles com TBS, 24/28 (85,7%) procediam de Fortaleza e quatro vinham de quatro outros municípios do Ceará. No grupo dos sadios, 28/30 (93,3%) eram de

Fortaleza, 1/30 (3,3%) de Maracanaú e 1/30 (3,3%) de Aquiraz. Estatisticamente não houve diferença na distribuição da procedência entre os grupos.

A mediana da renda individual foi um salário mínimo, variando de zero a 15 salários. Para os casos, a mediana foi um, variando de zero a 1,5. No grupo com TBS, a mediana foi 0,3, variando de zero a 5,6. Entre os sadios, a mediana foi 1,3, variando de zero a 15 ( $p < 0,0001$ ). Quanto à renda familiar, a mediana foi dois salários mínimos, variando de zero a 32 salários. Para os casos, a mediana foi um, variando de 0,5 a 2,5. No grupo com TBS, a mediana foi 1,25, variando de zero a 6,1. Entre os sadios, a mediana foi 4,1, variando de um a 32 salários mínimos (Teste Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Comparando-se os grupos dois a dois, a renda foi significativamente menor no grupo com TBMR em comparação com os sadios ( $p < 0,01$ ) e menor no grupo com TBS em relação aos sadios ( $p < 0,01$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS ( $p > 0,05$ ) (**TABELA 24**).

**TABELA 24** - Distribuição quanto à renda dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	$p^1$	TBS	$p^1$	Sadios	$p^1$
Renda individual (salários mínimos)	N	27		28		30	
	Mediana	1,0	$>0,01^2$	0,3	$<0,01^3$	1,3	$<0,01^4$
	Variação	0,0-1,5		0,0-5,6		0,0-15,0	
Renda familiar (salários mínimos)	N	31		28		30	
	Mediana	1,0	$>0,01^2$	1,25	$<0,01^3$	4,1	$<0,01^4$
	Variação	0,0-2,5		0,0-6,1		1,0-32,0	

<sup>1</sup>Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis, <sup>2</sup>TBMR versus TBS, <sup>3</sup>TBS versus sadios,

<sup>4</sup>TBMR versus sadios.

O tabagismo foi medido em anos-maço (am). A mediana dos anos-maço foi 0,85, variando de zero a 153 am. No grupo dos casos, a mediana foi 1,6, variando de zero a 153 am. Nos portadores de TBS, a mediana foi 9,5, variando de zero a 73,5 am. Entre os sadios, a mediana foi zero, variando de zero a 30 am

( $p < 0,0034$ ) (**TABELA 25**). Comparando-se os grupos dois a dois (Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis), houve tabagismo significativamente mais intenso nos portadores de TBMR em relação aos sadios ( $p < 0,05$ ) e no grupo com TBS em relação aos sadios ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS ( $p > 0,05$ ) (**APÊNDICE E**).

Quanto ao alcoolismo, encontrou-se que 24/90 (26,7%) dos voluntários em geral praticava alcoolismo grave. Entre os casos, 10/32 (31,3%), entre os portadores de TBS 12/28 (42,9%) e entre os sadios 2/30 (6,7%) eram alcoólatras graves ( $p = 0,005$ , **TABELA 25**). Comparando-se os grupos dois a dois, o alcoolismo grave foi significativamente maior entre portadores de TBMR em relação aos sadios (OR=13,0; IC 95% [2,1-81,5]) e entre portadores de TBS em relação aos sadios (OR=9,8; IC 95% [1,7-55,4]), não havendo diferença entre portadores de TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

O uso de drogas ilícitas foi reconhecido por 13/90 (14,4%) participantes. Entre os portadores de TBMR, 2/32 (6,3%) confirmaram uso de drogas ilícitas, no grupo com TBS, 10/28 (35,7%) e no grupo dos sadios, 1/30 (3,3%) ( $p = 0,001$ , **TABELA 25**). Após as comparações múltiplas entre os grupos, observou-se a drogadição ser mais acentuada no grupo com TBS em relação aos sadios (OR=8,5; IC 95% [1,7-42,1]), não havendo diferença entre TBMR e sadios nem entre TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

**TABELA 25** - Distribuição quanto ao tabagismo, alcoolismo e uso de drogas ilícitas dos voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, no Ceará, 2006-2007.

Tabagismo (anos-maço)	TBMR		TBS		Sadios		p
N	32		28		30		<b>0,0034<sup>1</sup></b>
Mediana	1,6		9,5		0,0		
Variação	0,0-153,0		0,0-73,5		0,0-30,0		
Alcoolismo	n	%	N	%	n	%	p
Não	17	53,1	8	28,6	15	50,0	<b>0,005<sup>2</sup></b>
Leve	5	15,6	8	28,6	13	43,3	
Grave	10	31,3	12	42,9	2	6,7	
Total	32	100,0	28	100,0	30	100,0	
Drogas ilícitas	N	%	N	%	n	%	p
Não	30	93,8	18	64,3	29	96,7	<b>0,001<sup>2</sup></b>
Sim	2	6,3	10	35,7	1	3,3	
Total	32	100,0	28	100,0	30	100,0	

<sup>1</sup>Teste Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>Teste Exato de Fisher.

#### 4.12.3 Avaliação clínico-laboratorial

A mediana/variação do índice de massa corporal (IMC) dos voluntários no dia da coleta dos exames foi 22,53/13,02-38,63 kg/m<sup>2</sup>. A mediana/variação do IMC dos casos foi de 19,91/13,02-38,44 kg/m<sup>2</sup>, dos portadores de TBS foi 20,26/15,68-26,30 kg/m<sup>2</sup> e dos sadios 24,83/19,23-38,63 kg/m<sup>2</sup> (Teste Kruskal Wallis, p<0,0001). Avaliando-se as diferenças entre os grupos, encontrou-se IMC significativamente menor entre portadores de TBMR em relação aos sadios (p<0,05) e entre TBS em relação aos sadios (p<0,05), não havendo diferença entre TBMR e TBS (p>0,05) (**TABELA 26**).

Os voluntários com TBMR tiveram mediana/variação de deficit ponderal de -5,33/-39,23-12,5%, semelhante ao deficit do grupo com TBS de -4,88/-19,0-7,8% e ausência de deficit ponderal no grupo dos sadios (Teste Kruskal Wallis, p<0,0001).



Essa diferença foi significativa ao se comparar TBMR com sadios e TBS com sadios ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença TB sensível e MR (**TABELA 26**).

As proteínas séricas apresentaram mediana/variação de 7,3/6,3-8,5 mg/dL no grupo dos casos, de 7,5/5,7-8,6 mg/dL nos portadores de TBS e de 7,2/6,6-7,9 mg/dL entre os sadios (Teste Kruskal Wallis,  $p < 0,0194$ ). Houve diferença significativa apenas entre TBS e sadios ( $p = 0,0467$ ) (**TABELA 26**).

A dosagem de albumina sérica teve média de  $4,17 \pm 0,3$  mg/dL nos casos, de  $4,14 \pm 0,47$  mg/dL nos portadores de TBS e  $4,65 \pm 0,25$  mg/dL nos sadios (ANOVA, Teste Brown-Forsythe,  $p < 0,0001$ ). Houve diferença significativa entre cada um dos grupos com TB em relação aos sadios ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença nos grupos com TB entre si (**TABELA 26**).

**TABELA 26** - Distribuição quanto ao estado nutricional dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR		TBS		Sadios	
Índice de massa corporal (IMC) (peso[kg]/altura <sup>2</sup> [m])	N	32	$p^1$	28	$p^1$	30	$p^1$
	Mediana	19,91	$>0,05^2$	20,26	<b><math>&lt;0,05^3</math></b>	24,83	<b><math>&lt;0,05^4</math></b>
	Variação	13,0-3,4		15,7-26,3		19,2-38,6	
Diferença ponderal (Peso atual/peso habitual)%	N	32		28		30	
	Mediana	-5,33	$>0,05^2$	-4,88	<b><math>&lt;0,05^3</math></b>	0,0	<b><math>&lt;0,05^4</math></b>
	Variação	-39,2-12,5		-19,0-7,8		-2,8-9,2	
Proteínas totais séricas (g/dL)	N	32		25		30	
	Mediana	7,3	$>0,05^2$	7,5	<b><math>0,0467^3</math></b>	7,2	$>0,05^4$
	Variação	6,3-8,5		5,7-8,6		6,5-7,9	
Albumina sérica (g/dL)	N	32		25		30	
	Média	4,17	$>0,05^2$	4,14	<b><math>&lt;0,05^3</math></b>	4,65	<b><math>&lt;0,05^5</math></b>
	Desvio-padrão	0,3		0,47		0,25	

<sup>1</sup>Teste de sub-hipóteses de Kruskal-Wallis, <sup>2</sup>TBMR versus TBS, <sup>3</sup>TBS versus sadios,

<sup>4</sup>TBMR versus sadios, <sup>5</sup>Teste de Tamhane.

Foi observada maior contagem no número de leucócitos sangüíneos nos portadores de TBMR e TBS em relação aos sadios, embora os valores estivessem dentro da normalidade ( $p < 0,0022$ ) (**TABELA 27**). A comparação dos grupos dois a dois (Teste de sub-hipóteses de Tamhane) confirmou a diferença significativa entre TBMR e sadios ( $p = 0,0014$ ) e entre TBS e sadios ( $p = 0,0041$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS ( $p = 0,8118$ ) (**APÊNDICE E**).

Quanto ao percentual de linfócitos sangüíneos, encontrou-se uma redução significativa nos grupos com TBMR e TBS em relação aos sadios, mas, ainda, nos limites inferiores da normalidade ( $p < 0,0001$ , **TABELA 27**). As múltiplas comparações entre os grupos (Teste de sub-hipóteses de Tamhane) revelou diferença significativa entre TBMR e sadios ( $p = 0,0002$ ), entre TBS e sadios ( $< 0,0001$ ) e menor percentual na TBS em relação à TBMR ( $p = 0,0379$ ) (**APÊNDICE E**).

Os níveis de hemoglobina foram menores nos portadores de TBMR e TBS em relação aos sadios, embora dentro dos limites da normalidade ( $p < 0,004$ , **TABELA 27**). As múltiplas comparações entre os grupos (teste de sub-hipóteses independentes pelos mínimos quadrados) confirmaram diferença significativa entre TBMR e sadios ( $p = 0,0024$ ) e entre TBS e sadios ( $p = 0,0011$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

**TABELA 27** - Distribuição das características: leucócitos, linfócitos e hemoglobina dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	TBS	Sadios	P
Leucócitos (p/mm <sup>3</sup> )	N	32	28	30	<b>0,0022<sup>1</sup></b>
	Média	8.807	8.643	6.585	
	Desvio-padrão	2.981	2.772	2.118	
Linfócitos (%)	N	32	28	30	<b>&lt;0,0001<sup>1</sup></b>
	Média	24	19	31	
	Desvio-padrão	8	6	9	
Hemoglobina (g/dL)	N	32	28	30	<b>&lt;0,0004<sup>2</sup></b>
	Média	13,5	13,6	14,1	
	Desvio-padrão	1,1	1,3	1,0	

<sup>1</sup>ANOVA, Teste F-Snedecor, <sup>2</sup>ANOVA, Teste Brown-Forsythe.

Ao se avaliar a qualidade do primeiro tratamento, observou-se um predomínio de intolerância medicamentosa, 21,9% (7/32) *versus* 0,0% (0/26) e de irregularidade, excluindo-se a intolerância aos medicamentos, 12,5% (4/32) vs 3,8% (1/26), confrontando-se grupo resistente vs sensível, respectivamente, e um menor percentual de tratamentos regulares, 56,3% (18/32) vs 80,8 % (21/26) e um menor índice de abandono, 9,4% (3/32) vs 15,4% (4/26), comparando-se resistentes vs sensíveis. Não foi possível verificar a significância estatística na diferença dessas características, nesses grupos devido ao pequeno número amostral.

A análise do número de tratamentos, período entre o primeiro diagnóstico de TB e o exame e período entre o tratamento atual e o exame, na amostra que teve os níveis sanguíneos de RMP e INH dosados (n=90), se comportou de modo semelhante ao da amostra total do estudo (n=115) (**TABELA 10**).

Não houve nenhuma associação dos três grupos de estudo com as patologias pesquisadas: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), diabetes, infecção ou doença pelo HIV (apenas um voluntário do grupo com TBS se recusou a se submeter ao teste anti-HIV; todos os outros, incluindo os três grupos, tiveram

sorologia anti-HIV negativa), doença psiquiátrica, parasitas intestinais e outras (Teste Exato de Fisher,  $p > 0,05$ ).

Houve predominância do padrão radiológico bilateral/cavitário 68,8% (22/32) no grupo com TBMR, contra 31,2% (10/28) no grupo com TBS (Teste Exato de Fisher,  $p = 0,0159$ ).

Quanto ao *status* bacilar no período de um mês, antes ou após a realização do estudo, não se encontrou diferença entre os voluntários com TBMR ou TBS (Teste Exato de Fisher,  $p = 0,0687$ ).

#### 4.12.4 Análise da absorção intestinal

A média $\pm$ desvio-padrão do percentual de excreção urinária de manitol diferiu entre os grupos (**TABELA 28**). Ao se comparar os grupos dois a dois, houve excreção de manitol significativamente menor nos portadores de TBMR (12,84 $\pm$ 4,69) em relação aos sadios (16,59 $\pm$ 5,14) (Teste de sub-hipóteses de Tamhane,  $p = 0,0109$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios nem entre TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

A mediana/variação do percentual de excreção urinária de lactulose também diferiu entre os grupos (**TABELA 28**). Nas múltiplas comparações, a excreção da lactulose foi significativamente menor nos casos (0,30/0,0-0,79) em relação aos sadios (0,41/0,13-1,90) (Teste de sub-hipóteses de Kruskal Wallis,  $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios nem entre TBMR e TBS (**APÊNDICE E**).

A relação lactulose/manitol foi semelhante nos três grupos (**TABELA 28**).

**TABELA 28** - Percentual de excreção urinária do manitol, da lactulose e relação lactulose/manitol em voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

		TBMR	TBS	Sadios	P
% Manitol <sup>1</sup>	N	32	28	30	<b>0,0380</b> <sup>5</sup>
	Média	12,84	14,87	16,59	
	DP <sup>4</sup>	4,69	7,06	5,14	
% Lactulose <sup>2</sup>	N	32	28	30	<b>0,0426</b> <sup>6</sup>
	Mediana	0,30	0,26	0,41	
	Variação	0,0-0,79	0,0-3,15	0,13-1,90	
Lactulose/Manitol <sup>3</sup>	N	32	28	30	0,5149 <sup>6</sup>
	Mediana	0,02	0,02	0,03	
	Variação	0,0-0,10	0,0-0,09	0,01-0,13	

<sup>1</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>2</sup>Percentual de excreção urinária

<sup>3</sup>Relação entre o percentual de excreção urinária de lactulose e a de manitol

<sup>4</sup>Desvio-padrão, <sup>5</sup>Teste F-Snedecor, <sup>6</sup>Teste Kruskal-Wallis

#### 4.12.5 Avaliação das doses utilizadas de rifampicina e isoniazida

A dose de RMP ingerida pelos voluntários teve média geral igual a  $10,05 \pm 1,60$  mg/kg, tendo sido significativamente menor no grupo dos sadios ( $9,05 \pm 1,43$  mg/kg), seguida pela média do grupo com TBMR ( $10,41 \pm 1,67$  mg/kg) e pela média dos portadores de TBS ( $10,72 \pm 1,14$  mg/kg) ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 29**). Ao se comparar os grupos dois a dois, constatou-se haver diferença significativa entre as médias do grupo com TBMR e sadios ( $p = 0,0003$ ) e TBS e sadios ( $p < 0,0001$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos com TBMR e TBS ( $p = 0,4186$ ) (**APÊNDICE E**).

A dose de INH ingerida pelos voluntários teve média geral igual a  $6,7 \pm 1,07$  mg/kg, tendo sido significativamente menor no grupo dos sadios ( $6,03 \pm 0,95$  mg/kg), seguida pela média do grupo com TBMR ( $6,94 \pm 1,12$  mg/kg) e pela média dos portadores de TBS ( $7,15 \pm 0,76$  mg/kg) ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 29**). Ao se comparar os grupos dois a dois, constatou-se haver diferença significativa entre as médias do grupo com TBMR e sadios ( $p = 0,0003$ ) e TBS e sadios ( $p < 0,0001$ ), não

havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos com TBMR e TBS ( $p=0,4186$ ) (**APÊNDICE E**).

**TABELA 29** - Avaliação das doses de rifampicina e isoniazida ingeridas nos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios Ceará, 2006-2007.

<b>Droga</b>		<b>TBMR</b>	<b>TBS</b>	<b>Sadios</b>	<b>p<sup>2</sup></b>
<b>Dose de Rifampicina/peso (mg/kg)</b>	N	32	28	30	<b>&lt;0,0001</b>
	Média	10,41	10,72	9,05	
	DP <sup>1</sup>	1,67	1,14	1,43	
<b>Dose de Isoniazida/peso (mg/kg)</b>	N	32	28	30	<b>&lt;0,0001</b>
	Média	6,94	7,15	6,03	
	DP <sup>1</sup>	1,12	0,76	0,95	

<sup>1</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>ANOVA, Teste F-Snedecor.

#### 4.12.6 Avaliação das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida

A concentração mediana de RMP duas horas (CR2) depois de sua ingestão foi significativamente menor nos portadores de TBS (1,77 µg/mL) do que nos casos (4,51 µg/mL) e do que nos sadios (7,29 µg/mL) ( $p=0,0004$ ). Depois de seis horas da ingestão, a concentração média de RMP (CR6) nos portadores de TBS foi  $1,35 \pm 1,13$  µg/mL, significativamente menor que a dos casos, que foi  $3,58 \pm 2,20$  µg/mL e que a dos sadios que foi  $5,57 \pm 2,61$  µg/mL ( $p < 0,0001$ ). A concentração mediana máxima/variação da RMP (CRX), definida como a maior concentração dosada, independentemente do tempo após a ingestão, foi menor nos voluntários com TBS (2.11/0.022-12.60 µg/mL) do que nos portadores de TBMR (5.37/0.21-19.92) e do que nos sadios (8.19/1.46-18.97 µg/mL) ( $p < 0,0001$ ) (**TABELA 30**).

Ao se comparar os grupos dois a dois, para CR2, constatou-se haver diferença significativa entre as médias do grupo com TBMR e sadios ( $p=0,0003$ ) e TBS e sadios ( $p < 0,0001$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa entre

os grupos com TBMR e TBS ( $p>0,05$ ). Para a CR6, houve diferença significativa para todas as comparações dos grupos dois a dois ( $p<0,0003$ ). Ao se analisar CRX, houve diferença significativa ao se comparar os casos com os sadios ( $p<0,05$ ) e o grupo TBS com os sadios ( $p<0,001$ ), não havendo diferença ao se comparar os casos com TBS ( $p>0,05$ ) (**APÊNDICE E**).

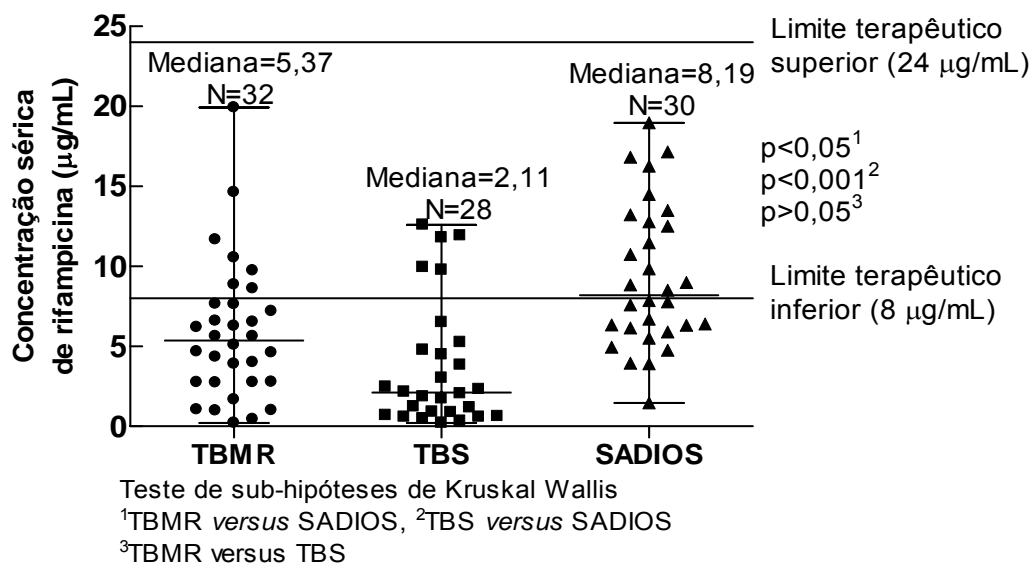
**TABELA 30** - Concentração sérica duas horas e seis horas após a ingestão e a concentração máxima de rifampicina e isoniazida em voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios Ceará, 2006-2007.

Droga e tempo da dosagem ( $\mu\text{g/ml}$ )	TBMR N=32	TBS N=28	Sadios N=30	P
	Mediana Variação média $\pm$ DP <sup>1</sup>	Mediana Variação média $\pm$ DP <sup>1</sup>	Mediana Variação média $\pm$ DP <sup>1</sup>	
Rifampicina 2 horas	4,51 0,13-19,92	1,77 0,14-12,63	7,29 0,09-18,97	<b>0,0004</b> <sup>2</sup>
Rifampicina 6 horas	3,58 $\pm$ 2,20	1,36 $\pm$ 1,13	5,57 $\pm$ 2,61	<b>&lt;0,0001</b> <sup>3</sup>
Rifampicina máxima <sup>5</sup>	5,37 0,21-19,92	2,11 0,22-12,60	8,19 1,46-18,97	<b>&lt;0,0001</b> <sup>2</sup>
Isoniazida 2 horas	3,58 $\pm$ 1,31	3,27 $\pm$ 1,23	2,79 $\pm$ 1,19	<b>0,0488</b> <sup>4</sup>
Isoniazida 6 horas	1,40 0,0-6,12	0,65 0,15-2,35	0,93 0,0-2,59	<b>0,0155</b> <sup>2</sup>
Isoniazida máxima <sup>5</sup>	3,82 $\pm$ 1,18	3,27 $\pm$ 1,23	2,79 $\pm$ 1,19	<b>0,0046</b> <sup>4</sup>

<sup>3</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>Teste Kruskal-Wallis, <sup>3</sup>ANOVA, Teste Brawn Forsythe,

<sup>4</sup>ANOVA, Teste F-Snedecor, <sup>5</sup>Maior concentração independente do tempo após a ingestão.

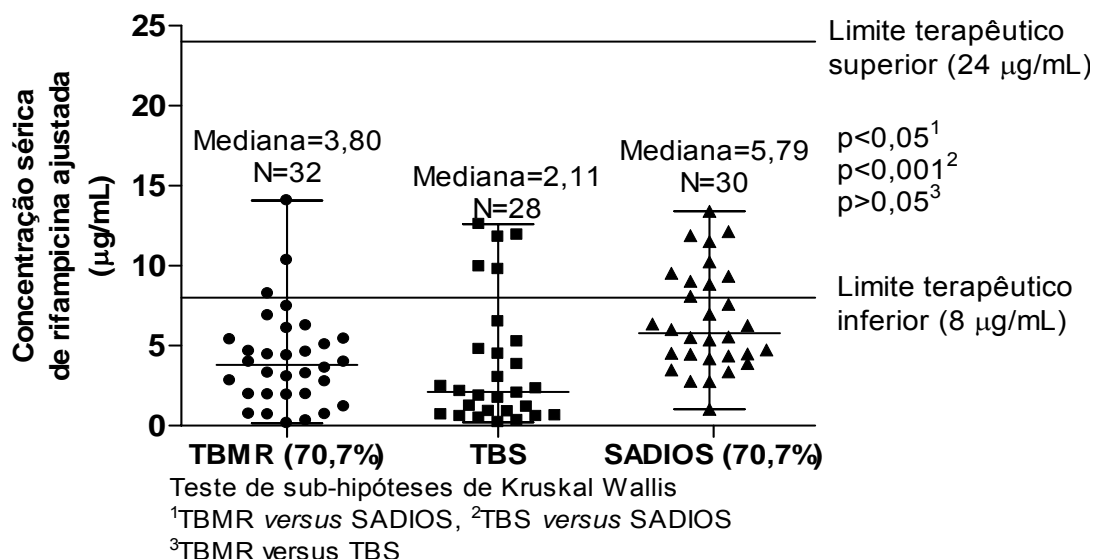
As medianas da CRX dos voluntários com TBMR e TBS ficaram abaixo do nível normal esperado e para os sadios ficaram próximo ao limite inferior da normalidade (**FIGURA 6a**).



**FIGURA 6a** - Concentração sérica máxima e limites esperados de rifampicina em voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios. Ceará, 2006-2007.

O uso continuado da RMP provoca auto-indução das enzimas hepáticas e, a partir do quarto dia, os níveis sanguíneos se mantêm mais baixos 29,3% em média (ACOCELLA 1971). O grupo portador de TBS usava RMP diariamente havia seis semanas em média (PTAX, **TABELA 10**). Os grupos de portadores de TBMR e de sadios ingeriram a RMP apenas no dia das dosagens sanguíneas. Fez-se, pois, uma adaptação para que os grupos se tornassem semelhantes. Foram, então, reduzidos os resultados das dosagens desses dois grupos em 29,3%. Mesmo assim, a CRX mediana dos sadios continuou significativamente maior do que a dos casos e portadores de TBS ( $p=0,0005$ ). As múltiplas comparações entre os grupos também mantiveram o mesmo grau de significância (**FIGURA 6b**).





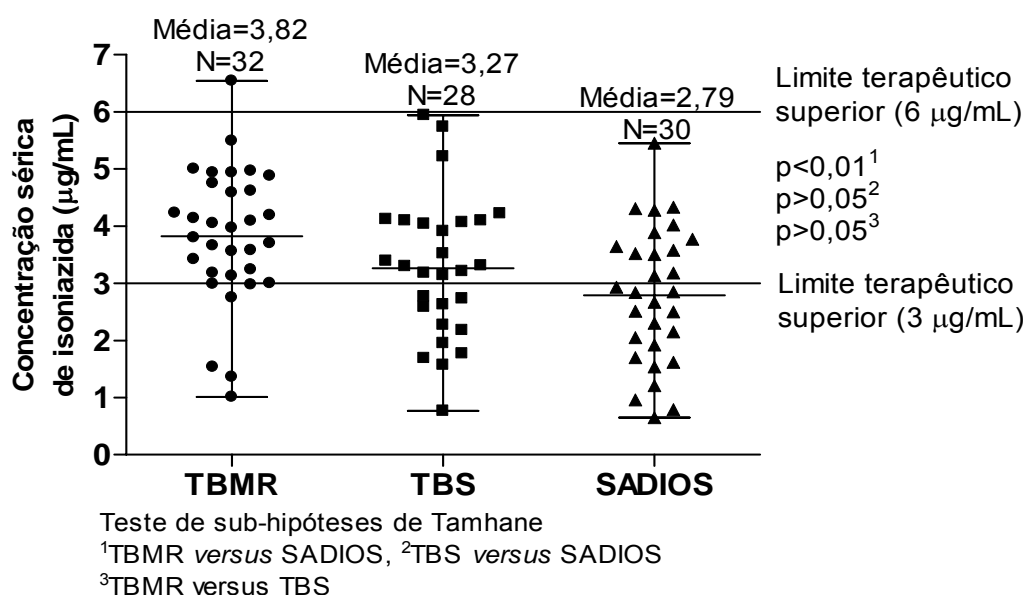
**FIGURA 6b** - Concentração sérica máxima ajustada (grupo TBMR e sadios) e limites esperados de rifampicina em voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, Ceará, 2006-2007.

A concentração média de INH duas horas (CH2) depois de sua ingestão foi significativamente menor nos sadios ( $2,79 \pm 1,19$  µg/mL) do que nos casos ( $3,58 \pm 1,31$  µg/mL) e portadores de TBS ( $3,27 \pm 1,23$  µg/mL) ( $p=0,0488$ ). Depois de seis horas da ingestão, a concentração mediana de INH (CH6) nos sadios foi 0,93 µg/mL, significativamente menor do que a dos casos, que foi 1,40 µg/mL e maior que dos portadores de TBS, que foi 0,65 µg/mL ( $p=0,0155$ ). A concentração média máxima de INH (CHX), definida como a maior concentração dosada, independentemente do tempo após a ingestão, foi menor nos voluntários sadios ( $2,79 \pm 1,19$  µg/mL) do que nos casos ( $3,82 \pm 1,18$ ) e portadores de TBS  $3,27 \pm 1,23$  µg/mL) ( $p=0,0046$ ) (**TABELA 30** e **FIGURA 7**).

Ao se comparar os grupos dois a dois, para a CH2, constatou-se haver diferença significativa entre as médias dos casos e sadios ( $p=0,0147$ ), não havendo diferença entre as médias dos casos e portadores de TBS nem entre portadores de TBS e sadios ( $p > 0,05$ ). Para a CH6, houve diferença significativa entre os casos e

sadios e entre os casos e portadores de TBS ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre portadores de TBS e sadios ( $p = 0,3298$ ). Ao se analisar CHX, houve diferença significativa ao se comparar os casos com os sadios ( $p < 0,01$ ), não havendo diferença entre o grupo com TBS e sadios ( $p = 0,1375$ ) nem entre os casos e o grupo portador de TBS ( $p = 0,0766$ ) (**APÊNDICE E**).

A média da CHX dos voluntários sadios ficou abaixo do limite terapêutico inferior, enquanto as dos casos e portadores de TBS ficaram nos limites inferiores da normalidade (**FIGURA 7**).



**FIGURA 7** - Concentração sérica máxima e limites esperados de isoniazida em voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios, Ceará, 2006-2007.

Considerando-se os níveis normais esperados da RMP ( $8-24 \mu\text{g/mL}$ ), dentre os selecionados para avaliação da biodisponibilidade das drogas antituberculose, observou-se que  $25/32$  ( $78,1\%$ ) portadores de TBMR não atingiram uma CRX de  $8 \mu\text{g/mL}$ . Considerando-se como muito baixo um nível de  $\text{CRX} < 4 \mu\text{g/mL}$ ,  $11/32$  ( $34,4\%$ ) casos se mantiveram nessa categoria. Entre os voluntários com TBS,  $23/28$  ( $82,1\%$ ) tiveram  $\text{CRX} < 8 \mu\text{g/mL}$  e  $19/28$  ( $67,9\%$ ) tiveram  $\text{CRX} < 4$

$\mu\text{g/mL}$ . Entre os sadios, 15/30 (50%) tiveram  $\text{CRX} < 8 \mu\text{g/mL}$  e 3/30 (10%) tiveram  $\text{CRX} < 4 \mu\text{g/mL}$ . O percentual de voluntários com TBMR e TBS com  $\text{CRX} < 8 \mu\text{g/mL}$  e  $< 4 \mu\text{g/mL}$  foi significativamente maior do que o percentual de voluntários sadios nessas condições ( $p=0,016$  e  $p<0,001$  respectivamente) (**TABELA 31a**). Efetuando-se as comparações entre os grupos, para  $\text{CRX} < 8 \mu\text{g/mL}$ , a diferença foi significativa entre casos e sadios ( $\text{OR}=3,57$ ; IC 95% [1,19-10,75]) e entre TBS e sadios ( $\text{OR}=4,60$ ; IC 95% [1,38-15,32]), não havendo diferença entre TBMR e TBS (**APÊNDICE E**). As múltiplas comparações para  $\text{CRX} < 4 \mu\text{g/mL}$  (Teste Exato de Fisher), revelaram diferença significativa entre TBMR e sadios ( $p=0,0327$ ), entre TBS e sadios ( $p<0,0001$ ) e entre TBMR e TBS ( $p=0,0191$ ).

A CRX só foi alcançada na dosagem de seis horas após a ingestão da RMP em 12/32 (37,5%) casos, em 4/28 (14,3%) portadores de TBS e em 5/30 (16,7%) sadios. Houve, um predomínio entre os casos na demora em atingir a CRX, mas, sem significância estatística (Teste Exato de Fisher,  $p=0,0603$ ).

Considerando-se os níveis normais esperados da INH (3-6  $\mu\text{g/mL}$ ), observou-se que 6/32 (18,8%) portadores de TBMR não atingiram uma CHX mínima esperada. Considerando-se como muito baixo um nível de  $\text{CHX} < 2 \mu\text{g/mL}$ , 3/32 (9,4%) casos se mantiveram nessa categoria. Entre os voluntários com TBS, 11/28 (39,3%) tiveram  $\text{CHX} < 3 \mu\text{g/mL}$  e 5/28 (17,9%) tiveram  $\text{CHX} < 2 \mu\text{g/mL}$ . Entre os sadios, 17/30 (56,7%) tiveram  $\text{CHX} < 3 \mu\text{g/mL}$  e 8/30 (26,7%) tiveram  $\text{CHX} < 2 \mu\text{g/mL}$ . O percentual de voluntários com TBS e sadios com  $\text{CHX} < 3 \mu\text{g/mL}$  foi significativamente maior do que o percentual dos casos nessas condições ( $p=0,008$ ). Já os percentuais, dentro dos grupos, com  $\text{CHX} < 2 \mu\text{g/mL}$ , foram semelhantes ( $p=0,225$ ) (**TABELA 31a**). Comparando-se os grupos dois a dois para avaliar a  $\text{CHX} < 3 \mu\text{g/mL}$ , constatou-se haver diferença significativa apenas entre TBMR e sadios ( $\text{OR}=4,67$ ; IC 95% [1,55-14,12]) (**APÊNDICE E**). As comparações dois a dois para  $\text{CHX} < 2 \mu\text{g/mL}$  não revelaram diferença entre os grupos.

A CHX foi alcançada na dosagem de duas horas após a ingestão da INH em todos os sadios e portadores de TBS e em 29/32 (90,6%) portadores de TBMR.

**TABELA 31a** - Distribuição dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios quanto aos níveis terapêuticos esperados de rifampicina e isoniazida no Ceará, 2006-2007.

DROGAS	Valor de referência	TBMR		TBS		SADIOS		p <sup>2</sup>
		N	%	N	%	N	%	
<b>Total</b>		32	100,0	28	100,0	30	100,0	
<b>RMP<sup>1</sup> 2 horas</b>	< 8 µg/mL	25	78,1	23	82,1	16	53,3	0,037
	< 4 µg/mL	14	43,8	19	67,9	7	23,3	0,003
<b>RMP<sup>1</sup> 6 horas</b>	< 8 µg/mL	31	96,9	28	100,0	25	83,3	—
	< 4 µg/mL	20	62,5	27	96,4	9	30,0	< 0,001
<b>RMP<sup>1</sup> máxima<sup>3</sup></b>	< 8 µg/mL	25	<b>78,1</b>	23	<b>82,1</b>	15	<b>50,0</b>	<b>0,016</b>
	< 4 µg/mL	11	<b>34,4</b>	19	<b>67,9</b>	3	<b>10,0</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>INH<sup>4</sup> 2 horas</b>	< 3 µg/mL	9	28,1	11	39,3	17	56,7	0,071
	< 2 µg/mL	4	12,5	5	17,9	8	26,7	0,391
<b>INH<sup>4</sup> 6 horas</b>	< 3 µg/mL	27	84,4	28	100,0	30	100,0	—
	< 2 µg/mL	24	75,0	26	92,9	27	90,0	0,144
<b>INH<sup>4</sup> máxima<sup>3</sup></b>	< 3 µg/mL	6	<b>18,8</b>	11	<b>39,3</b>	17	<b>56,7</b>	<b>0,008</b>
	< 2 µg/mL	3	9,4	5	17,9	8	26,7	0,225

<sup>1</sup>Rifampicina, <sup>2</sup>Teste exato de Fisher,

<sup>3</sup>Maior concentração dosada independente do tempo após a ingestão, <sup>4</sup>Isoniazida.

Após o ajuste (redução de 29,3%) dos níveis séricos dos grupos dos casos e dos sadios, verificou-se que o predomínio da distribuição dos voluntários quanto aos baixos níveis de CRX continuou no grupo dos portadores de TBMR e TBS, em relação aos sadios, tanto para CRX<8 µg/mL (p=0,074) como para CRX<4 µg/mL (p=0,001) (**TABELA 31b**). As comparações múltiplas, para CRX<8 µg/mL, após a redução, mostraram as mesmas diferenças entre os grupos (**APÊNDICE E**).

**TABELA 31b** - Distribuição dos voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios quanto aos níveis terapêuticos esperados de rifampicina, após ajuste nos grupos TBMR e sadios, no Ceará, 2006-2007.

DROGAS	Valor de referência	TBMR		TBS		SADIOS		p <sup>2</sup>
		N	%	N	%	N	%	
<b>Total</b>		32	100,0	28	100,0	30	100,0	
<b>RMP<sup>1</sup> 2 horas</b>	< 8 µg/mL	29	90,6	23	82,1	20	66,7	0,074
	< 4 µg/mL	19	59,4	19	67,9	8	26,7	0,007
<b>RMP<sup>1</sup> 6 horas</b>	< 8 µg/mL	32	100,0	28	100,0	29	96,7	—
	< 4 µg/mL	26	81,3	27	96,4	18	60,0	0,002
<b>RMP<sup>1</sup> máxima<sup>3</sup></b>	< 8 µg/mL	29	<b>90,6</b>	23	<b>82,1</b>	20	<b>66,7</b>	<b>0,074</b>
	< 4 µg/mL	18	<b>56,3</b>	19	<b>67,9</b>	6	<b>20,0</b>	<b>0,001</b>

<sup>1</sup>Rifampicina, <sup>2</sup>Teste exato de Fisher,

<sup>3</sup>Maior concentração dosada independente do tempo após a ingestão.

Seis dos 32 (18,8%) casos, 3/28 (10,7%) voluntários com TBS e 8/30 (26,7%) sadios não alcançaram o nível esperado de nenhuma das drogas. Vinte dos 32 (62,5%) casos, 16/28 (57,1%) portadores de TBS e 12/30 (40,0%) sadios tiveram concentração sérica dentro dos limites terapêuticos para apenas uma das drogas. Seis dos 32 (18,8%) casos, 9/28 (32,1%) voluntários com TBS e 10/30 (33,3%) sadios tiveram as duas drogas com os níveis normais esperados (p=0,284) (TABELA 32).

**TABELA 32** - Distribuição quanto ao número de drogas antituberculose dentro dos níveis terapêuticos entre os voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios no Ceará, 2006-2007.

Número De drogas	TBMR		TBS		SADIOS		P <sup>1</sup>
	N	%	N	%	N	%	
<b>0</b>	6	18,8%	3	10,7%	8	26,7%	0,284
<b>1</b>	20	62,5%	16	57,1%	12	40,0%	
<b>2</b>	6	18,8%	9	32,1%	10	33,3%	
<b>Total</b>	32	100,0	28	100,0	30	100,0	

<sup>1</sup>Teste exato de Fisher.

#### 4.13 Análise de variância das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, em função das características dos grupos estudados

Não houve diferença na CRX nem CHX, ao se comparar o quadro radiológico da TB, não cavitário vs cavitário nos grupos com TBMR e TBS. O mesmo ocorreu ao se analisar o *status* bacilar, no período de um mês do dia do estudo.

A análise da CRX, pela presença ou ausência de parasitas intestinais, mostrou média±desvio-padrão (média±dp) maior nos três grupos, sem parasitas, em relação aos respectivos grupos com parasitas, mas a diferença só foi significativa entre sadios sem parasitas (11,77±4,14) em relação aos sadios com parasitas (7,45±3,89),  $p=0,005$  (TABELAS 33 e 34).

Para a CHX, não houve diferença para a presença ou ausência de parasitismo intestinal (TABELAS 33 e 34).

**TABELA 33** - Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, pela presença ou ausência de **parasitas intestinais** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	Presença de parasitas			Ausência de parasitas		
		n	média	Dp <sup>1</sup>	n	média	Dp <sup>1</sup>
<b>CRX</b> <sup>2</sup> µg/mL	Sadios	17	7,45	3,89	13	11,77	4,14
	TBS	17	2,81	3,50	10	5,56	4,28
	TBMR	18	5,48	3,79	14	6,27	4,99
<b>CHX</b> <sup>3</sup> µg/mL	Sadios	17	2,56	1,14	13	3,09	1,23
	TBS	17	3,53	1,09	10	2,74	1,39
	TBMR	18	3,92	1,34	14	3,69	0,97

<sup>1</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>Concentração sérica máxima de rifampicina,

<sup>3</sup>Concentração sérica máxima de isoniazida.

**TABELA 34** - Comparação dos grupos dois a dois em relação às médias das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida em função da presença ou ausência de **parasitas intestinais** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

<b>CRX<sup>4</sup></b>	<b>Grupo/parasitas</b>	Sadio/ <sup>-1</sup>	TBS/ <sup>-1</sup>	TBS/ <sup>+2</sup>	TBMR/ <sup>+2</sup>
	Sadio/ <sup>+2</sup>	<b>0,0050<sup>3</sup></b>		<b>0,0013<sup>3</sup></b>	0,1577 <sup>3</sup>
	TBS/ <sup>-1</sup>	<b>0,0005<sup>3</sup></b>		0,0933 <sup>3</sup>	
	TBS/ <sup>+2</sup>		0,0933 <sup>3</sup>		0,0555 <sup>3</sup>
	TBMR/ <sup>-1</sup>	<b>0,0007<sup>3</sup></b>	0,6782 <sup>3</sup>		0,5911 <sup>3</sup>
<b>CHX<sup>5</sup></b>					
	Sadio/ <sup>+2</sup>	0,2340		<b>0,0209</b>	<b>0,0011</b>
	TBS/ <sup>-1</sup>	0,4842		0,1008	
	TBS/ <sup>+2</sup>		0,1008		0,3288
	TBMR/ <sup>-1</sup>	0,1962	0,0575		0,5836

<sup>1</sup>Ausência de parasitas intestinais, <sup>2</sup>Presença de parasitas intestinais, <sup>3</sup>ANOVA,

<sup>4</sup>Concentração sérica máxima de rifampicina, <sup>5</sup>Concentração sérica máxima de isoniazida.

A análise da CRX, pelo alcoolismo leve (ausência+leve) vs grave, não revelou diferença dentro dos mesmos grupos (comparando-se sadios leves vs sadios graves, TBS leve vs TBS grave ou TBMR leve vs TBMR grave). As diferenças encontradas foram entre diferentes grupos (**TABELAS 35 e 36**).

Para a CHX, a média±dp dos sadios com alcoolismo leve foi significativamente maior (2,92±1,12) do que a dos sadios com alcoolismo grave (1,00±0,3), p=0,0291. As outras diferenças encontradas foram entre diferentes grupos (**TABELAS 35 e 36**).

**TABELA 35** - Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, pela intensidade do **alcoolismo** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	Alcoolismo grave			Alcoolismo leve		
		n	média	Dp <sup>1</sup>	n	média	Dp <sup>1</sup>
<b>CRX</b> <sup>2</sup> µg/mL	Sadios	2	8,20	4,61	28	9,40	4,56
	TBS	12	3,67	4,30	16	3,77	3,77
	TBMR	10	6,39	5,62	22	5,57	3,67
<b>CHX</b> <sup>3</sup> µg/mL	Sadios	2	1,00	0,30	28	2,92	1,12
	TBS	12	3,08	0,83	16	3,41	1,48
	TBMR	10	3,90	1,01	22	3,79	1,27

<sup>1</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>Concentração sérica máxima de rifampicina,

<sup>3</sup>Concentração sérica máxima de isoniazida

**TABELA 36** - Comparação dos grupos dois a dois em relação às médias das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida em função da intensidade do **alcoolismo** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

<b>CRX</b> <sup>4</sup>	<b>Grupo/alcoolismo</b>	Sadio/- <sup>1</sup>	TBS/- <sup>1</sup>	TBS/+ <sup>2</sup>	TBMR/+ <sup>2</sup>
	Sadio/+ <sup>2</sup>	0,5858 <sup>3</sup>		0,3873 <sup>3</sup>	0,8460 <sup>3</sup>
	TBS/- <sup>1</sup>	<b>0,0007</b> <sup>3</sup>		0,9199 <sup>3</sup>	
	TBS/+ <sup>2</sup>		0,9199 <sup>3</sup>		0,2345 <sup>3</sup>
	TBMR/- <sup>1</sup>	<b>0,0081</b> <sup>3</sup>	0,3191 <sup>3</sup>		0,5621 <sup>3</sup>
<b>CHX</b> <sup>5</sup>	Sadio/+ <sup>2</sup>	<b>0,0291</b> <sup>3</sup>		<b>0,0239</b> <sup>3</sup>	<b>0,0022</b> <sup>3</sup>
	TBS/- <sup>1</sup>	0,1939 <sup>3</sup>		0,4685 <sup>3</sup>	
	TBS/+ <sup>2</sup>		0,4685 <sup>3</sup>		0,1097 <sup>3</sup>
	TBMR/- <sup>1</sup>	<b>0,0118</b> <sup>3</sup>	0,3289 <sup>3</sup>		0,8108 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>leve, <sup>2</sup>grave, <sup>3</sup>ANOVA, <sup>4</sup>Concentração sérica máxima de rifampicina,

<sup>5</sup>Concentração sérica máxima de isoniazida



Pela análise de variância, parece não haver influência do tabagismo (anos maço) na CRX e CHX.

Usando-se a análise de variância com covariáveis (ANCOVA), para verificar se os grupos diferem em relação às médias da CRX e CHX, ajustando pela intensidade do alcoolismo (não/leve vs grave) + tabagismo (anos maço), encontrou-se significativa diferença entre os grupos em relação à CRX ( $p=0,0133$ ) e CHX ( $p=0,0009$ ) (**TABELA 37**).

**TABELA 37** - Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pela **intensidade do alcoolismo<sup>1</sup> + tabagismo<sup>2</sup>** nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	<b>Grupos</b>	<b>n</b>	<b>Média</b>	<b>DP<sup>3</sup></b>	<b>P<sup>4</sup></b>
<b>CRX<sup>5</sup></b>	Sadios	9	8,20	3,07	<b>0,0133</b>
	TBS	21	3,67	1,26	
	TBMR	20	6,40	1,41	
<b>CHX<sup>6</sup></b>	Sadios	9	0,99	0,84	<b>0,0009</b>
	TBS	21	3,10	0,35	
	TBMR	20	3,94	0,39	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Desvio-padrão, <sup>4</sup>ANCOVA,

<sup>5</sup>Concentração sérica máxima de rifampicina, <sup>6</sup>Concentração sérica máxima de isoniazida.

Para se verificar qual dos grupos diferia em relação à CRX e CHX,  $p=0,0133$  e  $0,0009$ , respectivamente (**TABELA 37**), em função da intensidade do alcoolismo + tabagismo, fez-se a comparação dos grupos dois a dois e encontrou-se: CRX significativamente menor no grupo com TBS em comparação com os sadios,  $p=0,0062$ , não havendo diferença entre TBMR e TBS nem entre TBMR e sadios e CHX, agora, com redução mais profunda, sendo significativamente menor nos sadios em relação aos grupos com TBMR ( $p=0,0002$ ) e TBS ( $p=0,0097$ ), não havendo diferença entre TBMR e TBS (**TABELA 38**).

**TABELA 38** - Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função da **intensidade do alcoolismo<sup>1</sup> + tabagismo<sup>2</sup>**.

Concentração sérica de Rifampicina	TBMR <sup>3</sup>	p <sup>5</sup>	TBS <sup>4</sup>	p <sup>5</sup>	SADIOS	p <sup>5</sup>
<b>Média</b>	6,40	0,0577 <sup>6</sup>	3,67	<b>0,0062<sup>7</sup></b>	8,20	0,1260 <sup>8</sup>
<b>Desvio-padrão</b>	1,41		1,26		3,07	
Concentração sérica de Isoniazida						
<b>Média</b>	3,94	0,0607 <sup>6</sup>	3,10	<b>0,0097<sup>7</sup></b>	0,99	<b>0,0002<sup>8</sup></b>
<b>Desvio-padrão</b>	0,39		0,35		0,84	

<sup>1</sup>Não+leve/grave, <sup>2</sup>Anos maço, <sup>3</sup>Tuberculose Multirresistente, <sup>4</sup>Tuberculose sensível, <sup>5</sup>ANCOVA, <sup>6</sup>TBMR versus TBS, <sup>7</sup>TBS versus sadios, <sup>8</sup>TBMR versus sadios.

Continuando as avaliações por meio da ANCOVA para verificar se os grupos diferem em relação à CRX e CHX, ajustando, agora, pelo índice de massa corporal e deficit ponderal encontrou-se significante diferença entre os grupos, tanto na CRX (p=0,0001) como na CHX (p=0,0371) (**TABELA 39**).

**TABELA 39** - Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pelo **índice de massa corporal e deficit ponderal**, nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	Média	DP <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
<b>Concentração sérica de Rifampicina</b>	Sadios	9,42	0,86	<b>0,0001</b>
	TBS	3,75	0,84	
	TBMR	5,71	0,78	
<b>Concentração sérica de Isoniazida</b>	Sadios	3,01	0,23	<b>0,0371</b>
	TBS	3,11	0,23	
	TBMR	3,76	0,21	

<sup>1</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>ANCOVA

Para se verificar qual dos grupos diferia em relação à CRX e CHX,  $p=0,0001$  e  $0,0371$ , respectivamente (**TABELA 39**), em função do índice de massa corporal e deficit ponderal, fez-se a comparação dos grupos dois a dois e encontrou-se: CRX significativamente menor no grupo com TBS em comparação com os sadios,  $p<0,0001$  e em comparação com o grupo da TBMR,  $p=0,0027$ , não havendo diferença entre TBMR e TBS. A CHX então ficou significativamente menor nos sadios em relação aos grupos com TBMR ( $p=0,0243$ ) e no portador de TBS em relação ao grupo com TBMR ( $p=0,0378$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios (**TABELA 40**).

**TABELA 40** - Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função do **índice de massa corporal e deficit ponderal**.

Concentração sérica de rifampicina	TBMR <sup>1</sup>	p <sup>3</sup>	TBS <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>	SADIOS	p <sup>3</sup>
Média	5,71	0,0889 <sup>4</sup>	3,75	<0,0001 <sup>5</sup>	9,42	0,0027 <sup>6</sup>
Desvio-padrão	0,78		0,84		0,86	
Concentração sérica de isoniazida						
Média	3,76	0,0378 <sup>4</sup>	3,11	0,7687 <sup>5</sup>	3,01	0,0243 <sup>6</sup>
Desvio-padrão	0,21		0,23		0,23	

<sup>1</sup>Tuberculose Multirresistente, <sup>2</sup>Tuberculose sensível, <sup>3</sup>ANCOVA, <sup>4</sup>TBMR versus TBS, <sup>5</sup>TBS versus sadios, <sup>6</sup>TBMR versus sadios.

Finalmente, foi feito ajuste pelo índice de massa corporal, deficit ponderal, albumina e hemoglobina tendo-se encontrado diferença na CRX ( $p=0,0038$ ) e CHX ( $p=0,452$ ) entre os grupos estudados (**TABELA 41**).

**TABELA 41** - Comportamento médio das concentrações séricas de rifampicina e isoniazida, ajustando o modelo fatorial pelo **índice de massa corporal e deficit ponderal, albumina e hemoglobina**, nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente (TBMR), tuberculose sensível (TBS) e sadios, no Ceará, 2006-2007.

	Grupos	Média	DP <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
<b>Concentração sérica de Rifampicina</b>	Sadios	8,80	0,93	<b>0,0038</b>
	TBS	3,91	0,92	
	TBMR	6,03	0,80	
<b>Concentração sérica de Isoniazida</b>	Sadios	3,07	0,24	<b>0,0452</b>
	TBS	3,11	0,24	
	TBMR	3,76	0,21	

<sup>1</sup>Desvio-padrão, <sup>2</sup>ANCOVA.

Para se verificar qual dos grupos diferia em relação à CRX e CHX,  $p=0,0038$  e  $0,0452$ , respectivamente (**TABELA 41**), em função do índice de massa corporal, deficit ponderal, albumina e hemoglobina, fez-se a comparação dos grupos dois a dois e encontrou-se: a CRX manteve-se em nível semelhante, assim como as múltiplas comparações entre os grupos. A CHX agora ficou significativamente menor nos portadores de TBS em relação ao grupo com TBMR ( $p=0,0416$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios, nem entre TBMR e sadios (**TABELA 42**).

**TABELA 42** - Comparação dos grupos dois a dois em relação à média da concentração sérica de rifampicina e isoniazida em função do **índice de massa corporal, deficit ponderal, albumina e hemoglobina**.

Concentração sérica de Rifampicina	TBMR <sup>1</sup>	p <sup>3</sup>	TBS <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>	SADIOS	p <sup>3</sup>
<b>Média</b>	6,03	0,0784 <sup>4</sup>	3,91	<b>0,0009<sup>5</sup></b>	8,80	<b>0,0392<sup>6</sup></b>
<b>Desvio-padrão</b>	0,8		0,92		0,93	
Concentração sérica de Isoniazida						
<b>Média</b>	3,76	<b>0,0416<sup>4</sup></b>	3,11	0,9151 <sup>5</sup>	3,07	0,0511 <sup>6</sup>
<b>Desvio-padrão</b>	0,21		0,24		0,24	

<sup>1</sup>Tuberculose Multirresistente, <sup>2</sup>Tuberculose sensível, <sup>3</sup>ANCOVA, <sup>4</sup>TBMR versus TBS, <sup>5</sup>TBS versus sadios, <sup>6</sup>TBMR versus sadios.

#### 4.14 Correlação entre as doses utilizadas de rifampicina e isoniazida e suas concentrações séricas.

Houve correlação significativa entre as doses, por quilograma de peso, utilizadas de RMP e INH e suas concentrações séricas, nas quatro correlações pesquisadas, no grupo dos sadios ( $p \leq 0,0396$ ). Já entre os portadores de TB, tanto multirresistente como sensível, houve correlação entre a CHX e as doses tanto de RMP como INH ( $p \leq 0,0005$ ), mas não houve correlação entre a CRX e as doses utilizadas de RMP e INH no grupo com TBMR nem TBS ( $p > 0,5374$ ) (**TABELA 43**).

**TABELA 43** - Correlação entre as doses ingeridas de rifampicina e isoniazida e suas concentrações séricas nos grupos de voluntários com tuberculose multirresistente, tuberculose sensível e sadios no Ceará, 2006-2007.

GRUPO		Dose RMP <sup>1</sup> / kg		Dose INH <sup>2</sup> / kg	
		r <sup>3</sup>	p	r <sup>3</sup>	p
TBMR	Rifampicina máxima <sup>4</sup>	0,108	0,5573	0,113	0,5374
	Isoniazida máxima <sup>4</sup>	0,384	<b>0,0298</b>	0,388	<b>0,0329</b>
TBS	Rifampicina máxima <sup>4</sup>	0,058	0,7710	0,049	0,8036
	Isoniazida máxima <sup>4</sup>	0,596	<b>0,0008</b>	0,615	<b>0,0005</b>
SADIOS	Rifampicina máxima <sup>4</sup>	0,529	<b>0,0027</b>	0,529	<b>0,0027</b>
	Isoniazida máxima <sup>4</sup>	0,382	<b>0,0372</b>	0,378	<b>0,0396</b>

<sup>1</sup>Rifampicina, <sup>2</sup>Isoniazida, <sup>3</sup>Correlação linear de Pearson

<sup>4</sup>Maior concentração dosada independente do tempo após a ingestão.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Considerações gerais

A TBMR é uma entidade nosológica bastante grave e temida em todo o mundo, com altos índices de mortalidade. Um exemplo bem recente que pode ratificar essa afirmação é o desfecho terapêutico, um ano após, dos grupos que participaram do presente estudo. Dos 28 pacientes com TBS, 24/28 (85,71%) tiveram alta curados, 2/28 (7,14%) abandonaram o tratamento e 2/28 (7,14%) tiveram o *follow-up* perdido. Dos 32 com TBMR, 17/32 (53,13%) tiveram alta curados ou evoluem muito bem, 12/32 (37,5%) tiveram falência do tratamento para TBMR e 3/32 (9,38%) evoluíram para o óbito. O bom desfecho foi significativamente melhor no grupo com TBS em relação ao da TBMR (85,71% vs 53,13%, Teste Exato de Fisher,  $p=0,0114$ ), devendo-se ainda ressaltar a ocorrência de 3/32 (9,38%) óbitos entre os portadores de TBMR contra nenhum no grupo com TBS, no período de um ano, em uma população com idade mediana de 43 anos (variação=17-69 anos).

Muitos têm sido os fatores, já bem estudados, implicados no desenvolvimento da resistência às drogas antituberculose, entre eles: não-adesão ao tratamento, intrínseca ao paciente ou decorrente de relação equipe de saúde-paciente insatisfatória, pobreza extrema, doença extensa, alcoolismo e tabagismo associados, tratamentos inadequados com o uso de esquemas ou doses incorretas, intolerância medicamentosa e até falhas no fornecimento da medicação (BARROSO, 2003a, BARROSO, 2003b). Outros fatores, contudo, são subestimados e merecem ser estudados e dimensionados quanto ao seu papel no desenvolvimento da multirresistência. Entre eles, destacam-se a qualidade da medicação antituberculose ofertada e a capacidade absorptiva intestinal, fatores esses capazes de alterar a biodisponibilidade das drogas antituberculose e assim contribuir para o desenvolvimento e disseminação de multirresistência, o que atualmente representa preocupação mundial em todos os programas de controle da tuberculose.

## 5.2 Qualidade das drogas antituberculose

Para garantia da qualidade das drogas anti-TB utilizadas no estudo, foi mantido contato com o diretor do Projeto MSH – Joël Keravec – e com o diretor do CRPHF – Miguel Aihub Hijjar – para se obter medicamentos com o controle de qualidade externo, isto é, fornecido por outro órgão sem vínculo com o fabricante. Dessa maneira, foram fornecidas todas as cápsulas de RMP+INH em DFCs, extraídas de lote que passara pelo controle e fora aprovado pelo INCQS. Haviam sido realizados, no contexto do programa de controle, os testes previstos na Farmacopéia Brasileira, conforme regulação da vigilância sanitária (teor e identificação do princípio ativo, uniformidade de conteúdo, aspecto, dissolução, peso médio e substâncias relacionadas)

Todos os pacientes receberam medicamentos do mesmo lote. O lote usado foi 05070517, RMP+INH, 150 e 100 mg respectivamente, do – LAFEPE. Cópias dos boletins completos de análise dos produtos, extraídos do sistema de gerenciamento de amostras do INCQS estão em anexo (**ANEXO I**). Vale salientar que em tentativa anterior foram encontrados medicamentos não aprovados.

## 5.3 Limitações do estudo

Neste estudo foram realizadas apenas duas dosagens sanguíneas. Uma possibilidade que poderia ser aventada para justificar os resultados encontrados seria a coleta do sangue antes que a concentração sérica tivesse atingido seu pico, pois, foram realizadas apenas duas dosagens: duas e seis horas após a ingestão dos medicamentos. Espera-se que o pico seja atingido em duas horas (MEHTA *et al.*, 2001), no entanto, mesmo em pacientes em que a absorção acontece de uma forma retardada, esta ocorre entre duas horas e seis horas após a ingestão. A dosagem das drogas nesses dois tempos é capaz de distinguir entre absorção retardada e má absorção (DIGENES, 1994; PELOQUIN *et al.*, 1999). Eventualmente, o pico pode ser atingido antes das duas horas depois da ingestão,

entretanto, quando isso ocorre, em geral, ainda é possível detectá-lo duas horas depois da ingestão (PELOQUIN, 2002).

#### **5.4 Considerações sobre a absorção intestinal transcelular e paracelular**

Absorção é um processo dinâmico e dela depende inicialmente a biodisponibilidade da droga. Quando a administração é por via oral, a biodisponibilidade também poderá sofrer o efeito da primeira passagem no fígado, onde pode ser modificada por metabolização, além de poder ser metabolizada por enzimas intestinais (AMSDEN *et al.* 2005).

O comportamento da permeabilidade intestinal em indivíduos com TB merece ser estudado, pela possível repercussão que alterações na absorção das drogas utilizadas para o tratamento possam ter no surgimento da resistência do *M. tuberculosis*.

Não existe até o momento padrão-ouro entre os métodos empregados para avaliar a permeabilidade intestinal. Em relação ao teste L/M, também ainda não está definida uma faixa de normalidade, o que dificulta a comparação dos resultados e obriga a inclusão sistemática de grupos-controle para a análise conclusiva das alterações da permeabilidade intestinal nas diversas situações.

O resultado do teste L/M pode ser alvo da interferência de vários fatores, inclusive a osmolaridade da solução-teste empregada. É possível a indução de aumento de permeabilidade intestinal a lactulose em indivíduos sadios quando a osmolaridade da solução utilizada ultrapassa 1.500 mOsm/L. A permeabilidade de uma solução isoosmolar pode aumentar 1,5 a 2,8 vezes, caso sua osmolaridade alcance 1.500 e 2.300 mOsm/L, respectivamente. Esse aumento de permeabilidade que ocorre de acordo com o aumento da osmolaridade não tem sido observado em relação ao manitol, cuja permeabilidade se mantém inalterada, mesmo quando são utilizadas soluções com osmolaridades ainda maiores. Nas primeiras 12 horas



depois da ingestão de dose única de antiinflamatórios não hormonais do tipo ibuprofeno, indometacina ou naproxeno pode ocorrer alteração da permeabilidade intestinal em voluntários sadios, voltando aos valores normais entre um e quatro dias (BJANARSON *et al.*, 1986). Para excluir a possibilidade de a diferença entre os grupos ser atribuída à diferença na osmolaridade, a solução-teste utilizada, ela foi preparada artesanalmente com todo o rigor, no mesmo laboratório, pelo mesmo técnico, e utilizando o mesmo procedimento, inclusive para o acondicionamento, e foi administrada aos diferentes grupos pelo mesmo investigador.

Fatores constitucionais como sexo e idade não parecem ser variáveis de importância para alterações da permeabilidade intestinal. A excreção urinária de lactulose e de manitol parece diminuir a partir dos 75 anos, sem interferir na relação L/M (SAWIERS *et al.*, 1985; SALTZMAN *et al.*, 1995). Nas amostras recrutadas para a presente avaliação, não houve diferença a um nível de significância de 5% na distribuição quanto a sexo e idade nos grupos participantes da pesquisa.

Neste estudo, foi encontrada uma diminuição tanto da área de absorção intestinal - via transcelular (menor percentual de excreção de manitol) como na permeabilidade intestinal - via paracelular (menor percentual de excreção de lactulose) – nos portadores de TBMR e TBS em comparação aos sadios (**FIGURAS 4 e 5**). Ao se comparar os grupos dois a dois, verificou-se diferença significativa entre os grupos com TBMR e sadios ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença entre TBS e sadios nem entre TBMR e TBS (**APÊNDICE D**). A relação L/M se manteve semelhante nos três grupos.

Como houve diferença no grau de alcoolismo entre os grupos (**TABELA 5 e APÊNDICE D**), a diminuição na excreção urinária de manitol poderia ser atribuída ao alcoolismo.

Os estudos de Keshavarzian *et al.* (1994) sobre a excreção urinária de lactulose e manitol mostram resultados diferentes na intoxicação alcoólica aguda e no etilismo crônico. Segundo esses autores, não foram encontradas alterações significativas na excreção urinária de lactulose e manitol após doses intravenosas e orais de etanol em pacientes não alcoólatras. Em etilistas crônicos, entretanto, a razão lactulose/manitol aumentou quando comparados a voluntários sadios, em

virtude da menor absorção do manitol. Esses parâmetros voltaram à normalidade após um período de abstinência entre sete e 14 dias.

O mecanismo pelo qual o álcool altera a permeabilidade intestinal não está esclarecido. Ma *et al.* (1999) demonstraram que o etanol em doses menores do que 10% produziu uma quebra progressiva da proteína ZO-1, com a conseqüente separação das junções celulares e formação de *gaps* entre as células epiteliais e, como conseqüência, foi observado aumento da permeabilidade intestinal via paracelular. Neste ensaio houve diminuição nessa via de permeabilidade intestinal.

As informações sobre etilismo crônico são, em sua maioria, subjetivas e de aferição difícil, mas a freqüência de sua associação com tuberculose está bem estabelecida e, além disso, o etilismo crônico pode dar lugar a uma série de alterações no tubo digestivo, algumas das quais tendo como conseqüência a má absorção de nutrientes, como a tiamina, o ácido fólico, a vitamina B12 e o ferro, entre outros. Como resultado, quase sempre se observam anemia e desnutrição em pacientes alcoólatras.

O alcoolismo isolado não se mostrou associado ao percentual de excreção de lactulose, de manitol nem com a relação L/M (**TABELA 11**). Ao se avaliar a associação alcoolismo + tabagismo, verificou-se que a união desses dois fatores manteve a diminuição significativa no percentual de excreção de manitol no grupo com TBMR em relação aos sadios, mas fez desaparecer a significância do menor percentual de excreção de lactulose nos portadores de TBMR em relação aos sadios (**FIGURA 4** e **TABELAS 12** e **13**). Isso sugere que a associação alcoolismo+tabagismo é mais importante para o baixo percentual de excreção de lactulose do que a própria TBMR. Diferente do estudo de Keshavarzian *et al.* (1994), que estudou apenas alcoolismo, aqui a excreção de lactulose diminuiu quase na mesma proporção que o manitol entre os grupos, ficando a relação L/M semelhante. Em outro estudo publicado em 1997 (HIRSCH *et al.*), também só para alcoolismo, os resultados foram semelhantes aos da pesquisa ora relatada.

A desnutrição é outro fator a ser considerado como causa de alteração da permeabilidade intestinal. Como houve diferença no estado nutricional entre os

grupos (**TABELAS 6 e 7**), a diminuição na excreção urinária de manitol poderia ser atribuída, pelo menos parcialmente, à diminuição na área de absorção intestinal em desnutridos. Já a permeabilidade intestinal (percentual de excreção de lactulose) tem se mostrado aumentada em desnutridos (BREWSTER *et al.*, 1997; WELSH *et al.*, 1998a; VAN DER HULST *et al.*, 1998), o que não foi o caso no estudo atual. Ao se ajustar a análise pelo IMC e diferença ponderal, desapareceu a diferença na excreção de lactulose entre os grupos e foi mantida a significativamente baixa excreção do manitol nos portadores de TBMR em relação aos sadios. Isso sugere que o IMC e o deficit ponderal são mais importantes para o baixo percentual de excreção de lactulose do que a própria TBMR.

Outros estudos corroboram os achados de ruptura da função de barreira intestinal com aumento da permeabilidade a macromoléculas e aumento na translocação bacteriana, em desnutridos (BARBOZA JÚNIOR *et al.* 1999; LUNN; NORTHROP-CLEWES; DOWNES, 1991a, 1991b; CAMPBELL; ELIA; LUNN, 2003; LUNN, 2000), repete-se, diferentes dos achados da experiência aqui registrada.

Fez-se um estudo da função intestinal, analisando-se conjuntamente diversas características que se mostraram fortemente associadas ao grupo com TBMR, a seguir: deficit ponderal, índice de massa corporal, albumina, hemoglobina e intensidade do alcoolismo e tabagismo. Encontrou-se, então, significante redução no percentual de excreção de manitol no grupo com TBMR, tanto em relação ao grupo sadio ( $p=0,0291$ ) como em relação ao grupo TBS ( $p=0,0369$ ) (**TABELAS 14 e 15**).

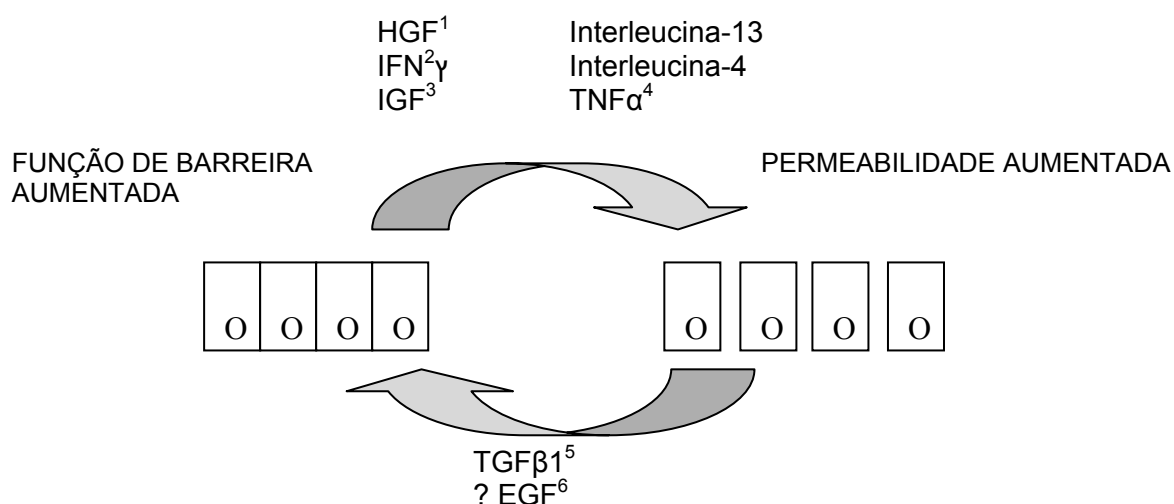
Realizou-se, ainda, um estudo de correlação entre as diversas variáveis e a função intestinal em cada grupo estudado. No grupo dos casos, foram encontrados correlação negativa significativa entre o percentual de excreção do manitol e o IMC, correlação negativa significativa entre o percentual de excreção da lactulose e a albumina sérica, e correlação negativa entre a relação L/M e as proteínas séricas, albumina sérica e hemoglobina. Essas características refletem o estado nutricional, portanto esses resultados estão de acordo com os estudos já citados. Foi contraditória, no entanto, a correlação negativa entre o percentual de excreção de manitol e o IMC (**TABELA 16**). No grupo com TBS, houve correlação positiva do percentual de excreção do manitol com a albumina, também refletindo o estado

nutricional, como seria de se esperar, já as outras correlações significantes encontradas não são coerentes à luz dos conhecimentos atuais (**TABELA 17**). Entre os sadios, encontrou-se correlação negativa entre o tabagismo e percentual de excreção de manitol, o que seria de se esperar pela vasoconstrição generalizada (através da nicotina) que o tabagismo exerce no organismo. Portanto, quanto maior o tabagismo, menor o poder de absorção intestinal (**TABELA 18**). Ao se fazer correção por gênero, idade, tabagismo, IMC e deficit ponderal, permaneceu, entre os casos, a correlação negativa entre a relação L/M e a albumina e a hemoglobina (**TABELA 19**).

Algumas publicações sugerem que a própria tuberculose possa ser a responsável por essa alteração na permeabilidade intestinal (menor excreção urinária de lactulose). Os parâmetros inflamatórios intestinais estudados por Pinheiro (2003) em voluntários com tuberculose sinalizam para a existência de processo inflamatório intestinal sem associação com a presença de parasitoses. Considerando que a tuberculose pulmonar interfere na produção de citocinas, estas poderiam ter um efeito lesivo direto na mucosa intestinal, nas microvilosidades, alterando a permeabilidade intestinal com repercussão na absorção intestinal (MEHTA *et al.*, 2001).

Neste estudo, observou-se redução significativa da lactulose e do manitol excretados na urina de portadores de TBMR e TBS em relação ao grupo de sadios, corroborando a hipótese de que o processo inflamatório produzido pela infecção reduziria o espaço intercelular (zonas de oclusão), reduzindo a absorção paracelular, o que pode ter repercussão na absorção de medicamentos utilizados para o tratamento da doença. Esses achados estão de acordo com os resultados encontrados por Pinheiro *et al.* (2006) para grupo com TBS contra voluntários sãos. Em 2007, Façanha *et al.* concluíram estudo também entre portadores de TBS e controles sãos, onde se observou diminuição no percentual de excreção de lactulose e manitol no grupo com TBS, embora essa redução tenha sido significativa apenas para a excreção da lactulose. É possível que o estado nutricional mais comprometido, nos portadores de TB, no estudo de Pinheiro *et al.* (2006) e no presente, possa ter contribuído para a significativa diminuição na área de absorção (absorção transcelular).

A relação L/M, nos três estudos, ficou igual ou mostrou uma diminuição não significativa nos grupo com TB em relação aos controles sãos. Em geral, é considerada anormal uma relação lactulose/manitol aumentada, como ocorre na diarreia, às custas do aumento na excreção de lactulose (aumento na absorção intercelular) e diminuição na excreção do manitol (excreção transcelular). A tuberculose pode estar associada à produção de citocinas que atuam nas zonas de oclusão, seja no citoesqueleto de actina ou nas proteínas intrínsecas dessa região (**FIGURA 8**) (WALSH; HOPKINS; NUSRAT, 2000).



**FIGURA 8**<sup>7</sup> - Efeitos de citocinas na função de barreira das células epiteliais intestinais T84. Muitas citocinas induzem o aumento da permeabilidade através do epitélio intestinal humano. TGFβ1 exerce o efeito oposto, aumentando a função da barreira intestinal. O efeito do EGF permanece não elucidado.

<sup>1</sup> Fator de crescimento do hepatócito, <sup>2</sup> Interferon γ, <sup>3</sup> Fator de crescimento intestinal, <sup>4</sup> Fator de necrose tumoral, <sup>5</sup> Fator de crescimento e transformação β1, <sup>6</sup> Fator de crescimento epidermal

<sup>7</sup> Walsh, Hopkins, Nusrat. *Adv. Drug Deliv.* Ver. v. 41, p. 3003-13, 2000.

Fortes *et al.* publicaram em 2005 estudo para avaliar a resposta imune ao antígeno ESAT-6 do *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes com TBMR e comparar a portadores de TB não resistente (NR) e controles sadios. Portadores de TBMR produziram menores níveis ( $p < 0,05$ ) de IFNγ ( $553 \pm 11$  pg/ml) em relação aos portadores de TB NR ( $1179 \pm 163$  pg/ml,  $p < 0,05$ ), mas semelhantes aos controles sadios ( $412 \pm 65$  pg/ml). Significante diferença ( $p < 0,03$ ) foi também detectada

quando foi comparado o grupo com TBMR com o grupo de controles sadios, agora com teste tuberculínico positivo ( $1553 \pm 158$  pg/ml). Para determinar a resposta inflamatória nos grupos, dosaram os níveis de TNF $\alpha$  e encontraram: TBMR = TB tratada e sadios < TBMR < TB-NR não tratada.

Outro estudo objetivando determinar o perfil de resposta imunológica em pacientes com TB não tratada, portadores de TBMR e sadios reagentes à tuberculina, encontrou: os portadores de TBMR apresentaram produção normal de IFN $\gamma$  e produção aumentada de TGF $\beta$ , enquanto os portadores de TB inicial tiveram produção diminuída de IFN $\gamma$  e normal de TGF $\beta$  (CASTRO *et al.*, 2005)

Esses resultados podem estar relacionados com redução da absorção de drogas, inclusive antituberculose, por via paracelular. Até o momento, não se tem conhecimento de publicação de avaliação da função intestinal especificamente em portadores de TBMR.

## **5.5 Concentrações séricas de rifampicina e isoniazida**

A primeira dúvida que surge quando uma droga não atinge o nível sérico esperado após a ingestão é se ela realmente foi ingerida. Nesse estudo, a droga foi administrada pelo mesmo pesquisador a todos os participantes e eles aderiram à pesquisa de forma voluntária. Dessa forma, não haveria nenhum motivo aparente para receber os medicamentos, colocá-los na boca e não engoli-los, uma vez que esse procedimento foi realizado no próprio ambulatório, na presença da pesquisadora.

A segunda hipótese vem em seguida: uma vez tendo tomado o medicamento, será que ele realmente continha os princípios ativos dos medicamentos que seriam dosados na quantidade prevista? Para garantir a qualidade da medicação utilizada na pesquisa, providenciou-se para que as cápsulas fossem extraídas de lote com controle de qualidade externo e não apenas

do fabricante. Utilizou-se, então, medicamento de lote aprovado pelo Programa de Controle de Qualidade implementado pelo projeto MSH com sede no CRPHF.

Vários trabalhos chamam a atenção para o fato de que, embora o teste de dissolução da droga possa ser utilizado como guia para assegurar a biodisponibilidade, formulações com boa dissolução, algumas vezes, são pouco absorvidas ou vice-versa (PELIZZA *et al.*, 1977; BUNIVA *et al.*, 1983; ACOCELLA, 1989; ASPESI, 1989). Desse modo, a maneira mais segura de avaliar se a droga está atingindo a concentração sérica desejada é pela análise por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).

As publicações atuais sobre esse assunto envolvem apenas grupos com TBS e controles sãos, de sorte que as comparações com as literaturas nacionais e internacionais com níveis séricos de INH e RMP serão em relação a esses dois grupos, já que não se tem conhecimento de publicações com grupos de portadores de TBMR.

A CHX média sérica foi  $3,82 \pm 1,18$   $\mu\text{g/ml}$  entre os casos,  $3,27 \pm 1,23$   $\mu\text{g/ml}$  no grupo da TBS e  $2,79 \pm 1,19$  no grupo de VSs ( $p=0,0046$ ) (**TABELA 30**). A CHX média sérica ficou dentro dos níveis terapêuticos esperados para os portadores de TBMR e TBS, ficando abaixo apenas no grupo dos sadios. Essa diferença justificou-se, parcialmente, pelo excesso de peso desse grupo, cujo IMC médio foi  $26,4$   $\text{kg/m}^2$ . As doses das drogas antituberculose adotadas situam-se dentro de faixas de peso, com a dose máxima acima de 45 kg de peso corporal; isso não vai fazer diferença para os doentes que sempre têm diferença ponderal (-6,91% para TBMR, -6,31% para TBS e +1,24% para sadios [ $p<0,0001$ ]) (**TABELA 6**). Para os doentes que ingerem a dose máxima de INH=400mg, a dose/kg de peso se mantém sempre dentro da recomendada, que é em torno de 6,6 mg/kg (nos grupos estudados a dose/kg média foi; para TBMR=6,94 mg/kg, para TBS=7,15 mg/kg e para os sadios=6,03 [ $p<0,0001$ ], **TABELA 29**). Encontrou-se uma correlação positiva significativa entre os níveis séricos de INH e as doses ingeridas nos três grupos (**TABELA 43**).

Ao se avaliar o comportamento médio da CHX, fazendo-se a correção pelo índice IMC e deficit ponderal, encontrou-se uma CHX entre os sadios maior ( $3,01\pm 0,23$ ) do que a anterior, mas essa média continuou significativamente menor do que a do grupo da TBMR ( $3,76\pm 0,21$ ),  $p=0,0243$ . A correção pelo IMC mudou a média da CHX apenas parcialmente, provavelmente, pela influência da altura sobre o IMC. Com esse ajuste, desapareceu a diferença da CHX entre os sadios e TBS ( $3,11\pm 0,23$ ),  $p=0,7687$  e surgiu diferença significativa entre TBMR e TBS ( $p=0,0378$ ) (**TABELAS 39 e 40**). McIlleron *et al.* (2006) e Um *et al.* (2007) também encontraram associação entre dose/kg de peso e níveis sanguíneos de drogas antituberculose e consideraram apenas que isso dava suporte à estratégia usada largamente que emprega faixas de peso para guiar a dose. Deve-se ter em mente, no entanto, a noção de que um paciente com TB cujo peso esteja acima do peso da maioria poderá ser um candidato a ter um nível sérico de INH abaixo do limite terapêutico inferior de referência, correndo o risco de ter comprometido o seu tratamento.

Ao se avaliar a influência de outras variáveis sobre a CHX, verificou-se não haver diferença para a presença ou ausência de parasitismo intestinal (**TABELAS 33 e 34**). Já o alcoolismo influenciou no grupo sadio, no qual o alcoolismo grave cursou com CHX significativamente menor ( $1,0\pm 0,30$  vs  $2,92\pm 1,12$ ,  $p=0,0291$ ) do que o alcoolismo leve (**TABELAS 35 e 36**). Ao se associar alcoolismo+tabagismo, mantiveram-se as diferenças já encontradas anteriormente. Ao se verificar a influência do IMC, deficit ponderal, albumina e hemoglobina, encontrou-se média da CHX significativamente maior do que no grupo com TBMR em relação ao grupo com TBS, não havendo diferença nas outras comparações.

A CHX média sérica dos casos e portadores de TBS ficou dentro do nível terapêutico de referência, mas a proporção de indivíduos com valores de CHX abaixo do limite inferior de referência foi considerável, a seguir: para  $CHX < 3 \mu\text{g/ml}$  foi 18,8% (6/32) entre os portadores de TBMR, 39,3% (11/28) no grupo da TBS e 56,7% (17/30) entre os sadios ( $p=0,008$ , **TABELA 31a**) e para  $CHX < 2 \mu\text{g/ml}$  foi 9,4% (3/32) entre os casos, 17,9% (5/28) no grupo com TBS e 26,7% (8/30) entre os sadios ( $p=0,225$ ). Comparando-se os grupos dois a dois para avaliar a  $CHX < 3 \mu\text{g/mL}$ , constatou-se haver diferença significativa apenas entre TBMR e sadios (OR=4,67; IC 95% [1,55-14,12]). Choudhri *et al.* (1997) encontraram 89,5% (24/27)



dos pacientes com CHX < 3 µg/ml, mas a dose máxima de INH utilizada por eles era 300 mg/kg de peso. Já Tappero *et al.* (2005) que, como neste estudo, adotaram a dose máxima de INH de 400 mg/kg, tiveram baixos níveis de CHX em 30% (27/90). Aqui houve também uma diferença na metodologia, pois eles consideraram baixo nível com CHX < 4 µg/ml, quando usada a dose de 400 mg/kg e < 3 µg/ml, quando usada a dose de 300 mg/kg.

Dois estudos envolvendo níveis sanguíneos de drogas antituberculose foram realizados no Ceará. Pinheiro *et al.* encontraram 66,7% (12/18) de portadores de TBS com CHX < 3 µg/ml, utilizando a dose máxima ingerida de 400 mg/kg. Façanha *et al.* também adotaram essa mesma dose máxima de INH, mas consideraram como baixo um nível de CHX < 4 µg/ml e, assim, seu percentual de baixos níveis foi 83,3% (25/30).

Mesmo levando-se em conta as pequenas diferenças de metodologia dos artigos revistos, parece que os resultados atuais são os mais aceitáveis em termos de níveis terapêuticos para INH, com baixos níveis de INH em 18,8% (6/32) dos portadores de TBMR, 39,3% (11/28) dos portadores de TBS e 56,7% (17/30) entre os sadios (**TABELA 31a**).

Os níveis séricos da RMP são mais preocupantes. A CRX mediana sérica foi significativamente menor no grupo com TBS em relação à da TBMR e sadios (**TABELA 30** e **FIGURA 6a**). O uso continuado da RMP provoca auto-indução das enzimas hepáticas e, a partir do quarto dia, os níveis sanguíneos se mantêm mais baixos 29,3% em média (ACOCELLA 1971). O grupo portador de TBS usava RMP diariamente há seis semanas em média (**TABELA 10**). O grupo portador de TBMR e o dos sadios ingeriram a RMP apenas no dia das dosagens sanguíneas. Fez-se, pois, uma adaptação para que os grupos se tornassem semelhantes. Reduziram-se, então, os resultados das dosagens desses dois grupos em 29,3%. Mesmo assim, a CRX mediana dos grupos continuou significativamente diferente, havendo predomínio dos melhores resultados no grupo dos sadios (**FIGURA 6b**).

A nova proporção de indivíduos com CRX < 8 µg/ml se distribuiu assim: 90,6% (29/32) entre os portadores de TBMR, 82,1% (23/28) no grupo da TBS e

66,7% (20/30) entre os sadios ( $p=0,074$ ). Com  $CRX < 4 \mu\text{g/ml}$ , foram encontrados: 56,3% (18/32) entre os casos, 67,9% (19/28) no grupo com TBS e 20% (6/30) entre os sadios ( $p=0,001$ ) (**TABELA 31b**). As diferenças entre os grupos eram significantes entre TBMR e sadios e entre TBS e sadios. Após o ajuste nos níveis sanguíneos dos grupos com TBMR e sadios, as diferenças se mantiveram semelhantes, para  $CRX < 8 \mu\text{g/ml}$ .

A justificativa usada para explicar, parcialmente, os baixos níveis de INH entre os sadios poderia ser aplicada para RMP (IMC significativamente maior entre os sadios e conseqüentemente dose/kg de peso corporal significativamente menor nos sadios). Deve-se ressaltar, no entanto, que só houve correlação das doses ingeridas com a CRX no grupo dos sadios, mostrando que a redução no transporte transcelular e paracelular intestinal encontrada nos grupos com TBMR e TBS pode ser mais prejudicial para a absorção da RMP, que é uma molécula considerada grande (peso molecular = 823 daltons); daí a biodisponibilidade da RMP excessivamente baixa neste estudo. Deve-se evidenciar, no entanto, que, ao se analisar o comportamento médio da CRX, fazendo-se correção pelo IMC e déficit ponderal, as diferenças entre os grupos foram as mesmas, talvez, mais uma vez, pela influência da altura sobre o IMC (**TABELAS 39 e 40**).

Ao se avaliar a influência de outras variáveis sobre a CRX, observou-se haver CRX maior entre os sadios sem parasitismo ( $11,77 \pm 4,14$ ) do que entre os sadios com parasitas ( $7,45 \pm 3,89$ ),  $p=0,005$  (**TABELAS 33 e 34**). No grupo com TBS sem parasitas, a CRX foi  $5,56 \pm 4,28$  e com parasitas foi  $2,81 \pm 3,50$ , no entanto, essa diferença não atingiu a significância estatística ( $p=0,0933$ ). No grupo com TBMR sem parasitismo, também houve CRX maior do que entre os com parasitismos, mas, sem significância estatística ( $6,27 \pm 4,99$  vs  $5,48 \pm 3,79$ ).

A análise da CRX, pelo alcoolismo leve (ausência+leve) vs grave não revelou diferença dentro dos mesmos grupos (comparando-se sadios leves vs sadios graves, TBS leve vs TBS grave ou TBMR leve vs TBMR grave). As diferenças encontradas foram as mesmas já encontradas entre os diferentes grupos (**TABELAS 35 e 36**).

A análise multivariada, para CRX, também não influenciou os resultados já encontrados (**TABELAS 41 e 42**).

Várias publicações mostram baixos níveis de RMP em proporções semelhantes. Choudhri *et al.* (1997), no Quênia, encontraram CRX < 8 µg/ml em 89% (26/29) dos pacientes. Van Crevel *et al.* em 2002, na Indonésia, CRX < 8 µg/ml em 97% (60/62) dos pacientes e CRX < 4 µg/ml em 70,5 (43/62). Tappero *et al.* (2005) revelaram CRX < 8 µg/ml em 78% (71/91) dos avaliados. McIlleron *et al.* (2006) demonstraram que, dos indivíduos que ingeriram medicamentos com bioequivalência aprovada, a CRX < 8 µg/ml foi detectada em 69% (61/88) dos participantes. A CRX dos que ingeriram medicamentos com bioequivalência aprovada teve mediana de 5,9 µg/ml e com bioequivalência não aprovada de 3,8 µg/ml, portanto, 35,4% menor ( $p < 0,05$ ). Um *et al.* (2007) encontraram CRX < 8 µg/ml, apenas com dosagem de duas horas após a ingestão da RMP em 23,5% (16/68), e encontraram ainda associação da CRX com dose/kg de peso, na análise multivariada, mas recomendou cautela na interpretação porque essa associação não foi encontrada na análise univariada.

Os dois estudos nacionais revelaram baixos níveis séricos de RMP. Pinheiro *et al.* (2006) revelaram CRX < 8 µg/ml em 66,7% (12/18) dos pacientes com TBS e Façanha *et al.* (2007) demonstraram CRX < 8 µg/ml em 100% (30/30) dos portadores de TBS e em 62,1% (18/29) dos controles sadios.

Ruslami *et al.* (2007) encontraram níveis séricos de RMP mais aceitáveis em estudo duplo-cego randomizado, utilizando formulações separadas de INH e RMP, para avaliar a farmacocinética e a tolerabilidade de maior dose de RMP (600 mg) vs dose-padrão (450 mg, 10 mg/kg de peso) em pacientes da Indonésia. Encontraram CRX < 8 µg/ml em 4% vs 21% ( $p = 0,094$ ). Há de se evidenciar que a dose máxima de RMP de 600 mg (peso > 45 kg) já é utilizada no Brasil e foi utilizada no presente estudo. Deve-se chamar atenção para diferença importante na pesquisa de Ruslami, que foi o uso de formulações separadas de INH e RMP. O uso de INH e RMP na mesma preparação farmacológica, mesmo com ótima equivalência farmacêutica, pode levar a problemas na absorção da RMP. Alguns autores observaram aumento da degradação gástrica da RMP quando ingerida em DFCs

com a INH (SINGH *et al.*, 2001; MARIAPPAN; SINGH, 2003; TOIT; PILLAY; DANCKWRTS, 2006, MCILLERON *et al.*, 2006). Um *et al* (2007) que encontraram percentuais de CRX abaixo do limite terapêutico, não tão altos (23,5%), também usaram formulações separadas no ensaio, mas o limite terapêutico inferior considerado para INH foi 2 µg/ml e para RMP < 7 µg/ml.

6/32 (18,8%) portadores de TBMR, 9/28 (32,1%) portadores de TBS e 10/30 (33,3%) sadios não alcançaram o nível esperado para ambas as drogas ( $p=0,284$ ). Tappero *et al.* (2005) e Pinheiro *et al.* (2006) encontraram percentuais semelhantes de baixos níveis para ambas as drogas, 26% e 44%, respectivamente, em portadores de TBS.

Em relação à RMP, em que houve redução dos níveis séricos nos três grupos estudados, havendo um predomínio dos baixos níveis no grupo com TBMR, seguido do grupo com TBS e sadios (**TABELA 31b**), resta uma pergunta. Na preparação utilizada no estudo, teria a droga as mesmas propriedades que teve a droga utilizada para o estabelecimento dos parâmetros séricos de referência? Diversos estudos foram realizados comparando diferentes preparações de RMP, em que se obteve resultado semelhante (CHOUCHANE *et al.*, 1995; PAHKLA *et al.*, 1999). Os cristais de RMP, entretanto demonstram polimorfismo (HENWOOD *et al.*, 2000), o que pode ser responsável por diferenças na biodisponibilidade da droga (STORPIRTIS *et al.* 2004).

Outra condição para reduzir a biodisponibilidade das drogas é a interação com alimentos ou outras drogas. Foi solicitado, porém, a todos os pacientes que viessem em jejum e, pelo que se pode observar, não fizeram uso de drogas durante o período do exame. Durante o intervalo entre tomar o medicamento e fazer a primeira coleta de sangue, os pacientes permaneceram com a pesquisadora, envolvidos no preenchimento do questionário. A primeira refeição foi oferecida depois da coleta da primeira amostra de sangue, duas horas depois da ingestão do medicamento.

A CHX foi alcançada na dosagem de duas horas após a ingestão da INH em todos os sadios e portadores de TBS e em 29/32 (90,6%) portadores de TBMR,

sendo, portanto, encontrados 3/32 (9,4%) de possível absorção tardia de INH apenas no grupo com TBMR.

A CRX só foi alcançada na dosagem de seis horas após a ingestão da RMP em 12/32 (37,5%) casos, em 4/28 (14,3%) portadores de TBS e em 5/30 (16,7%) sadios. Houve um predomínio, entre os portadores de TBMR na demora em atingir a CRX, mas sem significância estatística (Teste exato de Fischer,  $p > 0,05$ ). Tappero *et al.* (2005) fizeram referência à absorção retardada para RMP, embora a mediana do tempo para atingir o  $C_{m\acute{a}x}$  ( $T_{m\acute{a}x}$ ) tenha sido duas horas.

O fato de não ter sido feita uma dosagem das drogas no tempo “zero”, isto é, antes da ingestão dos medicamentos, poderia suscitar a dúvida de que os voluntários com tuberculose pudessem ter níveis mais altos de concentração sérica em virtude de valores residuais de doses tomadas nos dias anteriores. Os estudos de Peloquin (1997), todavia, demonstram que, mesmo com doses diárias, sete meias-vidas ocorrem entre as doses, de forma que mais de 99% da droga são eliminados dentro de 24 horas, exceto em pacientes com insuficiência hepática, o que não era o caso de nenhum dos voluntários. Mesmo que tivesse havido dose residual das drogas antituberculose, essa dose aumentaria a concentração sérica das drogas e, nesse estudo as concentrações séricas estão baixas.

Mehta *et al.* (2001) lembram que indivíduos com tuberculose pulmonar freqüentemente têm hipoalbuminemia. A diminuição das proteínas do plasma reduz a capacidade de ligação das drogas, o que pode aumentar a quantidade da droga não ligada à proteína e, conseqüentemente, seu *clearance*. A redução nas proteínas plasmáticas, porém, parece reduzir o total de droga disponível no organismo, mas não o total livre, que é a parte detectável neste estudo (HOLFORD, 2001). A média plasmática de albumina foi menor nos voluntários com TBMR e TBS do que nos sadios, no entanto, a média estava dentro dos limites considerados normais nos três grupos. Desse modo, a diferença não seria suficiente para explicar a redução da biodisponibilidade das drogas.

Kimerling *et al.* (1998) encontraram disponibilidade sérica aumentada de RMP em alcoólatras. Ma *et al.* (1999) demonstraram que o etanol em doses

menores do que 10% produziu uma quebra progressiva da proteína ZO-1, com a conseqüente separação das junções celulares e formação de *gaps* entre as células epiteliais. Como conseqüência, foi observado aumento da permeabilidade intestinal via paracelular, o que poderia levar a maior absorção da RMP.

## 5.6 Síntese da discussão

Os resultados do estudo da função da barreira intestinal sugerem que há redução significativa no transporte paracelular e transcelular nos pacientes com TBMR em relação aos controles saudáveis. A associação alcoolismo + tabagismo fez desaparecer a significância do menor percentual de excreção de lactulose (transporte paracelular) nos portadores de TBMR em relação aos saudáveis, sugerindo que a associação alcoolismo+tabagismo é mais importante para o baixo percentual de excreção de lactulose do que a própria TBMR. O mesmo ocorreu ao se fazer a correção pelo IMC e diferença ponderal. A análise multivariada revelou importante achado sobre a absorção transcelular que resultou diminuída no grupo com TBMR, tanto em relação aos saudáveis como em relação aos portadores de TBS. A relação lactulose/manitol se manteve semelhante nos três grupos.

Houve percentual significativo de CHX abaixo do limite inferior de referência nos três grupos, havendo diferença significativa entre TBMR e saudáveis. A CHX média foi significativamente maior no grupo com TBMR em relação aos saudáveis, não havendo diferença entre TBS e saudáveis nem entre TBMR e TBS. Isso foi atribuído ao excesso de peso dos componentes do grupo sadio, já que houve correlação positiva entre a CHX e a dose/kg de peso corporal (nos três grupos) e essa característica foi significativamente menor no grupo sadio. Após a correção pelo IMC, déficit ponderal, albumina e hemoglobina, a CHX aumentou no grupo sadio, mas continuou a ser significativamente maior no grupo com TBMR, mas, agora, com diferença significativa em relação, apenas, à TBS.

O alcoolismo grave diminuiu significativamente a CHX no grupo sadio em relação aos saudáveis com alcoolismo leve.

Houve altos percentuais de níveis subterapêuticos de CRX nos três grupos avaliados, sendo esses percentuais significativamente maiores nos dois grupos com tuberculose em relação aos sadios, mas não havendo significância estatística entre os portadores de TBMR e TBS. Ocorreu correlação positiva entre a CRX e a dose/kg de peso corporal apenas no grupo sadio, mostrando que a redução no transporte transcelular e paracelular intestinal que foi encontrada nos grupos com TBMR e TBS pode ser mais prejudicial para a absorção da RMP, que é uma molécula considerada grande, daí a biodisponibilidade da RMP excessivamente baixa nestes dois grupos, com resultados bem mais preocupantes do que os da isoniazida. Após a correção pelo IMC, deficit ponderal, albumina e hemoglobina, a CRX se manteve no mesmo nível no grupo sadio e manteve-se o mesmo nível de diferença entre os grupos.

A CRX foi maior nos três grupos sem parasitas em comparação com os respectivos grupos sem parasitas, com diferença estatística apenas entre os sadios.

## 6 CONCLUSÕES

- Os resultados do estudo da função da barreira intestinal sugerem que há redução significativa no transporte paracelular e transcelular nos pacientes com TBMR em relação aos controles saudáveis. A relação lactulose/manitol foi semelhante nos três grupos.

- Houve percentual considerável de CHX abaixo do limite terapêutico inferior de referência nos três grupos, havendo diferença significativa entre TBMR e saudáveis. A CHX média foi significativamente maior no grupo com TBMR em relação aos saudáveis, não havendo diferença entre TBS e saudáveis nem entre TBMR e TBS.

- Houve altos percentuais de níveis sanguíneos subterapêuticos de CRX nos três grupos avaliados, sendo esses percentuais significativamente maiores nos dois grupos com tuberculose (TBMR e TBS) em relação aos saudáveis, mas, não havendo significância estatística entre os portadores de TBMR e TBS.

- Ao se verificar a influência de co-fatores sobre os parâmetros de avaliação do transporte intestinal paracelular e transcelular, observou-se que a associação alcoolismo + tabagismo fez desaparecer a significância do menor percentual de excreção de lactulose nos portadores de TBMR em relação aos saudáveis. O mesmo aconteceu ao se avaliar a influência do IMC e da diferença ponderal. A análise em função de múltiplos fatores mostrou que a absorção transcelular estava diminuída no grupo com TBMR, tanto em relação aos saudáveis como em relação aos portadores de TBS.

- Ao se avaliar a influência das características clínicas sobre a CHX, encontrou-se correlação positiva entre a CHX e a dose/kg de peso corporal (nos três grupos) e essa característica foi significativamente menor no grupo saudável. Após a correção pelo IMC, déficit ponderal, albumina e hemoglobina, a CHX aumentou no grupo saudável, mas continuou a ser significativamente maior no grupo com TBMR,



mas, agora, com diferença significativa em relação apenas à TBS. A CHX foi significativamente menor no grupo sadio com alcoolismo grave em relação aos sadios com alcoolismo leve.

- O estudo da influência de co-fatores sobre a CRX revelou correlação positiva entre a CRX e a dose/kg de peso corporal apenas no grupo sadio. Após a correção pelo IMC, deficit ponderal, albumina e hemoglobina, a CRX se manteve menor nos portadores de TBMR e TBS, com diferença significativa quando comparada à dos sadios. A CRX foi maior nos três grupos sem parasitas em comparação com os respectivos grupos com parasitas, com diferença estatística apenas entre os sadios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOCELLA, G.; PAGANI, V.; BARONI, G. C.; NICOLIS, F. B. Kinetic studies on rifampicin. I. Serum concentration analysis in subjects treated with different oral doses over a period of two weeks. **Chemotherapy**, v. 16, p. 346-370, 1971.

ACOCELLA, G.; NONIS, A.; GIALDARONI-GRASSI, C.; GRASSI, C. Comparative bioavailability of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide administered in free combination and in a fixed triple formulation designed for daily use in antituberculosis chemotherapy. I. Single dose study. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 138, p. 882-885, 1988a.

ACOCELLA, G.; NONIS, A.; PERNA, G.; PATANE, E.; GIALDARONI-GRASSI, C.; GRASSI, C. Comparative bioavailability of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide administered in free combination and in a fixed triple formulation designed for daily use in antituberculosis chemotherapy. II Two month, daily administration study. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 138, p. 886-890, 1988b.

ACOCELLA, G. Human bioavailability studies. **Bull. Int. Union Tuberc. Lung Dis.**, v. 64, n. 1, p. 38-42, 1989.

ALLAND, D.; KALKUT, G. E.; MOSS, A. R.; McADAM, R. A.; HAHN, J. A.; BOSWORTH, W.; DRUCKER, E.; BLOOM, B. R. Transmission of tuberculosis in New York City: an analysis by DNA fingerprint and conventional epidemiologic methods. **N. Engl. J. Med.**, v. 330, p. 1710-1716, 1994.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. An official ATS/IDSA statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. **Am. J. Crit. Care Med.** v. 175, p. 367-416, 2007.

AMSDEN, G. W.; BALLOW, C. H.; BERTINO Jr., J. S.; KASHUBA, A. D. M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective Agents. *In*: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of Infectious diseases**. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005. p. 271-280.

ANDREOLI, T. E.; BENNETT, J. C.; CARPENTER, C. C. J.; PLUM, F. Infecção pelo HIV e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. *In*: ANDREOLI, T. E.; BENNETT, J. C.; CARPENTER, C. C. J.; PLUM, F. (Ed.). **Cecil medicina interna básica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap. 108, p. 719-737.

ASPESI, F. Dissolution testing. **Bull. Int. Union Tuberc. Lung Dis.**, v. 64, n. 1, p. 37-38, 1989.

AUSINA, V. Tuberculosis multirresistente. Puntualizaciones y reflexiones sobre un tema polémico y de candente actualidad. **Med. Clin.**, v. 106, n. 1, p. 15-18, 1996.

AZIZ, M. A.; WRIGHT, A.; LAZLO, A.; MUYNCK, A.; PORTAELS, F.; VAN DEUN, A.; WELLS, C.; NUNN, P.; BLANC, L.; RAVIGLIONE, M. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis. **Lancet**, v. 368, p. 2142-2154, 2006.

BALLELL, L.; FIELD, R. A.; DUNCAN, K.; YOUNG, R. J. New Small-Molecule Synthetic Antimycobacterials. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 49, n. 6, p. 2153-2163, 2005.

BAO, Y.; SILVA, T. M.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. M.; FOX, J. W. Direct analysis of mannitol, lactulose and glucose in urine samples by high-performance anion-exchange chromatography with pulse amperometric detection. Clinical evaluation of intestinal permeability in human immunodeficiency virus infection. **J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.**, v. 685, n. 1, p.105-112, 1996.

BARBOZA Jr., M. S.; SILVA, T. M.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. M. Measurement of intestinal permeability using mannitol and lactulose in children with diarrheal diseases. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 32, n. 12, p. 1499-1504, 1999.

BARROSO, E. C.; GADELHA, N. F.; OLIVEIRA, T. R. B.; CAVALCANTE, L. E. M.; VALE, S. F.; LAVOR, M. S. H.; AMARAL, A. M. D. Estudo da resistência primária aos tuberculostáticos. **J. Pneumol.**, v. 20, supl. 3, p. 125, 1994.

BARROSO, E. C.; OLIVEIRA, T. R.B.; AZEVEDO, H. C.; SALES, S. M. C.; SANTOS, R. O. Incidência do HIV na tuberculose. **J. Pneumol.**, v. 22, supl. 1, p. S59, 1996.

BARROSO, E. C.; RODRIGUES, J. L. N.; PINHEIRO, V. G. F.; CAMPELO, C. L.. Prevalência da tuberculose multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999. **J. Pneumol**, v. 27, n. 6, p. 310-314, 2001.

BARROSO, E. C.; SOUSA, A. L. O.; BARROSO, J. B.; MOTA, R. M. S; OLIVEIRA, A. C. M.; RODRIGUES, J. L. N. Fatores de risco para tuberculose multirresistente adquirida. **J. Pneumol.**, v. 29, n. 2, p. 89-97, 2003a.

BARROSO, E. C.; BARROSO, J. B.; RODRIGUES, J. L.; MOTA, R. N. S; MORAIS, M. F. M.; CAMPELO, C. L. Fatores associados aos tratamentos inadequados em grupo de portadores de tuberculose multirresistente. **J. Pneumol.**, v. 29, p. 350-357, 2003b.

BARROSO, E. C.; BARROSO, J. B.; RODRIGUES, J. L.; MOTA, R. N. S; OLIVEIRA, A. C. M.; CORDEIRO, J. I. Papel da tuberculose domiciliar no surgimento da tuberculose multirresistente. **J. Bras. Pneumol.**, v. 30, p. 46-52, 2004a.

BARROSO, E. C.; BARROSO, J. B.; RODRIGUES, J. L.; MOTA, R. N. S; PINHEIRO, V. G. F.; CAMPELO, C. L. Ocorrência de tuberculose doença entre contatos de tuberculose sensível e multirresistente. **J. Bras. Pneumol.**, v. 30, p. 223-230, 2004b.

BASS Jr., J. B.; FARER, L. S.; HOPEWELL, P. C. & JACOBS, R. F. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 134, p. 355-363, 1986.

BECERRA, M. C.; BAYONA, J.; FREEMAN, J.; FARMER, P. E.; KIM, J. Y. Redefining MDR-TB transmission 'hot spots'. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 4, n. 5, p. 387-394, 2000.

BELLISSANT, E.; SÈBILLE, V.; PAINTAUD, G. Methodological issues in pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 35, p. 151-166, 1998.

BENARD, A.; DESREUMEAUX, P.; HUGLO, D.; HOORELBEKE, A.; TONNEL A. B; WALLAERT, B. Increased intestinal permeability in bronchial asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 97, p. 1173-8, 1996.

BEN-DOV, I.; MASON G, R. Drug-resistant tuberculosis in Southern California Hospital: Trends from 1969 to 1984. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 135, n. 6, p. 1307-1310, 1987.

BERNING, S. E.; HUITT, G. A.; ISEMAN, M. D.; PELOQUIN, C. A. Malabsorption of antituberculosis medications by a patient with AIDS. **New Engl. J. Med.**, v. 327, p. 1817-1818, 1992.

BETHLEM, N. Tuberculose. *In*: \_\_\_\_\_. **Pneumologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1975. cap. 16, p. 185-226.

BJARNASON, I.; WILLIAMS, P.; SMETHURST, P.; PETERS, T. J.; LAE, A. J. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandin on the permeability of the human small intestine. **Gut**, v. 27, p. 1292-1297, 1986

BJARNASON, I. Intestinal permeability. **Gut**, v. 35, Suppl. 1, p. S18-22, Jan. 1994.

BLEED, D.; DYE, C.; RAVIGLIONE, M. C. Dynamics and control of the global tuberculosis epidemic. **Curr. Opin. Pulm. Med.**, v. 6, n. 3, p. 174-179, 2000.

BLOCH, A. B.; CAUTHEN, G. M.; ONORATO, I. M.; DANSBURY, K. G.; KELLY, G. D.; DRIVER, G. R.; SNIDER, D. E. Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. **JAMA**, v. 271, n. 9, p. 665-671, 1994.

BLOMBERG, B.; SPINACI, S.; FOURIE, B., *et al.* The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for treatment of tuberculosis. **Bull. World Health Organ.**, v. 79, p. 61-68, 2001.

BLOOM, B. R.; MURRAY, C. J. L. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. **Science**, v. 257, p. 1055-1064, 1992.

BLOOM, B.; COLE, S.; DUNCAN, K.; ENARSON, D.; FINE, P.; GINSBERG, A.; La MONTAGNE, J.; SMITH, P.; YOUNG, D. Tuberculosis: old lessons unlearned? **Lancet**, v. 350, n. 9070, p. 149, 1997.

BRANTLEY, R. K.; WILLIAMS, K. R.; SILVA, T.M.; SISTROM, M.; THIELMAN, N. M.; WARD, H.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. AIDS-associated diarrhea and wasting in Northeast Brazil is associated with subtherapeutic plasma levels of antiretroviral medications and with both bovine and human subtypes of *Cryptosporidium parvum*. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 7, n. 1 p.16-22, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância em saúde: dados e indicadores selecionados**. Brasília, DF, 2005a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis. 3. ed. Brasília, DF, 1999. 142 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Bacteriologia da Tuberculose**. 3. ed. Brasília, 2005b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de normas para o controle da tuberculose. **J. Pneumol.**, v. 23, n. 6, p. 281-293, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Tuberculose Multirresistente. **Guia de vigilância Epidemiológica**, 2007. 59 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gerência Geral de Medicamentos Unidade de Medicamentos Controlados, Similares, Fitoterápicos e Isentos. Registro de Medicamentos**. Disponível em <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em: 19 abril 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária. **Manual de Normas para o controle da tuberculose**. 4. ed. Brasília, DF, 1995. 50 p. (Série A: Normas e Manuais Técnicos, 13).

BREWSTER, D. R.; MANARY, M. J.; MENZIES, I. S.; O' LOUGHLIN, E. V.; HENRY, R. L. Increased permeability in kwashiokor. **Arch. Dis. Child**, n. 76, p. 236-241, 1997.

BROUTET, N., de QUEIROZ SOUSA, A.; BASILIO, F. P.; AS, H. L.; SIMON, F.; DABIS, F. Prevalence of HIV1, HIV2 and HTLV antibody in Fortaleza, Ceará, Brazil, 1993-1994. **Int. J. STD AIDS**, v. 7, n. 5, p. 365-369, 1996.

BUNIVA, G.; PAGANI, V.; CAROZZI, A. Bioavailability of rifampicin capsules. **Int. J. Pharmacol. Therapy Toxicol.**, v. 21, p. 404-409, 1983.

BUSHEN, O. Y.; DAVENPORT, J. A.; LIMA, A. B.; PISCITELLI, S. C.; UZGIRIS, A. J.; SILVA, T. M.; LEITE, R.; KOSEK, M.; DILLINGHAM, R. A.; GIRAO, A.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. Diarrhea and Reduced Levels of Antiretroviral Drugs: Improvement with Glutamine or Alanyl-Glutamine in a Randomized Controlled Trial in Northeast Brazil. **CID**, v. 38, p. 1754-1770, June 2004.

CAMINERO, J. A. Management of multidrug-resistant tuberculosis and patients in retreatment. **Eur. Resp. J.**, v. 25, p. 928-936, 2005.

CAMPBELL, D. I.; ELIA, M.; LUNN, P. G. Growth faltering in rural Gambian infants is associated with impaired small intestinal barrier function, leading to endotoxemia and systemic inflammation. **J. Nutr.**, v. 133, n. 5, p. 1332-1338, 2003.

CAMPOS, H. S. Tuberculose: um perigo real e crescente. **JBM**, v. 70, n. 3, p. 73-105, 1996.

\_\_\_\_\_. *Mycobacterium tuberculosis* resistente: de onde vem a resistência? **Bol. Pneumol. Sanit.**, v. 7, n. 1, p. 51-64, 1999.

CANETTI, G.; RIST, N.; GROSSET, J. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux et drogues antibacillaires par la méthode dès proportions. **Rev. Tuberc. Pneumol.**, v. 27, p. 217-272, 1963.

CANETTI, G. Present aspects of bacterial resistance in tuberculosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 92, n. 5, p. 687-703, 1965.

CASANOVA, J. L.; JOUANGUY, E.; LAMHAMED, S.; BLANCHE, S.; FISCHER, A. Immunological conditions of children with disseminated BCG infection. **Lancet**, v. 346, p. 581-581, 1995.

CASTRO, A. Z.; DIAZ-BORDALEZ, B. M.; OLIVEIRA, E. C.; GARCIA, R. C.; AFIUNE, J. B.; PASCHOAL I. A.; SANTOS, L. M. Abnormal produção of transforming growth factor beta and interferon gamma by peripheral blood cells of patients with multidrug-resistant tuberculosis in Brazil. **J. Infect.**, v. 51, p. 318-324, 2005.

CAVE, M. D.; EISENACH, K. D; Mc DERMOTT, P. F.; BATES, J. H.; CRAWFORD, J. T. IS6110: conservation of sequence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex and its utilization in DNA fingerprinting. **Mol. Cell. Probes**, v. 5, p. 73-80, 1991.

CEARÁ. Secretaria de Estado da Saúde. Situação epidemiológica da tuberculose no Ceará. **Informe Epidemiológico – Tuberculose**, fev. 2005. Disponível em <[http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/tuberculose\\_fev2005.pdf](http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/tuberculose_fev2005.pdf)>. Acesso em: 24.nov.2007.

CEARÁ. Secretaria de Estado da Saúde. Situação epidemiológica da tuberculose no Ceará. **Informe Epidemiológico – Tuberculose**, fev. 2007. Disponível em: <[http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/informe\\_tuberculose\\_02\\_07.pdf](http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/informe_tuberculose_02_07.pdf)>. Acesso em: 24.nov.2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Development of new vaccines for tuberculosis. Recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis (ACET). **MMWR Recomm Rep.**, v. 47, p. 1-6, 1998.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION. World TB Day – March 24, 2006. **MMWR**, v. 55, n. 11, p. 301, 2006.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Revised definition of extremely drug-resistant tuberculosis. **Mord. Mortal. Wkly. Rep.- M.M.W.R.**, n. 55, p. 1176-1176, 2006.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Extensively drug-resistant tuberculosis – United States, 1993-2006. **M.M.W.R.**, n. 56, p. 250-3, 2007.

CHAIMOWICZ, F. Age transition of tuberculosis incidence and mortality in Brazil. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 1, p. 81-87, 2001.

CHAMBERS, H. F. Antimicrobial drugs. *In*: KATZUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology**. 8th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2001. p. 803-813.

CHANG, C. J.; WU, J. S.; LU, F. H.; LEE, H. L.; YANG, Y. C.; WEN, M. J. Fasting plasma glucose in screening for diabetes in the taiwanese population. **Diabetes Care**, v. 21, n. 11, p. 1856-1860, 1998.

CHIOU, W. L. The validation of the intestinal permeability approach to predict oral fraction of dose absorbed in humans and rats. **Biopharm. Drug Dispos.**, v. 16, n. 1, p. 71-75, 1995.

CHOUCHANE, N.; BARRE, J.; TOUMI, A.; TILLEMENT, J. P.; BENAKIS, A. Bioequivalence study of two pharmaceutical forms of rifampicin capsules in man. **Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.**, v. 20, n. 4, p. 315-320, 1995.

CHOUDHRI, S. H.; HAWKEN, M.; GATHUA, S.; MIRNYIRI, G. O.; WATKINS, W.; SAHAI, J.; SITAR, D. S.; AOKI, F. Y.; LONG, R. Pharmacokinetics of antimicrobial drugs in patients with tuberculosis, AIDS and diarrhea. **Clin. Infect. Dis.**, v. 25, n. 1, p. 104-111, July 1997.

CIDERBAUM, S. D. Diseases of the urea cycle. *In*: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Cecil textbook of medicine**. 22<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Saunders, 2005. p. 897-1288.

COPP, B. R. Antimycobacterial natural products. **Nat. Prod. Rep.**, v. 20, p. 535-557, 2003.

COKER, R. J. The law, human rights and the detention of individuals with tuberculosis in England and Wales. **J. Publ. Health Med.**, v. 22, n. 3, p. 263-267, 2000.

COLE, S. T. Mycobacterium tuberculosis: drug resistant mechanisms. **Trends Microbiol.**, v. 2, p. 411-415, 1994.

COLE, S. T.; BROSCH, R.; PARKHILL, J.; GARNIER, T.; CHURCHER, C.; HARRIS, D. *et al.* Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. **Nature**, v. 393, p. 537-544, 1998.

COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA. I Consenso Brasileiro de Tuberculose- 1997. **J. Pneumol**, v. 23, n. 6, p. 294-319, Nov./Dez. 1997.

COPP, B. R. Antimycobacterial natural products. **Nat. Prod. Rep.**, v. 20, p. 535-557, 2003.

CROFTON, J.; MITCHINSON, D. A. Streptomycin resistance in pulmonary tuberculosis. **BMJ**, v. 2, p. 1009-1015, 1948.

DALCOLMO, M. P.; HIJJAR, M. A. AIDS is taking on the same profile as TB, increasingly reaching the poor in Brazil. **TB&HIV**, v. 5, p. 20-22, 1995.

DALCOLMO, M. P.; FORTES, A.; MELO, F. F.; MOTTA, R.; IDE NETTO, J.; CARDOSO, N. *et al.* Estudo de efetividade de esquemas alternativos para tratamento da tuberculose multirresistente no Brasil. **J. Pneumol.**, v. 25, n. 2, p. 70-77, 1999.

DIETERLEN, P.; CASSEREAU, H.; LESTRADET, H. Permanent malabsorption of rifampicin in a diabetic with coeliac disease. **Arch. Fr. Pediatr.**, v. 43, p. 421-422, 1986.

DIGENES, G. A. The in vivo behavior of multiparticulate versus single unit dosage formulations. *In*: GHEBRE-SELLASSIE, I. **Multiparticulate oral drug delivery**. New York, USA: Marcel Dekker, 1994. p. 333-355.

DOUGLAS, J. G.; McLEOD, M.. Pharmacokinetic factors in the modern drug treatment of tuberculosis. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 37, p. 127-146, 1999.



DUCATI, R. G.; RUFFINO-NETTO, A.; BASSO, L. A.; SANTOS, D. S. The resumption of consumption. A review on tuberculosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 697-714, 2006.

DYE, C.; ESPINAL, M. A.; WATT, C. J.; MBIAGA, C.; WILLIAMS, B. G. Worldwide Incidence of Multi-drug-Resistant Tuberculosis. **JID**, v. 185, n. 8, p. 1197-1202, Abr. 2002.

EHLERS, S. Immunity to tuberculosis: a delicate balance between protection and pathology. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 23, p. 149-158, 1999.

ELIA, M.; BEHRENS, R.; NORTHROP, C.; WRAIGHT, P.; NEALE, G. Evaluation of mannitol, lactulose and <sup>51</sup>Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate as markers of intestinal permeability in man. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 73, n. 2, p. 197-204, 1987.

ELLARD, G. A.; ELLARD, D. R.; ALLEN, B. W.; GIRLING, D. J.; NUNN A. J.; TEO, S. K. *et al.* The bioavailability of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide in two commercially available combined formulations designed for use in short- course treatment of tuberculosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 133, p.1076-1080, 1986.

ELLARD, G. A.; FOURIE, P. B. Rifampicin bioavailability: a review of its pharmacology and the chemotherapeutic necessity of ensuring optimal absorption. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, Suppl. 3, p. S301–S 308, 1999.

ERSOZ, G. Intestinal permeability in liver cirrhosis. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 11, p. 409-12, 1999.

EUZÉBY, J. P. **List of bacterial names with standing in nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.htm>>. Acesso em: 29 Aug. 2007.

FAÇANHA, M. C. **Barreira funcional intestinal, absorção e biodisponibilidade de rifampicina, isoniazida e pirazinamida em pacientes com tuberculose pulmonar ativa**. 2007. 135 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

FAHN, H. J.; WANG, L. S.; KAO, S. H.; CHANG, S. C.; HUANG, M. H.; WEI, Y. H. Smoking- Associated Mitochondrial DNA Mutations and Lipid Peroxidation in Human Lung Tissues. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.**, v. 19, n. 6, p. 901-909, 1998.

FANDINHO, F. C.; KRITSKI, A. L.; HOFER, C.; JUNIOR CONDE, H.; FERREIRA, R. M.; SAAD, M. H.; SILVA, M. G.; RILEY, L. W.; FONSECA, L. S. RFLP patterns and risk factors for recent tuberculosis transmission among hospitalized tuberculosis patients in Rio de Janeiro, Brazil. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, n. 3, p. 271-275, 2000.

FAUSTINI, A.; HALL, A. J.; PERUCCI, C. A. Risk factors for multidrugresistant tuberculosis in Europe: a systematic review. **Thorax**, v. 61, p.158-163, 2006.

FERRARIS, R. P.; CAREY, H. V. Intestinal transport during fasting and malnutrition. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 20, p. 195-219, 2000.

FISCHL, M. A.; DAIKOS, G. L.; UTTAMCHANDANI, R.B.; POBLETE, R.B.; MORENO, J. N.; REYES, R. R.; BOOTA, A. M.; THOMPSON, L. M.; CLEARY, T. J.; OLDHAM, S. A. *et al.* Clinical presentation and outcome of patients with HIV infection and tuberculosis caused by multiple-drug-resistant bacilli. **Ann. Intern. Med.**, v. 117, p. 184-190, 1992.

FIUZA DE MELO, F. A.; AFICINE, J. B.; RIBEIRO, L. H. G.; FELICE, E. A. A.; CASTELO, A. Resistência primária do "M. tuberculosis" num serviço ambulatorial de referência em São Paulo: evolução por três décadas e comparação com outros estudos nacionais. **J. Pneumol.**, v. 22, n. 1, p. 3-8, 1996.

FORD, R. P.; MENZIES, I. S.; PHILLIPS, A. D.; WALKER-SMITH, J. A.; TURNER, M. W. Intestinal sugar permeability: relationship to diarrhoeal disease and small bowel morphology. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 4, n. 4, p. 568-574, 1985.

FOURIE, P. B. Proposed minimum registration requirements for fixed-dose combination anti-tuberculosis drugs. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, suppl. 3, p. S367-S367, 1999.

FORTES, A.; PEREIRA, K.; ANTAS, P. R.; FRANKEN C. L.; DALCOLMO, M.; RIBEIRO-CARVALHO, M. M. *et al.* Detection of invitro interferon-gamma and serum tumor necrosis factor-alpha in multidrug-resistant tuberculosis patients. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 141, p. 541-8, 2005.

FOX, W. Drug combinations and bioavailability of rifampicin. **Tubercle**, v. 71, p. 241-245, 1990.

FRIEDMAN, C. R.; STOECKLE, M. Y.; KREISWIRTH, B. N.; JOHNSON, W. D. Jr.; MANOACH, S. M.; BERGER, J.; SATHIANATHAN, K.; HAFNER, A.; RILEY, L.W. Transmission of multidrug-resistant tuberculosis in a large urban setting. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 152, p. 355-359, 1995.

GARCIA VAZQUEZ, E.; ESTEBAN, J.; de GORGOLAS, M.; FERNANDEZ GUERRERO, M. L. Infection by resistant *Mycobacterium tuberculosis* in a hospital population. A longitudinal study of incidental cases at the Fundación Jimenez Diaz. **Rev. Clin. Esp.**, v. 199, n. 9, p. 564-568, 1999.

GLICKMAN, M. S.; JACOBS JR, W. R. Microbial pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis*: dawn of a discipline. **Cell**, v.104, p. 477-485, 2001.

GOBLE, M.; ISEMAN, M. D.; MADSEN, L. A.; WAITE, D.; ACKERSON, L.; HORSBURGH, C. R. Jr. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifanpin. **N. Engl. J. Med.**, v. 328, n. 8, p. 527-532, 1993.

GRAHAM, S. M.; BELL, D. J.; NYIRONO, S.; HARTKOORN, R.; WARD, S. A.; MOLYNEUX, E. M. Low levels of pyrazinamide and ethambutol in children with tuberculosis and impact of age, nutritional status, and human immunodeficiency virus infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 50, n. 2, p. 407-13, 2006.

GRANGE, J. M.; ZUMLA, A. Advances in the management of tuberculosis: clinical trials and beyond. **Curr. Opin. Pulm. Med.**, v. 6, n. 3, p. 193-197, 2000.

GURUMURTHY, P.; RAMACHANDRAN, G.; KUMAR, A. K. H.; RAJASEKARAN, S.; PADMAPRIYADARSINI, C.; SWAMINATHAN, S. *et al.* Decreased bioavailability of rifampin and other antituberculosis drugs in patients with advanced human immunodeficiency. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 48, n. 11, p. 4473-4475, 2004.

GUTIERREZ, R. S.; OTT W, P.; PICON, P. D. Métodos Diagnósticos. *In:* PICON, P. D.; RIZZON, C. F. C.; OTT, W. P. **Tuberculose:** epidemiologia, diagnóstico e tratamento em clínica e saúde pública. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda, 1993. cap. 2, p. 21-34.

HENWOOD, S. Q.; VILLIERS, M. M.; LIEBENBERG, W.; LOTTER, A. P. Solubility and dissolution properties of generic rifampicin raw materials. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 26, n. 4, p. 403-408, 2000.

HEYMANN, S. J.; BREWER, T. F.; WILSON, M. E.; FINEBERG, H. V. The need of global action against multidrug-resistant tuberculosis. **JAMA**, v. 281, n. 22, p. 2138-2140, 1999.

HIRSCH S.; CHAVES G.; GOTTELAND M.; de la MAZA P.; PETERANN M.; BARRERA P.; BUNOUT D. Intestinal permeability in alcoholic patients without liver damage. **Rev. Med. Chil.**, v. 125, p. 653-658, 1997.

HOLFORD, N. H.G. Pharmacokinetics & pharmacodynamics: rational dosing & the time course of drug action. *In:* KATZUNG, B. G. **Basic and clinical pharmacology.** 8<sup>th</sup> ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2001. p. 35-50.

HOPEWELL, P. C.; SMALL, P. Applications of molecular epidemiology to the prevention, control and study of tuberculosis. *In:* ROM, W. N.; GARAY, S. M. **Tuberculosis.** New York: Little Brown, 1996. cap. 70, p. 843-850.

HORSBURGH JUNIOR, C. R. Mycobacterium avium complex infection in the acquired immunodeficiency syndrome. **N. Engl. J. Med.**, v. 324, p. 1332-1338, 1991.

HORSBURGH JUNIOR, C. R. The global problem of multidrug-resistant tuberculosis: the genie is out of the bottle. **JAMA**, v. 283, n. 19, p. 2575-2576, 2000.

HUMMA, L. M. Prevention and treatment of drug-resistant tuberculosis. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, v. 53, n. 19, p. 2291-2298, 1996

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ce>>. Acesso em: 12 jul. 2006.

INTERNATIONAL UNION AGAINST TUBERCULOSIS AND LUNG DISEASE; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Assuring bioavailability of fixed-dose combinations of anti-tuberculosis medications **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, Suppl 3, p. 282-283, 1999.

ISEMAN, M. D. **A clinician's guide to tuberculosis**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. chapt. 11: Drug-resistant tuberculosis, p. 323-354.

JAGIRDAR, J.; ZAGZAG, D. Pathology and insights into pathogenesis of tuberculosis. *In*: ROM, W. M.; GARAY, S. M. **Tuberculosis**. New York: Little Brown, 1996. cap. 35, p. 467-482.

JAWAHAR, M. S. Current trends in chemotherapy of tuberculosis. **Indian J. Med. Res.**, v. 120, p. 398-417, 2004.

JOHNSTON, S. D.; SMYE, M.; WATSON, R. P. Intestinal permeability tests in coeliac disease. **Clin. Lab.**, v. 47, p. 143-50, 2001a.

JOHNSTON, S. D.; SMYE, M.; WATSON, R. G.; McMILAN, S. A.; TRIMBLE, E. R.; LOVE, A. H. Lactulose-mannitol intestinal permeability test: a useful screening test for adult coeliac disease. **Ann. Clin. Biochem.**, v. 37, p. 512-519, July 2001b

KAMERBEEK, J.; SCHOOLS, L.; KOLK, A.; VAN AGTERVELD, M.; VAN SOOLINGEN, D.; KUIJPER, S. *et al.* Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, p. 907-914, 1997

KESHAVARZIAN, A.; FIELDS, J. Z.; VAETH, J.; HOLMES, E. W. The differing effects of acute and chronic alcohol on gastric and intestinal permeability. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 89, p. 2205-2212, 1994.

KIMERLING, M.; PHILLIPS, P.; PATTERSON, P.; HALL, M.; ROBINSON, A.; DUNLAP, N. Low serum antimycobacterial drug levels in non-HIV-infected tuberculosis patients. **Chest**, v. 113, p. 1178-1183, 1998.

KREMER, K.; VAN SOOLIGEN, D.; FROTHINGHAM, R.; HAAS, W. H.; HERMANS, P. W.; MARTIN, C. *et al.* Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, p. 2607-2618, 1999.

LACY, M. K.; NICOLAU, D. P.; NIGHTINGALE, C. H.; QUINTILIANI, R. The pharmacodynamics of aminoglycosides. **Clin. Infect. Dis.**, v. 27, p. 23-7, 1998.

LANGKAMP-HENKEN, B.; DONOVAN, T. B.; PATE, L. M.; MAULL, C. D.; KUDSK, K. A. Increased intestinal permeability following blunt and penetrating trauma. **Crit. Care Med.**, v. 23, n. 4, p. 660-664, Apr. 1995.

LASERSON K. F.; OSORIO, L.; SHEPPARD, J. D.; HERNANDEZ, H.; BENITEZ, A. M.; BRIM, S. *et al.* Clinical and programmatic mismanagement rather than community outbreak as the cause of chronic, drug-resistant tuberculosis in Buenaventura, Colombia, 1998. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 4, n. 7, p. 673-683, 2000.

LASZLO, A.; KANTOR, I. N. A random sample survey of initial drug resistance among tuberculosis cases in Latin America. **Bull. World Health Organ.**, v. 72, p. 603, 1994.

LAUKOETTER, M. G.; BRUEWER, M.; NUSRAT, A. Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 22, p. 85-89, 2006.

LI, J.; BURZYNSKI, J. N.; LEE, Y.; BERG, D.; DRIVER, C. R.; RIDZON, R.; MUNSIFF, S. S. Use of therapeutic drug monitoring for multidrug-resistant tuberculosis patients. **Chest**, v. 126, p. 1770-1776, 2004.

LIFSCHITZ, C. H.; SHULMAN, R. J. Intestinal permeability tests: are they clinically useful? **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 10, n. 3, p. 283-287, 1990.

LIMA, A. A. L.; SILVA, T. M. J.; GIFONI, A. M. R.; BARRETT, L. J.; MCAULIFFE, I. T.; BAO, Y. *et al.* Mucosal injury and disruption of intestinal barrier function in HIV-infected individuals with and without diarrhea and cryptosporidiosis in Northeast Brazil. **Am. J. Gastroent.**, v. 92, n. 10, p. 1861-1866, 1997.

LIMA, A.A.L. **Glutamina e alanil-glutaminil-glutamina: síntese química, efeito no transporte de água, eletrólitos e permeabilidade intestinal.** 1998. 238 f. Tese (Titular em Farmacologia) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

LIMA, A. A. L.; BRITO, L. F. B.; RIBEIRO, H. B.; MARTINS, M. C.; LUSTOSA, A. P.; ROCHA, E. M. *et al.* Intestinal Barrier Function and Weight Gain in Malnourished Children Taking Glutamine Supplemented Enteral Formula. **J. Ped. Gastr. Nutr.**, v. 40, p. 28-35, 2005.

LIMA, N. L. **Alanil-glutamina na função de barreira intestinal e estado nutricional infantil em uma comunidade carente de Fortaleza.** 2006. 120 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

LIMA, N. L.; SOARES, A.; MOTA, R. M.; MONTEIRO, H. S.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. Wasting and intestinal barrier function in children taking

alanyl-glutamine-supplemented enteral formula. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 44, n. 3, p. 365-374, 2007.

LODE, H.; BORNER, K; KOEPPE, P. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. **Clin. Infect. Dis.**, v. 27, p. 33-39,1998.

LONG, R. Drug-resistant tuberculosis. **CMAJ**, v. 163, n. 4, p. 425-428, 2000.

LUNN, P. G. The impact of infection and nutrition on gut function and growth in childhood. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 59, n. 1, p. 147-154, 2000.

LUNN, P. G.; NORTHROP-CLEWES, C. A.; DOWNES, R. M. Intestinal permeability, mucosal injury, and growth faltering in Gambian infants. **Lancet.**, v. 338, n. 8772, p. 907-910, 1991a.

LUNN, P. G.; NORTHROP-CLEWES, C. A.; DOWNES, R. M. Recent developments in the nutritional management of diarrhoea. 2. Chronic diarrhoea and malnutrition in The Gambia: studies on intestinal permeability. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 85, n. 1, p. 8-11, 1991b.

MA, T. Y.; NGUYEN, D.; BUI, V.; NGUYEN, H.; HOA, N. Ethanol modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. **Am. J. Physiol.**, v. 276, n. 4, pt. 1, p. 965-7401, Apr. 1999.

MAHMOUDI, A. M. D.; MICHAEL, D.; ISEMAN, M. D. Pitfalls in the care of patients with tuberculosis: common errors and their association with the acquisition of drug resistance. **JAMA**, v. 270, n. 1, p. 65-68, 1993.

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

MARIN ROYO, M.; GONZÁLEZ MORAN, F.; MORENO MUNÔZ, R.; PARDO SERRANO, F.; PRADA ALFARO, P.; ARNEDO PENA, A.; AGUAR BENITO, M. C. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in the province of Castellon. 1992-1998. **Arch. Bronconeumol.**, v. 36, n.10, p. 551-556, Nov. 2000.

MAZARS, E.; LESJEAN, S.; BANULS, A.; GILBERT, M.; VINCENT, V.; GICQUEL, B. *et al.* High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 98, p. 1901-1906, 2001.

McILLERON, H.; GABRIELS, G.; SMITH, P. J.; FOURIE, P. B; ELLARD, G. A the development of a standardised screening protocol for in vivo assessment of rifampicin bioavailability. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3 , n. 11, p. 329-335, 1999.

MCILLERON, H.; WASH, P.; BURGER, A.; NORMAN, J.; FOLB, P. I.; SMITH, P. Determinants of Rifampin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Pharmacokinetics in a Cohort of Tuberculosis Patients. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 50, n. 4, p. 1170–1177, 2006.

MEDDINGS, J. B. Intestinal permeability in Crohn's disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 11, Suppl. 3, p. 1997.

MELLO, F. A. F.; HIJJAR, M. A. Tuberculose. *In*: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo, Atheneu, 2002. p. 936-976.

MEHTA, J. B.; SHANTAVEERAPA, H.; BYRD, J. R. P.; MORTON, S. E.; FOUNTAIN, F.; ROY, T. M. Utility of rifampin blood levels in the treatment and follow-up of active pulmonary tuberculosis in patients who were slow to respond to routine directly observed therapy. **Chest**, v. 120, p. 1520-1524, 2001.

MITCHINSON, D. A. The Garrod Lecture. Understanding the chemotherapy of tuberculosis — current problems. (Review). **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 29, p. 477-493, 1992.

MITCHINSON, D. A. How drug resistance emerges as a result of poor compliance during short course chemotherapy for tuberculosis. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 2, n. 1, p. 10-15, 1998.

MONNO, L.; ANGARANO, G.; CARBONARA, S.; COPPOLA, S.; COSTA, D.; QUARTO, M.; PASTORE, G. Emergence of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in HIV infected patients. **Lancet**, v. 45, p. 196, 1991.

MORAES-VASCOCELOS, D.; GRUMACH, A. S.; YAMAGUTI, A.; ANDRADE, M. E. B.; FIESCHI, C.; BEAUQUODRY, L.; CASANOVA, J. L.; DUARTE, A. J. S. *Paracoccidioides brasiliensis* disseminated disease in a patient with inherited deficiency in  $\beta 1$  subunit of the interleucine (IL)-12/IL-23 receptor. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, p. 31-37, 2005.

NATHAVITHARANA, K. A.; LLOYD, D. R.; RAAFAT, F.; BROWN, G. A.; MCNEISH, A. S. Urinary mannitol: lactulose excretion ratios and jejunal mucosal structure. **Arch. Dis. Child.**, v. 63, n. 9, p. 1054-1059, 1988.

NGUYEN, D.; BRASSARD, P.; MENZIES, D.; THIBERT, L.; WARREN, R.; MOSTOWY, S.; BEHR, M. Genomic characterization of an endemic *Mycobacterium tuberculosis* strain: Evolutionary and epidemiologic implications. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 2573-2580, 2004.

NOONE, C.; MENZIES, I. S.; BANATVALA, J. E. & SCOPES, J. W. Intestinal permeability and lactose hydrolysis in human rotaviral gastroenteritis assessed simultaneously by non-invasive differential sugar permeation. **Eur. J. Clin. Invest.**, n. 16, p. 217-225, 1986.

NUERMBERGER, E.; TYAGI, S.; WILLIAMS, K. N.; ROSENTHAL, I.; BISHAI, W.; GROSSET J. H. Rifapentine, Moxifloxacin, or DNA vaccine improves treatment latent tuberculosis in a mouse model. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, n. 172, p. 1452-1456, 2005.

O'CONNOR, P. G.; SCHOTTENFELD, R. S. Patients with alcohol problems. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, n. 9, p. 592-600, 1998.

ONYEBUJOH, P.; ZUMLA, A.; RIBEIRO, I.; RUSTOMJEE, R.; MWABA, P.; GOMES, M.; GRANGE, J. M. Treatment of tuberculosis: present status and future prospects. **Bull. World Health Org.**, v. 83, n. 11, p. 857-865, 2005.

ORDWAY, D. J.; SONNENBERG, M. G.; DONAHUE, S.A.; BELISLE, J. T.; ORME, I. M. Drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* exhibit a range of virulence for mice. **Infect. Immun.**, v. 63, n. 2, p. 741-743, 1995.

OWENS, S. R.; GREENSON, J. K. The pathology of malabsorption: current concepts. **Histopathology**, v. 50, p. 64-82, 2007.

PABLOS-MENDEZ, A.; RAVIGLIONE, M. C.; LASZLO, A.; BINKIN, N.; RIEDER, H. L.; BUSTREO, F. *et al.* Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. World Health Organization- International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, n. 23, p. 1641-1649, 1998.

PADGAONKAR, K. A.; REVANKAR, S N.; BHATT, A. D.; VAZ, J. A.; DESAI, N. D.; D'Sa, S.; SHAH, V. Comparative bioequivalence study of rifampicin and isoniazid combinations in healthy volunteers. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, n. 7, p. 627-631, 1999.

PAHKLA, R.; LAMBERT, J.; ANSKO, P.; WINSTANLEY, P.; DAVIES, P. D.; KIIVET, R. A. Comparative bioavailability of three different preparations of rifampicin. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v. 24, n. 3, p. 219-225, 1999.

PARK, M.; DAVIS, A. L. Outcome of MDR-TB patients 1983-1993: prolonged survival with appropriate therapy. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 153, p. 317-324, 1996.

PEARSON, A. D.; EASTHAM, J.; LAKER, M. F.; CRAFT, A.; NELSON, R. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and celiac disease. **Br. Med. J.**, v. 285, p. 20-21, 1982.

PELLIZA, G.; NEBULONI, M.; FERRARI, P.; GALLO, G. G. Polimorphism of rifampicina. **Il Farmaco** (Edizione scientifica), v. 32, p. 471-481, 1977.

PELOQUIN, C. A. Therapeutic drug monitoring : principles and applications in mycobacterial infections. **Drug Ther.**, v. 22, p. 31-36, 1992.



PELOQUIN, C. A.; MACPHEE, A. A.; BERNING, S. E. Malabsorption of antimicrobial medications. **N. Engl. J. Med.**, v. 329, p.1122–1123, 1993.

PELOQUIN, C. A. Using therapeutic drug monitoring to dose the antimycobacterial drug. **Clin. Chest Med.**, v. 18. p. 79-87, 1997.

PELOQUIN, C. A.; BERNING, S. E.; HUITT, G. A. ISEMAN, M. D. AIDS and TB drug absorption. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, n. 12, p. 1143-1144, 1999.

PELOQUIN, C. A. Pharmacological issues in the treatment of tuberculosis. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 953, p. 157-164, 2001.

PELOQUIN, C. A Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis. **Drugs**, v. 62, n. 15, p. 2169-2183, 2002.

PELOQUIN, C. Use of therapeutic drug monitoring in tuberculosis patients. **Chest**, v. 126, p. 1722-1724, 2004.

PEÑA, J. M.; ORTEGA, A. Estudio transversal multihospitalario de tuberculosis y resistencias en Madrid (octubre de 1993- abril de 1994). **Med. Clin., (Barc)**, v. 106, p. 1-6, 1996.

PILLAI, G.; FOURIE, P. B.; PADAYATCHI, N.; ONYEBUJOH, P. C.; McILLERON, H.; SMITH, P. J.; GABRIELS, G. Recent bioequivalence studies on fixed-dose combination antituberculosis drug formulations available on the global market. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 3, p. 309 – 316, 1999. Suppl. 3.

PINHEIRO, V. G. **Estudo da permeabilidade intestinal em pacientes com tuberculose pulmonar ativa.** Tese (Doutorado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

PINHEIRO, V. G. F.; RAMOS, L. M. A.; MONTEIRO, H. S. A.; BARROSO, E. C.; BUSHEN, O. Y.; FAÇANHA, M. C.; PELOQUIN, C. A.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. M. Intestinal permeability and malabsorption of rifampin and isoniazida in active pulmonary tuberculosis. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 10, n. 6, p. 374-379, 2006.

POLOSA, K; MURPHY, K. J. R.; KRISHNASWAMY, K. Rifampicin kinetics in undernutrition. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v. 17, p.481-484, 1984.

PONCE DE LEON, A. Antimicrobial resistance in tuberculosis: mechanisms and therapeutic options. **Rev. Invest. Clin.**, v. 52, n. 1, p. 72-79, 2000.

RAO, S. N.; MOOKERJEE, A. L.; OBASANJO, O. O.; CHAISSON, R. E. Errors in the treatment of tuberculosis in Baltimore. **Chest**, v. 117, n. 3, p. 734-737, 2000.

RAVIGLIONE, M. C.; SMITH, I. M. XDR tuberculosis – Implications for global public health. **N. Eng. J. Med.**, v. 356, n. 7, p. 656-659, 2007.

RAY, J.; GARDINER, I.; MARRIOTT, D. Managing antituberculosis drug therapy by therapeutic drug monitoring of rifampicin and isoniazid. **Intern. Med. J.**, v. 33, p. 229-234, 2003.

RISKA, P. F.; JACOBS, W. R.; ALLAND, D. Molecular determinants of drug resistance in tuberculosis. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 4, n. 2, p. S4-S10, 2000.

ROSEMBERG, J.; BRANDI, R.; CARRIJO, L. N. Resistência do Bacilo de Koch à hidrazida do ácido isonicotínico. **Rev. Bras. Tuberc.**, v. 21, n. 145, p. 63-66, 1953.

ROSEMBERG. **Tuberculose:** panorama global, óbices para o seu controle. Fortaleza, 1999. 123 p.

RUFFINO-NETTO, A. Tuberculosis: the neglected calamity. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 1, p. 51-58, 2002.

RUSLAMI, R.; NIJLAND, H. M. J.; ALISJAHBANA, B.; PARWATI, I.; VAN CREVEL, R.; AARNOUTSE, R. E. Pharmacokinetics and tolerability of a higher rifampin dose versus the standard dose in pulmonary tuberculosis patients. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 51, p. 2546-2551, 2007.

SAFDAR, A.; ARMSTRONG, D.; MURRAY, H. W. A novel defect in interferon-gamma secretion in patients with refractory nontuberculous pulmonary mycobacteriosis. **Ann. Intern. Med.** v. 138, p. 521, 2003.

SAKULA, A. R. T. H. *apud* HAAS, F.; HAAS, S. S. The origins of *Mycobacterium tuberculosis* and the notion of its contagiousness. In: ROM, W. N.; GARAY, S. M. **Tuberculosis**. New York: Little Brown, 1996. Cap. 70, p. 3-19.

SALO, W. L.; AUDERHEÍDE, A. C.; BULKSTRA, J.; HOLCOMB, T. A. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA infection pre-Colombian peruvian mummy. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p. 2091, 1994.

SALTZMAN, J. R.; KOWDLEY, K. V.; PERRONE, G.; RUSSEL, R. M. Changes in small-intestine permeability with aging. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 43, p. 160-164, 1995.

SANDMAN, L. Risk factors for rifampin-mono-resistant tuberculosis: A case-control study. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 152, n. 2, p. 468-472, 1999.

SAWIERS, W.M.; ANDREWS, D. J.; LOW-BEERS, T. S. The double sugar test of intestinal permeability in the elderly. **Age Aging**, v. 25, p. 312-315, 1985.

SCHAAF, H. F.; BOTHA, P.; BEYERS, N.; GIE, R. P.; VERMEULEN, H. A. S.; GROENEWALD, P.; COETZEE, G. J.; DONALD, P. R. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. **Trop. Med. Int. Health**, v. 1, n. 5, p. 718-722, 1996.

SCHWOEBEL, V.; DECLUDT, B.; de BENOIST, A. C.; HAEGHEBAERT, S.; TORREA, G.; VINCENT, V.; GROSSET, J. Multidrug resistant tuberculosis in France 1992-1994: two case control studies. **BMJ**, v. 317, p. 630-631, 1998.

SHAH, N. S.; WRIGHT, A.; DROBNIEWSKI, F. *et al.* Extreme drug resistance in tuberculosis ("XDR-TB"): global survey of supranational reference laboratories for *Mycobacterium tuberculosis* with resistance to second-line drugs. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v.9, Suppl. 1, p. S77, 2005

SHARMA, S. K.; MOHAN, A. Multidrug-resistant tuberculosis. **Indian J. Med. Res.**, v. 120, p. 354-376, 2004.

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

SINGH, S.; MARIAPPAN, T. T.; SANKAR, R.; SARDA, N.; SINGH, B. A critical review of the probable reasons for poor/variable bioavailability of rifampicin from antitubercular fixed-dose combination (FDC) products, and the likely solutions for the problem. **Int. J. Pharm.**, v. 228, p. 5-17, 2001.

SMALL, P. M.; HOPEWELL, P. C.; SINGH, S. P.; PAZ, A.; PARSONNET, J.; RUSTON, D. C.; SCHECTER, G. F.; DALEY, C. L.; SCHOOLNIK, G. K. A popular based study using conventional and molecular methods. **N. Engl. J. Med.**, v. 330, n. 24, p. 1703-1709, 1994.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes Brasileiras para tuberculose 2004. **J. Bras. Pneum.**, v. 30, supl 1, 2004.

SONNENBERG, P.; MURRAY, J.; SHEARER, S.; GLYNN, J. R.; KAMBASHI, B.; GODFREY-FAUSSETT, P. Tuberculosis treatment failure and drug resistance - same strain or reinfection? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, n. 6, p. 603-607, 2000.

STOKSTAD, E. Infectious disease. Drug-resistant TB on the rise. **Science**, v. 287, n. 5462, p. 2391, 2000.

STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILANOVA, C. M. **A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas** abril 2004. Disponível em:

<[http://www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/genericos\\_referencia.pdf](http://www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/genericos_referencia.pdf)>. Acesso em: 28 abr. 2007.

SUN, Y. J.; BELLAMY, R.; LEE, A. S. G.; NG, S. T.; RAVIDRAN, S.; WONG, S. Y.; LOCHT, C.; SUPPLY, P.; PATON, N. I. Use of mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing to examine genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in Singapore. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p.1986-1993, 2004.

SUPPLY, P.; MAZARS, E.; LESJEAN, S.; VINCENT, V.; GICQUEL, B.; LOCHT, C. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. **Mol. Microbiol.**, v. 36, p. 762-771, 2000.

TAPPERO, J. W.; BRADFORD, W. Z.; AGERTONN, T. B.; HOPEWELL, P.; REINGNOLD, A. L.; LOCKMAN, S.; OYEWU, A.; TALBOT, E. A.; KENYON, T. A.; MOETI, T. L.; MOFFAT, H. J.; PELOQUIN, C. A. Serum concentrations of antimycobacterial drugs in patients with tuberculosis in Botswana. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, n. 4, p. 461-469, 2005.

TIMERMAN, A. Infecções causadas por micobactérias não-tuberculosas. In CIMERMEN, S.; CIMERMAN, J. **Medicina tropical**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2003 p. 305-308.

TOIT, L. C.; PILLAY, V.; DANCKWERTS M. P. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. **Respir. Res.**, v. 7, n. 1, p. 118, 2006.

TRAVIS, S.; MENZIES, I. Intestinal permeability: funcional assessment and significance. **Clin. Sci.**, v. 82 , p. 471-488, 1992.

TUBERCULOSIS morbidity - United State, 1997. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 47, n. 13, p. 253-257, 1998.

TUBERCULOSIS COALITION FOR TECHNICAL ASSISTANCE. **International Standards for Tuberculosis Care (ISTC)**. The Hague: Tuberculosis Coalition for Technical Assistance, 2006. Disponível em: <[http://www.who.int/tb/publications/2006/istc\\_report.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2006/istc_report.pdf)>. Acesso em: 27 Feb. 2007.

TURNER, M.; MCGOWAN, C.; NARDELL, E.; HASKAL, R. Serum drugs levels in tuberculosis patients (abstracts). **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 149A, p. 527, 1994.

TURNIDGE, J. D. The pharmacodynamics of beta-lactams. **Clin. Infect. Dis.**, v. 27, p. 10-22, 1998.

UFFREDI, M.; TRUFFOT-PERNOT, C.; DAUTZENBERG, B.; RENARD, M.; JARLIER, V.; ROBERT, J. An intervention programme for the management of multidrug-resistant tuberculosis. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 29, p. 43-49, 2007.

UM, S.-W.; LEE, S. W.; KNOW, S. Y.; YOON, H. I.; PARK, K. U.; SONG, J.; LEE C.-T.; LEE, J.-H. Low serum concentrations of anti-tuberculosis drugs and determinants of their serum levels. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 11, p. 972-978, 2007.

VAN DER HULST, R. R.; Von MEYENFELDT, M. F.; Van KREEL, B. K.; THUNNISSEN, F. B.; BRUMMER, R. J.; ARENDS, J. W. Gut permeability, intestinal morphology, and nutritional depletion. **Nutrition**, v. 14, p. 1-6, Jan. 1998.

VAN CREVEL, R.; ALISJAHBANA, B.; DE LANGE, W. C. M. F.; BORST, F.; DANUSANTOSO, H.; VAN DER MEER, J. W. M.; BURGER, D.; NELWAN, R. H. H. Low plasma concentrations of rifampicin in tuberculosis patients in Indonesia. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 6, p. 497-502, 2002.

WALLAERT, B.; COLOMBEL, J. F.; ADENIS, A.; MARCHANDISE, X.; HALLGREN, R.; JANIN, A.; TONNEL, A. B. Increased intestinal permeability in active pulmonary sarcoidosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 145, p. 1440-5, 1992.

WALTON, D.; FARMER, P. The new white plague. **JAMA**, v. 284, n. 21, p. 2789, 2000.

WALSH, S. V.; HOPKINS, A. M.; NUSRAT, A. Modulation of tight junction structure and function by cytokines. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, v. 41, n. 3, p. 303-13, 2000.

WELSH, C. H. Drug-resistant tuberculosis after gastrectomy. Double jeopardy? **Chest**, v. 99, p. 245-247, 1991.

WELSH, F. K. S.; FARERY, S. M.; MacLENNAN, K.; SHERIDAN, M. B.; BARCLAY, G. R.; GUILLOU, P. J.; REYNOLDS, J. V. Gut barrier function in malnourished patients. **Gut**, v. 42, p. 396-401, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical status**: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995. 462 p. (Report of a WHO Expert Committee. Série de Informes Técnicos, n. 854).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Stop TB**: frequently asked questions about the 4-drug fixed-dose combination tablet recommended by the WORLD HEALTH ORGANIZATION for treatment of tuberculosis. Geneva, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global tuberculosis control**: surveillance, planning, financing. Geneva, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global tuberculosis control**: surveillance, planning, financing. Geneva, 2006a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the programmatic management of drugresistant tuberculosis**. Geneva, 2006b. (WHO, v. 361).

YANG, Z.; BARNES, P. F.; CHAVES, F.; EISENACH, K. D.; WEIS, S. E.; BATES, J. H.; CAVE, M. D. Diversity of DNA fingerprints of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the United States. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 4, p. 1003-1007, 1998.

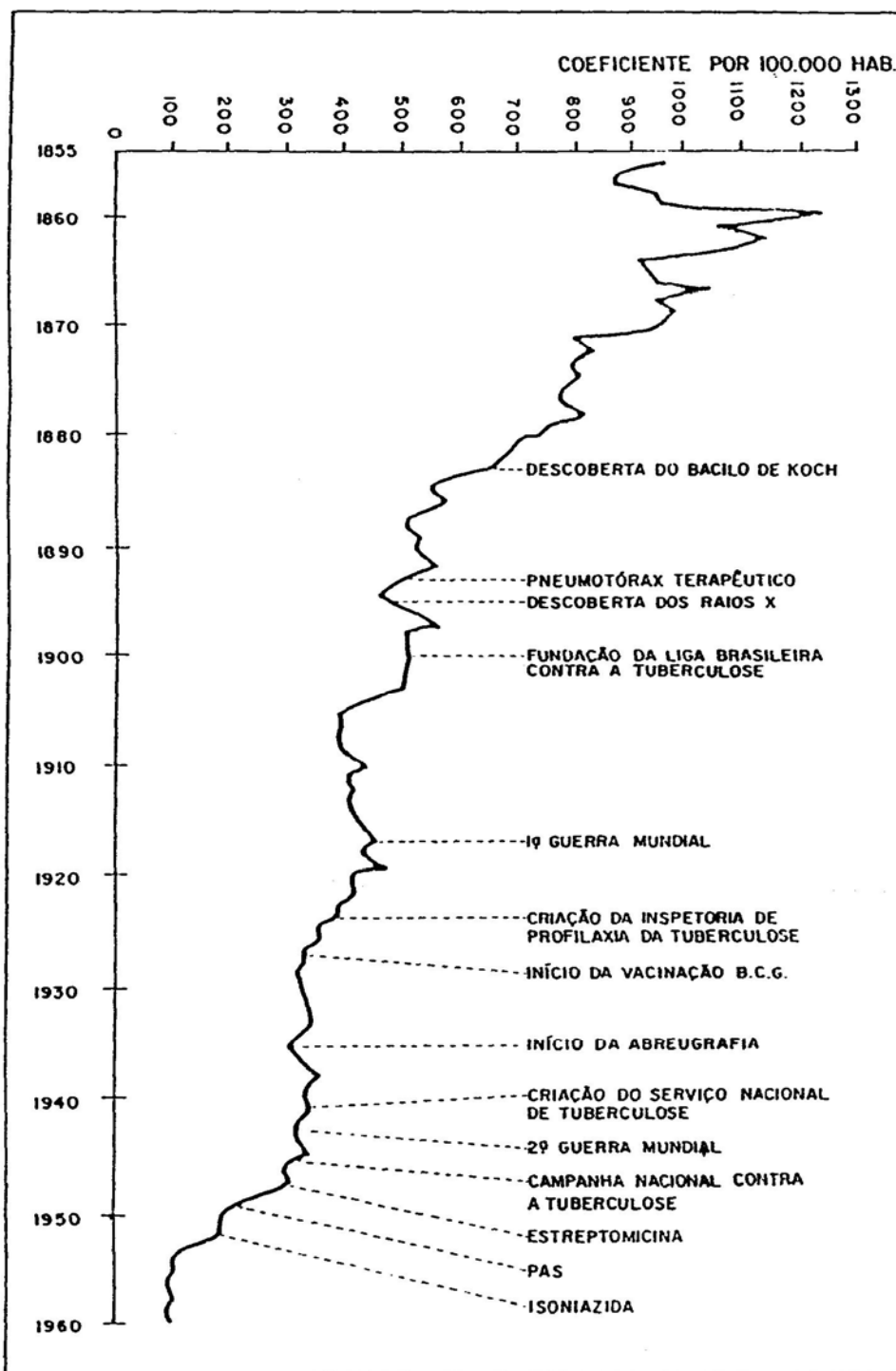
YOUNG, D. B. Blueprint for the White plague. **Nature**, v. 393, p. 515-516, 1998.

ZUMLA, A.; MWABA, P.; SQUIRE, S. B.; GRANGE, J. M.; The tubercu pandemic- which way now? **J. Infect.**, v. 38, n. 2, p. 74-79, 1999.

# **ANEXOS**

## ANEXO A

**Mortalidade por tuberculose (todas as formas) no Rio de Janeiro  
(ex-Distrito Federal), de 1855 a 1960.**

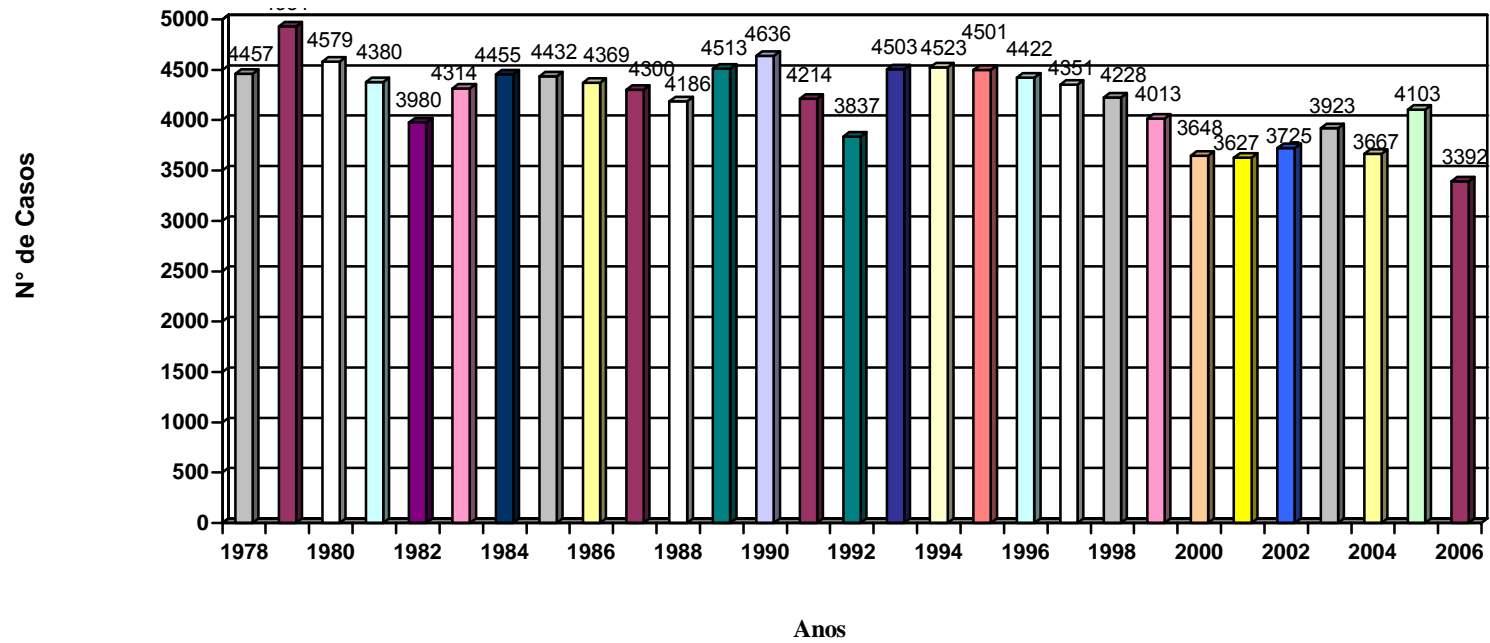


Fonte: Bethlem N. Tuberculose. In: Pneumologia. 2ª edição. Rio de Janeiro: Atheneu, 1975. Cap. 16, p. 185-226.



## ANEXO B

### Evolução da Incidência da Tuberculose de todas as Formas, Ceará - 1978 a 2006



Fonte: CEARÁ. Secretaria de Estado da Saúde. - **Informe epidemiológico - Tuberculose**, fev 2007. Disponível em <[http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicações/informestecnicos/tuberculose\\_02\\_07.pdf](http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicações/informestecnicos/tuberculose_02_07.pdf)>. Acesso em 24 nov 2007

## ANEXO C

**Alvos moleculares, prevalência e efeitos dos mecanismos de resistência conhecidos às drogas antituberculose.**

<b>Droga</b>	<b>Local de mutação</b>	<b>Prevalência entre cepas resistentes</b>	<b>Comentários</b>
Isoniazida (INH)	Katg (catalase-peroxidase)	~50%	- Resulta na perda da atividade catalase-peroxidase do bacilo; evitando a conversão da INH em metabólito ativo. Confere alto nível de resistência (5,0µg/ml).
	InhA (biossíntese de ácidos graxos)	~25%	- Responsável pela síntese do ácido micólico da parede celular. Mutações causam "upregulation" do alvo e conferem baixo nível de resistência (1,0µg/ml).
	AhpC (alquil-hidroperóxido redutase)	~10-15%	- Este gene inativa o metabólito ativo da INH mantendo a virulência do bacilo. Normalmente fica inativo por um gen controlador oxyR. Mutações conferem ativação espontânea.
Rifampicina (RFP)	RpoB (subunidade β da RNA polimerase)	~97%	- Mutações vão impedir que a RFP se ligue à RNA polimerase e bloqueie a transcrição. Maioria das mutações conferem resistência à todas RFBs; <15% n/ envolvem a RFB.
Estreptomicina (SM)	RpsL (proteína ribossômica S12)	~50-60%	- Mutações nesses genes vão impedir que a SM bloqueie a síntese de proteínas no ribossomo do BK.
	Rrs (RNA ribossômico 16S)	~15%	
Etambutol (EMB)	embAB (arabinosil transferase)	~50%	- BEM inibe a síntese do componente celular arabinogalactan. Mutações levam à superexpressão da enzima ou outro mec. ↓ o efeito da droga.
Pirazinamida (PZA)	PncA (Pzase)	~84%	- Pzase ativa a PZA. Essa enzima foi clonada e seqüenciada recentemente e mutações foram inequivocamente ligadas à resistência
Etionamida	InhA	~40%	
Amicacina Kanamicina	Rrs	~67%	
Fluoroquinolonas	GirA (subunidade A da DNA girase)	> 90%	- Todas as quinolonas agem inibindo a DNA girase, inibindo a transcrição.

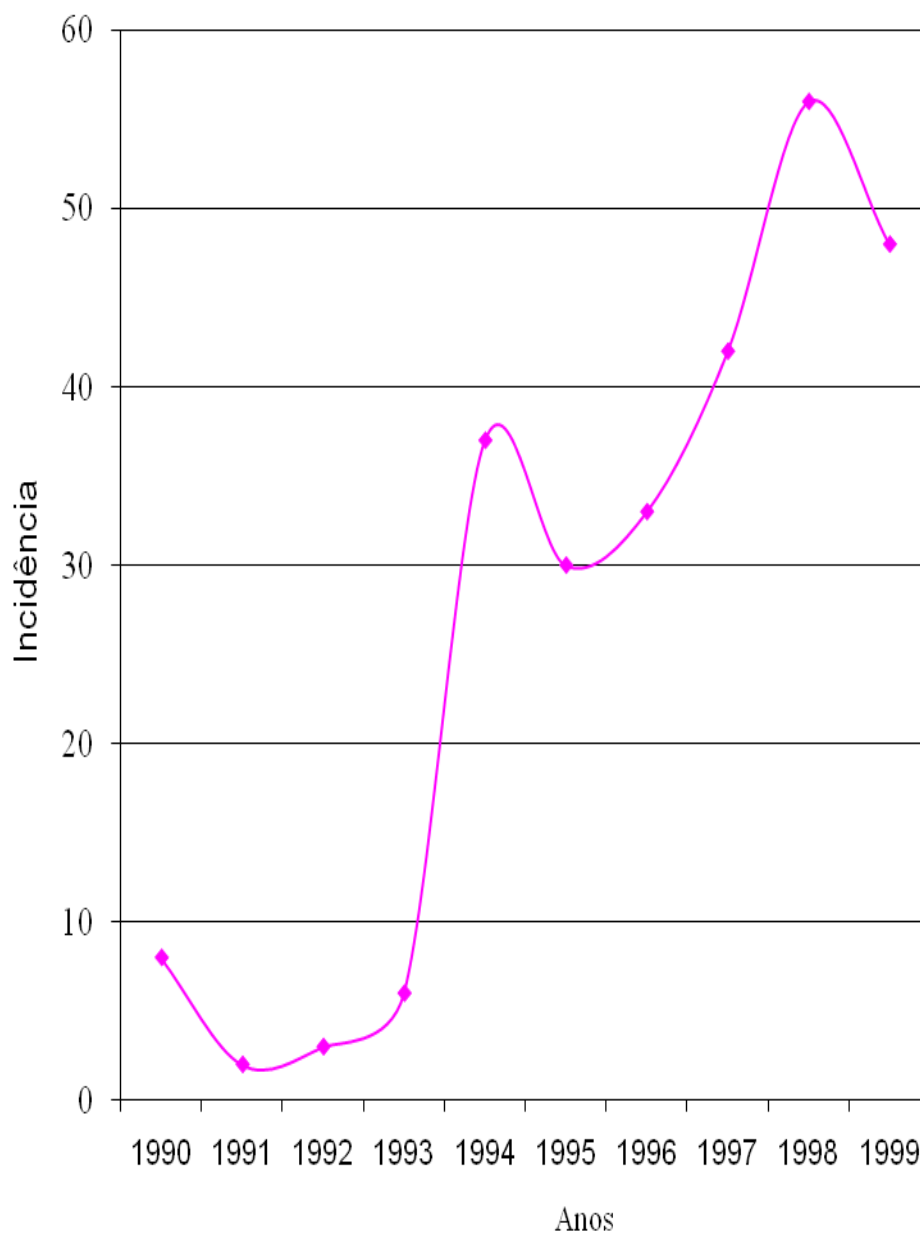
Fonte: Modificado de Iseman MD. A Clinician's Guide to Tuberculosis 2000;323-354 e Riska PF. Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4(2) supl 1:S4-S10.

## ANEXO D

**Projeto Global de Vigilância à Resistência das Drogas Anti-Tuberculose - Ceará  
1995-1996**

	Resistência Primária		Resistência Adquirida		Resistência Combinada	
	Nº	%	nº	%	nº	%
PACIENTES ESTUDADOS	506	80,6%	122	19,4%	628	100,0%
PACIENTES SENSÍVEIS	488	96,4%	105	86,1%	593	94,4%
QUALQUER RESISTÊNCIA	18	3,6%	17	13,9%	35	5,6%
ISONIAZIDA (INH)	15	3,0%	13	10,7%	28	4,5%
RIFAMPICINA (RMP)	4	0,8%	6	4,9%	10	1,6%
ETAMBUTOL (EMB)	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
ESTREPTOMICINA (SM)	4	0,8%	4	3,3%	8	1,3%
PIRAZINAMIDA (PZA)	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
ETIONAMIDA (ETH)	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
MONORRESISTÊNCIA	13	2,6%	12	9,8%	25	4,0%
ISONIAZIDA (INH)	10	2,0%	8	6,6%	18	2,9%
RIFAMPICINA (RMP)	1	0,2%	2	1,6%	3	0,5%
ETAMBUTOL (EMB)	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
ESTREPTOMICINA (SM)	2	0,4%	2	1,6%	4	0,6%
MULTIDROGA RESIST.	3	0,6%	4	3,3%	7	1,1%
INH+RMP	3	0,6%	3	2,5%	6	1,0%
INH+RMP+BEM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
INH+RMP+SM	0	0,0%	1	0,8%	1	0,2%
INH+RMP+EMB+SM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
OUTROS PADRÕES	2	0,4%	1	0,8%	3	0,5%
INH+BEM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
INH+SM	2	0,4%	1	0,8%	3	0,5%
INH+EMB+SM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
RMP+BEM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
RMP+SM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
RMP+EMB+SM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
EMB+SM	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
<b>NÚMERO DE DROGAS A QUE OS PACIENTES APRESENTARAM RESISTÊNCIA</b>						
0	488	96,4%	105	86,1%	593	94,4%
1	13	2,6%	12	9,8%	25	4,0%
2	5	1,0%	4	3,3%	9	1,4%
3	0	0,0%	1	0,8%	1	0,2%
4	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%

Fonte: Grupo de Trabalho do Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

**ANEXO E****Incidência Anual da Tuberculose Multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999**

Fonte: Barroso, E. C. J. Pneumol., v. 27, n. 6, p. 310-314, 2001.

## ANEXO F

## Parâmetros farmacocinéticos de drogas antimicobacterianas

<b>Droga</b>	<b>C<sub>máx</sub></b> (µg/mL)	<b>T<sub>máx</sub></b> (horas)	<b>Meia-vida</b>
Amicacina	35-45 65-80	0,5-1,5 (IM) EV	2-4 h
Ácido para-amino-salicílico	20-60 (grânulos)	4-8 (grânulos)	0,5-2 h
Azitromicina	0,3-0,5	2	1-5 dias
Capreomicina	35-45	1-2 (IM)	2-4 h
Ciprofloxacina	4-6	1-2	3-5 h
Claritromicina	2-7	2-3	3-5 h
Clofazimina	0,5-2	2-12	>10 dias
Etambutol	2-6	2-3	4-5 h
Estreptomicina	35-45 65-80	0,5-1,5 (IM) EV	2-4 h
Etionamida	1-5	1-2,5	2-4 h
Isoniazida	3-6	0,75-2	R-1,5-2 h L-3,5-4 h
Kanamicina	35-45 65-80	0,5-1,5 (IM) EV	2-4 h
Ofloxacina	6-12	1-2	5-8 h
Pirazinamida	20-60	1-2	9-11 h
Rifabutina	0,3-0,9	2-4	20-25 h
Rifampicina	8-24	2	2-4 h
Tiacetazona	0,9-2,4	2-4	12-20 h

C<sub>máx</sub>. = Concentração sérica máxima; T<sub>máx</sub> = Tempo em ocorre o C<sub>máx</sub>; IM = intramuscular;  
EV = endovenosa; R = acetilador rápido; L = acetilador lento  
PELOQUIN, C. A. *Clin. Chest Med.*, v. 18. p. 79-87, 1997.

**ANEXO G**

SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO CEARÁ / SUS  
HOSPITAL DE MESSEJANA - H.M.  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM HUMANOS DO HM

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que o projeto de pesquisa nº 317/06 sobre: “FUNÇÃO DA BARREIRA INTESTINAL E BIODISPONIBILIDADE DA RIFAMPICINA E ISONIAZIDA EM PACIENTES COM TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE NO ESTADO DO CEARÁ” de responsabilidade de Elizabeth Clara Barroso foi analisado e aprovado por este comitê em 04.04.06.

Fortaleza, 10 de abril de 2006.

**Dra. Maria de Jesus Ferreira Marinho**  
Coordenadora da Comissão de Ética do Hospital de Messejana

## ANEXO H

### TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

#### I- IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

PACIENTE.....SEXO: M F IDENT.....  
 END:.....BAIRRO..... CIDADE .....F:(.....)  
 RESPONSÁVEL (parentesco).....SEXO: M F IDENT.....  
 END:.....BAIRRO..... CIDADE.....F:(.....)

#### II- DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DA PESQUISA: Função da barreira intestinal e biodisponibilidade da rifampicina e isoniazida em pacientes com tuberculose multirresistente no Estado do Ceará.
2. PESQUISADOR: Elizabeth Clara Barroso FUNÇÃO: Doutoranda em Ciências Médicas  
CREMEC= 2604 LOTAÇÃO: Ambulatório de Tisiologia do Hospital de Messejana.
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo  
SEM RISCO      RISCO MÍNIMO      RISCO MÉDIO      RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 01 ano

#### III- REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. O SR. (a.) está sendo convidado a participar de um estudo que visa estudar a função intestinal de pessoas com tuberculose pulmonar resistente aos medicamentos.
2. O SR. (a.) responderá a um questionário com a nossa ajuda, e fará alguns exames de avaliação como: Rx de tórax, ex. de escarro, fezes, urina e sangue de rotina e será oferecido teste Anti-HIV.
3. O Sr. deverá tomar por Via Oral 2 cápsulas de rifampicina + isoniazida e uma solução semelhante à água com açúcar e deverá permanecer por pelo menos 6 hs no ambulatório para coleta de sangue (2 vezes) e urina. Para os voluntários são poderá ocorrer (1%) reação alérgica, com o uso dos medicamentos, apenas passageira, já que as doses não serão repetidas.
4. Esse estudo está sendo feito para **melhorar mais os resultados do tratamento da tuberculose.**

#### IV- ESCLARECIMENTOS SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. O Sr. (a.) poderá ter qualquer informação sobre o estudo, podendo tirar algumas dúvidas.
2. O Sr. (a.) terá liberdade de deixar de participar do estudo, continuando a ter assistência.
3. Os dados coletados serão mantidos em sigilo e privacidade.

**V- PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Elizabeth Clara Barroso. R. Fonseca Lobo, 50, Apto 402, Aldeota, Fort.-CE Fone: 3267-1557/ 9983-0476

#### VII- CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Em caso de menor de idade: Declaro que o mesmo foi devidamente esclarecido e aceita participar do presente Protocolo de Pesquisa sendo eu o responsável legal.

.....  
 Ass. Do sujeito da pesquisa ou responsável legal (e do menor quando possível)

.....  
 Ass. do pesquisador (carimbo ou nome legível)  
 Fortaleza, .....de.....de.200.....

# ANEXO I

Visualização

100% 1 Fechar  Exibir o módulo de configuração da impressão

**Data:** 03/01/2007  
**Hora:** 11:58:57  
**Via:** 1

**Laudo de Análise 3605.00/2005**

**Número do Protocolo:** 005088  
**Modalidade de Análise:** FISCAL  
**Programa:** MEDICAMENTOS  
**Nome do Produto:** ISONIAZIDA + RIFAMPICINA  
**Complemento do Nome:** ISONIAZINA 100mg + RIFAMPICINA 150mg  
**Marca:** LAFEPE - ISONIAZIDA  
**Forma Farmacêutica:** CÁPSULA  
**Quantidade Recebida:** 60 CÁPSULAS  
**Data de Fabricação:** 01/07/2005  
**Data de Validade:** 31/07/2007  
**Número do Lote:** 05070517  
**Termo de Apreensão / Coleta da Amostra:** 101/05  
**Motivo Apreensão:** PROVEME.  
**Registro:** MS. 1.0183.0095  
**Fabricante:** LAFEPE-LABORATÓRIO FARMACÊUTICO DO ESTADO DE PERNAMBUCO S.A.  
**Logradouro:** LARGO DE DOIS IRMÃOS Nº 1117 - CEP: 52171-010 - RECIFE/PE  
**CNPJ:** 10.877.926/0001-13  
**País:** BRASIL  
**Local de Coleta:** CENTRO DE REF. PROF. HÉLIO FRAGA - RIO DE JANEIRO/RJ  
**Requerente:** MS/ANVISA/DF/GGIMP  
**Pessoa de Contato:** ANTÔNIO CARLOS DA COSTA BEZERRA  
**Documento:** OF. Nº034/N.R.M. E PROD./ANVISA/MS  
**Data de Entrada:** 24/11/2005      **Data de Coleta:** 23/11/2005  
**Descrição da Amostra:** INVÓLUCRO PLÁSTICO LACRADO (BOLSA COLHEITA Nº.0113151) CONTENDO 06 BLISTERES COM 10 CÁPSULAS, CADA DO PRODUTO. ACOMPANHA TESTEMUNHO (BOLSA COLHEITA.0113152).

Page 1 of 4



Visualização

124% 2 Fechar Exibir o módulo de configuração da impressão

Data: 03/01/2007  
Hora: 12:00:19  
Via: 1

**Laudo de Análise 3605.00/2005**

Unidade Analítica: DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**Nome do Ensaio:** ANÁLISE DE RÓTULO  
**Referência:** DECRETO Nº 79.094/77  
**Valor de Referência:** De acordo com o Decreto 79094, de 05/01/77  
**Resultado:** Em desacordo com o artigo 93 do Decreto 79094/77.  
 Obs.: A embalagem primária apresenta a frase: "LAFEPE a marca da saúde".  
**Conclusão:** INSATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** ASPECTO  
**Referência:** TÉCNICAS FARMACÉUTICAS E FARMÁCIA GALÊNICA, NOGUEIRA PRISTA VOL I 2ª ED.  
**Valor de Referência:** cápsula gelatinosa  
**Resultado:** Cápsulas gelatinosas, duras, de cor vermelho escura.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** PESO MÉDIO DO CONTEÚDO  
**Referência:** FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª EDIÇÃO, 1988.  
**Resultado:** (265 ± 8) mg/cápsula  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** VARIAÇÃO DE PESO  
**Referência:** FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª EDIÇÃO, 1988.  
**Valor de Referência:** Não mais que duas cápsulas com variação maior que ± 7,5% e nenhuma cápsula com variação maior que ± 15%  
**Resultado:** Variação Máxima: 4,9%  
 Variação Mínima: 3,3%  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

Page 2 of 4

Visualização

124% 2 Fechar Exibir o módulo de configuração da impressão

**Nome do Ensaio:** VARIAÇÃO DE PESO  
**Referência:** FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª EDIÇÃO, 1988.  
**Valor de Referência:** Não mais que duas cápsulas com variação maior que ± 7,5% e nenhuma cápsula com variação maior que ± 15%  
**Resultado:** Variação Máxima: 4,9%  
 Variação Mínima: 3,3%  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** IDENTIFICAÇÃO DE ISONIAZIDA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** Positiva  
**Resultado:** Positiva  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** TEOR DE ISONIAZIDA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** (90 - 110)% do declarado  
**Resultado:** (97 ± 3) mg/cápsula 97% do declarado  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE ISONIAZIDA  
**Referência:** FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª EDIÇÃO, 1988.  
**Valor de Referência:** (85-115)% da quantidade declarada e DPR = ou < a 6,0%.  
**Resultado:** Valores individuais de dez unidades:  
 98,7% ; 94,9% ; 96,1% ; 95,2% ; 100,7% ;  
 94,2% ; 98,5% ; 97,7% ; 95,8% ; 92,9% ;  
 DPR = 2,5%  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

Página : 2 / 4

Page 2 of 4

Visualização 124 % 3 Fechar Exibir o módulo de configuração da impressão

Data: 03/01/2007  
 Hora: 12:02:45  
 Via: 1

**Laudo de Análise 3605.00/2005**

Unidade Analítica: DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**Nome do Ensaio:** DISSOLUÇÃO DE ISONIAZIDA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** Não menos que 80% da quantidade declarada dissolve em 45 minutos  
**Resultado:** Estágio 1:  
 97% - 89% - 94% - 94% - 89% - 91%  
 (92 ± 3)% do declarado em 45 minutos.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** IDENTIFICAÇÃO DE RIFAMPICINA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** Positiva  
**Resultado:** Positiva  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** TEOR DE RIFAMPICINA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** (90 - 110)% do declarado  
**Resultado:** (144 ± 2)mg/cápsula 96% do declarado  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE RIFAMPICINA  
**Referência:** FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª EDIÇÃO, 1988.  
**Valor de Referência:** (85-115)% da quantidade declarada e DPR = ou < a 6,0%.  
**Resultado:** Valores individuais de dez unidades:  
 94,4% ; 90,8% ; 97,5% ; 95,1% ; 93,2% ;  
 95,0% ; 97,5% ; 96,5% ; 91,1% ; 94,0% ;  
 DPR = 2,5%  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

Page 3 of 4

Visualização 124 % 3 Fechar Exibir o módulo de configuração da impressão

**Valor de Referência:** (85-115)% da quantidade declarada e DPR = ou < a 6,0%.  
**Resultado:** Valores individuais de dez unidades:  
 94,4% ; 90,8% ; 97,5% ; 95,1% ; 93,2% ;  
 95,0% ; 97,5% ; 96,5% ; 91,1% ; 94,0% ;  
 DPR = 2,5%  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

---

**Nome do Ensaio:** DISSOLUÇÃO DE RIFAMPICINA  
**Referência:** FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS (USP 28)  
**Valor de Referência:** Não menos que 75% da quantidade declarada dissolve em 45 minutos.  
**Resultado:** Estágio 1:  
 95% - 84% - 88% - 91% - 86 - 90%  
 (89 ± 4)% do declarado em 45 minutos.  
**Conclusão:** SATISFATÓRIO

Página : 3 / 4

Page 3 of 4

Visualização

124 % 4 Fechar Exibir o módulo de configuração da impressão

**Data:** 03/01/2007  
**Hora:** 12:03:25  
**Via:** 1

**Laudo de Análise 3605.00/2005**

**Observações:** A amostra está insatisfatória no ensaio de análise de Rótulo.

**Conclusão:** INSATISFATÓRIA

Em, 12/04/2006

---

MISSÃO

"Contribuir para a promoção e recuperação da saúde e prevenção de doenças, atuando como referência nacional para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à Vigilância Sanitária."

Page 4 of 4

## ANEXO J

**Dose de rifampicina e isoniazida adotada nos esquemas  
antituberculose no Brasil**

	Peso do paciente			
	Até 20kg	Mais de 20kg e até 35kg	Mais de 35kg e até 45kg	Mais de 45kg
DROGA	mg/kg/dia	mg/dia	mg/dia	mg/dia
<b>Rifampicina</b>	10	300	450	600
<b>Isoniazida</b>	10	200	300	400

Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. **J. Bras. Pneum.**, v. 20, supl 1, 2004.

# **APÊNDICES**



## APÊNDICE B

### PROTOCOLO GERAL

#### AVALIAÇÃO BARREIRA FUNCIONAL INTESTINAL E BIODISPONIBILIDADE DA RM e INH

##### Observações gerais:

- Os dois testes foram realizados no mesmo dia
- O agendamento foi feito em dias específicos para cada grupo
- Foram utilizados dias em que não ocorriam consultas
- A pesquisa se desenvolveu paralelamente nos 3 grupos
- Jejum a partir da meia noite

##### Cronograma no dia da pesquisa

**07:00 hs (Hora 0)** – Tomada supervisionada da RMP+INH + 150 ml de água

**08:00 hs** - esvaziar a bexiga e tomar 20ml da solução-teste  
(L=250mg/ml + M=50mg/ml)

**09:00 hs** – 1ª coleta de 8 ml de sangue\*

**09:10 hs** – desjejum

**09:00 – 13:00 hs** – coleta urina (recip. estéril c/ clorohexidina 2% (1gt:50ml urina),  
2 amostras de 4 ml

**12:00 hs** – almoço

**13:00 hs** – coleta da última porção de urina  
2ª coleta de 8 ml de sangue\*, **liberação dos participantes**

**14:00 – 15:00 hs** – responsável levou o material para o IBIMED

- \*A técnica de laboratório se dirigiu ao ambulatório para as duas coletas de sangue. Após a primeira coleta as amostras foram centrifugadas e os soros refrigerados, assim como após a segunda coleta e então congelados.
- O recipiente para a coleta de fezes foi dado no momento do convite para a pesquisa ou no dia da pesquisa.

## APÊNDICE C

### AMOSTRAGEM

<b>Autor Local</b>	<b>Parâmetro</b>	<b>Confiança</b>	<b>Poder</b>	<b>Emparelhamento</b>	<b>Exposição Controles<sup>††</sup></b>	<b>Exposição Casos</b>	<b>Amostra</b>
<b>Tappero* Botswana</b>	Biodisponibilidade <sup>†</sup>	95%	80%	1:1	3%	30%	<b>35:35</b>
<b>Pinheiro** Ceará</b>	Biodisponibilidade <sup>†</sup>	95%	80%	1:1	3%	44%	<b>20:20</b>
<b>Pinheiro** Ceará</b>	Biodisponibilidade <sup>†</sup>	95%	80%	1:1	3%	70%	<b>10:10</b>

\*Tappero *et al.*, Clin Infect Dis, 41:461-9, 2005.

\*\*Pinheiro *et al.*, Braz J Infect Dis

<sup>†</sup>Rifampicina e Isoniazida

<sup>††</sup>Peloquin *et al.*, N Engl J Med 329:1122-1123, 1993.



## APÊNDICE D

Comparação dos grupos entre si para as variáveis em que houve diferença significativa nos voluntários (com avaliação apenas da absorção intestinal) com tuberculose multirresistente (TBMR, n=41), tuberculose sensível (TBS, n=33) e sadios (n=41), Ceará, 2006-2007.

VARIÁVEIS	TBMR	p <sup>1</sup>	TBS	p <sup>2</sup>	SADIOS	p <sup>3</sup>
<b>Sem escolaridade</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Renda familiar</b> (salários mínimos)		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Tabagismo</b> (anos maço)		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Alcoolismo</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Uso de drogas ilícitas</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		>0,05 <sup>4</sup>
<b>IMC<sup>8</sup></b> (peso (kg)/altura <sup>2</sup> (m <sup>2</sup> ))		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Proteínas totais</b> (g/dl)		0,1794 <sup>6</sup>		<b>0,0052<sup>6</sup></b>		0,3664 <sup>6</sup>
<b>Albumina</b> (g/dl)		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Leucócitos</b> (p/mm <sup>3</sup> )		0,9975 <sup>6</sup>		<b>0,0028<sup>6</sup></b>		<b>0,0004<sup>6</sup></b>
<b>Linfócitos</b> (%)		0,1082 <sup>7</sup>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>
<b>Hemoglobina</b> (g)		0,3297 <sup>7</sup>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>
<b>% de manitol<sup>9</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>
<b>% de lactulose<sup>10</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>

<sup>1</sup>TBMR versus TBS, <sup>2</sup>TBS versus sadios, <sup>3</sup>TBMR versus sadios, <sup>4</sup>Odds Ratio,

<sup>5</sup>Teste de sub-hipótese de Kruskal Wallis, <sup>6</sup>Teste de sub-hipótese de Tamhane, <sup>7</sup>Teste de Tuckey,

<sup>8</sup>Índice de massa corporal, <sup>9</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>10</sup>Percentual de excreção urinária.

## APÊNDICE E

Comparação dos grupos dois a dois para as variáveis em que houve diferença significativa nos voluntários (com avaliação da absorção intestinal e dosagens séricas de rifampicina e isoniazida) com tuberculose multirresistente (TBMR, n=32), tuberculose sensível (TBS, n=28) e sadios (n=30), Ceará, 2006-2007.

VARIÁVEIS	TBMR	p <sup>1</sup>	TBS	p <sup>2</sup>	SADIOS	p <sup>3</sup>
<b>Sem escolaridade</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Renda familiar</b> (salários mínimos)		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Tabagismo</b> (anos maço)		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Alcoolismo</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Uso de drogas ilícitas</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		>0,05 <sup>4</sup>
<b>IMC<sup>8</sup></b> (peso (kg)/altura <sup>2</sup> (m <sup>2</sup> ))		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,01<sup>5</sup></b>
<b>Proteínas totais</b> (g/dl)		0,3466 <sup>5</sup>		<b>0,0467<sup>5</sup></b>		0,4895 <sup>5</sup>
<b>Albumina</b> (g/dl)		>0,05 <sup>6</sup>		<b>&lt;0,05<sup>6</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>6</sup></b>
<b>Leucócitos</b> (p/mm <sup>3</sup> )		0,8118 <sup>7</sup>		<b>0,0041<sup>7</sup></b>		<b>0,0014<sup>7</sup></b>
<b>Linfócitos</b> (%)		<b>0,0379<sup>7</sup></b>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>		<b>&lt;0,0002<sup>7</sup></b>
<b>Hemoglobina</b> (g)		0,4046 <sup>6</sup>		<b>0,0011<sup>6</sup></b>		<b>0,0024<sup>6</sup></b>
<b>% de manitol<sup>9</sup></b>		0,1702 <sup>7</sup>		0,2517 <sup>7</sup>		<b>0,0109<sup>7</sup></b>
<b>% de lactulose<sup>10</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>
<b>Dose RMP<sup>11</sup>/kilo de peso atual</b>		0,4186 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,0001<sup>5</sup></b>		<b>0,0003<sup>5</sup></b>
<b>Dose INH<sup>12</sup>/kilo de peso atual</b>		0,4186 <sup>7</sup>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>		<b>0,0003<sup>7</sup></b>
<b>CR2<sup>13</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>
<b>CR6<sup>14</sup></b>		<b>0,0001<sup>7</sup></b>		<b>&lt;0,0001<sup>7</sup></b>		<b>0,0003<sup>7</sup></b>
<b>CRX<sup>15</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,001<sup>5</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>
<b>CH2<sup>16</sup></b>		0,3298 <sup>6</sup>		0,1526 <sup>6</sup>		<b>0,0147<sup>6</sup></b>
<b>CH6<sup>17</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>		>0,05 <sup>5</sup>		<b>&lt;0,05<sup>5</sup></b>
<b>CHX<sup>18</sup></b>		>0,05 <sup>7</sup>		>0,05 <sup>7</sup>		<b>&lt;0,01<sup>7</sup></b>
<b>Percentual de CRX<sup>15</sup> &lt; 8 µg/mL</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Percentual de CRX<sup>19</sup> &lt; 8 µg/mL</b>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>
<b>Percentual de CRX<sup>15</sup> &lt; 4 µg/mL</b>		<b>0,0191<sup>20</sup></b>		<b>&lt;0,0001<sup>20</sup></b>		<b>0,0327<sup>20</sup></b>
<b>Percentual de CHX<sup>18</sup> &lt; 3 µg/mL</b>		>0,05 <sup>4</sup>		>0,05 <sup>4</sup>		<b>&lt;0,05<sup>4</sup></b>

<sup>1</sup>TBMR versus TBS, <sup>2</sup>TBS versus sadios, <sup>3</sup>TBMR versus sadios, <sup>4</sup>Odds Ratio, <sup>5</sup>Teste de sub-hipótese de Kruskal Wallis, <sup>6</sup>Teste de sub-hipóteses independentes pelos Mínimos Quadrados, <sup>7</sup>Teste de sub-hipótese de Tamhane, <sup>8</sup>Índice de massa corporal, <sup>9</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>10</sup>Percentual de excreção urinária, <sup>11</sup>Rifampicina, <sup>12</sup>Isoniazida, <sup>13</sup>Concentração de RMP duas hs após a ingestão, <sup>14</sup>Concentração de RMP seis hs após a ingestão, <sup>15</sup>Concentração máxima de RMP, <sup>16</sup>Concentração de INH duas hs após a ingestão, <sup>17</sup>Concentração de INH seis hs após a ingestão, <sup>18</sup>Concentração máxima de INH, <sup>19</sup>CRX após ajuste dos níveis sanguíneos nos grupos com TBMR e sadios, <sup>20</sup>Fisher Exact test.

## Intestinal Permeability and Malabsorption of Rifampin and Isoniazid in Active Pulmonary Tuberculosis

Valéria G. F. Pinheiro<sup>1</sup>, Lysiane M. A. Ramos<sup>1</sup>,  
Helena S. A. Monteiro<sup>1</sup>, Elizabeth C. Barroso<sup>1</sup>,  
Oluma Y. Bushen<sup>2</sup>, Mônica C. Façanha<sup>1</sup>,  
Charles A. Peloquin<sup>2</sup>, Richard L. Guerrant<sup>1,2</sup>  
and Aldo A. M. Lima<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine/Center for Global Health, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil; <sup>2</sup>Infectious Disease Pharmacokinetics Laboratory of the National Jewish Medical and Research Center-Denver USA; <sup>3</sup>Center for Global Health, Division of Infectious Diseases and International Health, University of Virginia, Charlottesville, VA

Low antimycobacterial drug concentrations have been observed in tuberculosis (TB) patients under treatment. The lactulose/mannitol urinary excretion test (L/M), normally used to measure intestinal permeability, may be useful to assess drug absorption. The objective of this research was to study intestinal absorptive function and bioavailability of rifampin and isoniazid in TB patients. A cross sectional study was done with 41 patients and 28 healthy controls, using the L/M test. The bioavailabilities of rifampin (R) and isoniazid (H) were evaluated in 18 patients receiving full doses. Urinary excretion of mannitol and lactulose, measured by HPLC, was significantly lower in TB patients. The serum concentrations of the drugs were below the expected range for R (8-24 mcg/mL) or H (3-6 mcg/mL) in 16/18 patients. Analyzing the drugs individually, 12/18 patients had low serum concentrations of R, 13/18 for H and 8/18 for both drugs. We suggest that there is a decrease in the functional absorptive area of the intestine in TB patients, which would explain the reduced serum concentrations of antituberculosis drugs. There is a need for new approaches to improve drug bioavailability in TB patients.

**Key Words:** Pulmonary tuberculosis, intestinal permeability, rifampin and isoniazid intestinal malabsorption; *M. tuberculosis* resistance.

Concentrations of antimycobacterial drugs that are below those normally expected during tuberculosis (TB) therapy may predispose for the appearance of resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* [1,2]. Among the reasons often given for low antimycobacterial drug concentrations are inadequate dosing and irregular drug intake. However, other factors may compromise the bioavailability of anti-TB drugs [3-6], including malabsorption due to intestinal function impairment.

Under normal conditions, rifampin (R) and isoniazid (H) are usually well absorbed when administered orally. The usual doses of 600 mg (R) and 400 mg (H), taken fasting, will reach the maximum serum concentrations (C<sub>max</sub>) of 8 to 24 mcg/mL and 3 to 6 mcg/mL, respectively, within two hours [5,7,8]. However, intestinal absorption of these drugs can take longer, up to five hours, or be incomplete when they are consumed with food or antacids [9-11].

Nevertheless, the determining factor for drug absorption is the absorptive capacity of the intestinal mucosa, which

may be altered in several clinical situations [12-14]. HIV-infected TB patients may have low serum concentrations of antiretroviral drugs [15] and also may have alterations in the pharmacokinetic profile of anti-TB drugs [16-19]. Among the drugs commonly used for TB treatment, rifampin (R) and ethambutol (E) appear to be the ones with the greatest reduction in intestinal absorption by the HIV+/TB patient. In HIV+/TB patients with diarrhea, isoniazid (H) absorption is notably reduced, while the absorption of pyrazinamide (Z) does not appear to be as severely affected [20].

Several authors [1,8,21-24] suggest that malabsorption of anti-tuberculosis drugs occurs in 2% to 5% of patients, despite a lack of evidence. Intestinal malabsorption should be considered as a possible reason for failure or relapse in patients who adhere to appropriate treatment and drug intake.

Pharmacokinetic studies of drug absorption are scarce [25], especially in patients with TB. Using the D-xylose absorption test as a method to evaluate intestinal permeability, Choudhri et al. [20] showed that intestinal absorption was directly correlated with rifampin and isoniazid bioavailability in TB patients. Gurumurthy et al. [26] found that urinary excretion of D-xylose after oral administration correlated with reductions in urinary excretion of rifampin and isoniazid as well as their respective metabolites, desacetyl rifampin and acetyl isoniazid in patients with HIV infection plus diarrhea and in those with HIV infection plus TB.

The differential urinary excretion of ingested lactulose and mannitol (L/M test), as functional markers of barrier disruption and the overall intestinal villous surface, respectively, has

Received on 16 July 2006; revised 13 November 2006.

Address for correspondence: Dr. Aldo A. M. Lima, M.D., Ph.D. or Valéria G. F. Pinheiro M.D., Ph.D. Rua Cel. Nunes de Melo, nº 1315, C.P. 3229, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, CE, Brazil. Zip code: 60.430-270. Phone: 55 (85) 4009-8445; Fax: 55 (85) 4009-8445.

E-mail: alima@baydenet.com.br; valeria.goes@terra.com.br

The Brazilian Journal of Infectious Diseases 2006;10(6):374-379.  
© 2006 by The Brazilian Journal of Infectious Diseases and Contexto Publishing. All rights reserved.

been widely used to measure paracellular intestinal permeability and absorptive surface [27-29]. Some studies using the L/M test showed impaired intestinal permeability and absorption in HIV-infected patients with chronic diarrhea treated in the São José Hospital, Fortaleza, CE, Brazil [30].

We looked for possible correlations of intestinal permeability, based on the L/M test, of serum concentrations of rifampin and isoniazid in HIV-seronegative patients with pulmonary TB

## Material and Methods

### Study design and population

The study was carried out in compliance with the Helsinki Declaration (1965) and was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Ceará (UFC). This study was conducted from July 2001 to December 2002 at the Maracanã Hospital, the state reference hospital for TB in Ceará, Brazil. The participants consisted of 41 HIV-seronegative patients with active pulmonary TB. They were required to meet the following criteria: positive direct microscopy for acid-fast bacteria in at least one sputum sample and antituberculosis drug intake for at least two months; age over 15 years; no significant hepatic or renal dysfunction (i.e., liver enzymes, blood urea, and serum creatinine levels within normal limits); not being diabetic, and no gastrointestinal disease or any medical illness that might interfere with drug pharmacokinetics. Pregnant and HIV-seropositive patients were excluded. All participants gave informed written consent.

In addition, a control group of 28 healthy individuals living in the same area and with matching ages were recruited for intestinal permeability tests. Eighteen patients taking a full dose of R+H+Z (scheme I) were selected for 600 mg rifampin and 400 mg isoniazid dose intake (NUPLAN, Natal, Brazil) under fasting conditions and direct observation in order to assess rifampin and isoniazid bioavailability.

The WHO reference values [31] of the body mass indices (BMI) were used to make nutritional status assessment of all participants.

### Determination of intestinal permeability

To carry out the L/M test, the patients were instructed to empty their bladders before taking a 20 mL oral dose of a 250 mg/mL lactulose and 50 mg/mL mannitol solution (L/M test) (LABIOTEC/IBIMED, Fortaleza, Brazil). Urine excreted up to 5h after L/M test intake was obtained; the volume was measured, and 5 mL aliquots were stored at -80°C. The sugars in the urine were detected and quantified by high-pressure liquid chromatography with anionic exchange coupled with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD) [28]. Patients were free to have breakfast one hour after drug and test-solution intake. The healthy volunteers followed the same clinical protocol for L/M permeability testing used for comparison with study patients.

### Determination of serum concentrations of rifampin and isoniazid

An 8 mL blood sample was obtained from the 18 patients to determine the maximum serum drug concentrations ( $C_{Max}$ ,  $T_{2b}$ ). Samples were collected in heparinized tubes two hours after the R and H medications were taken. Drug concentrations were assayed using an HPLC at the Infectious Disease Pharmacokinetics Laboratory (IDPL) at National Jewish Research Medical Center (NJRMC), Denver CO. Based on pharmacokinetic studies, serum concentrations at 2h post dose of rifampin at 8-24 mcg/mL and isoniazid at 3-6 mcg/mL were considered "normal" [2]. The quality of expected measurable anti-tuberculosis drugs (R and H) used in this study was assayed at the IDPL by thin-layer chromatography.

### Sample size calculation

The lactulose/mannitol ratio was selected as the primary outcome variable. Based on data from previous studies in Fortaleza [30], we expected that the patient group would have a 30% reduction in the lactulose/mannitol ratio, compared to healthy controls. Using a power of 80% and a two-sided significance level of 5%, a sample size of 23 for each group was considered adequate to detect a difference in the L/M ratio between groups. We assumed a possible loss of 10% and thus estimated at least 26 subjects in each group.

### Statistical analysis

The data were double-taped and validated by cross-checking using Excel software version 7.0 (Microsoft Corporation, Redmond, WA). Analysis of data was performed using Statistical Package for Social Sciences software version 11.5 (SPSS, Chicago, IL). The Mann-Whitney test was used to compare the intestinal permeability test results between the groups (TB *versus* control). Differences were considered significant if  $P < 0.05$ .

## Results

Thirty patients were male and 11 female, with an average age of 42.8 years (range: 15 to 76 years). Thirty-two patients were in the tisiology ward of Maracanã Hospital; the other nine were outpatients in treatment at the tisiology unit during the same period. Controls included 15 men and 13 women, with average age 34.5 (range: 16 to 79 years).

The mean weight  $\pm$  sd for TB patients was  $47.5 \pm 10.5$  kg; the mean height was  $1.60 \pm 0.08$  meters and the mean BMI =  $18.2 \pm 3.2$  kg/m<sup>2</sup>. Twenty-four of the 41 patients were considered malnourished (BMI < 18.5 kg/m<sup>2</sup>); nine of these were considered severely malnourished (BMI < 16 kg/m<sup>2</sup>); and 17 were considered well nourished. The group of pulmonary TB patients had significantly lower body weights, heights and BMI than the healthy controls (Table 1).

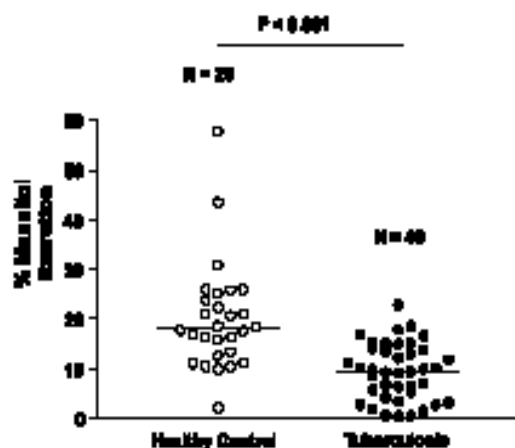
The lactulose/mannitol test was well tolerated; one patient failed to provide urine over the 5h collection period and

Table 1. Weight, height and body mass index of individuals submitted to an evaluation of intestinal permeability with the mannitol/lactulose test

Variable	Healthy controls (n=28)	Patients with active pulmonary tuberculosis (n=41)	P values <sup>†</sup>
Weight (kg; mean $\pm$ SD)	67.3 $\pm$ 13.4	47.5 $\pm$ 10.5	<0.001
Height (m; mean $\pm$ SD)	1.66 $\pm$ 0.10	1.60 $\pm$ 0.08	<0.006
BMI* (kg/m <sup>2</sup> ; mean $\pm$ SD)	24.1 $\pm$ 3.9	18.2 $\pm$ 3.2	<0.001

<sup>†</sup>Comparison of patients with active pulmonary tuberculosis versus healthy controls by independent Student *t* test. \* BMI = Body Mass Index.

Figure 1. Scatter data and median of the percentage of urinary excretion of mannitol in healthy controls and in patients with active pulmonary tuberculosis. The Mann-Whitney test was used to compare controls versus patients with tuberculosis ( $P < 0.001$ ). The data suggest a significant decrease in absorption area in patients with pulmonary tuberculosis.



lactulose was not detected in 18 urine specimens of the patients. The urinary excretion of mannitol, lactulose and the lactulose/mannitol ratio are shown in Table 2.

The percentage of urinary excretion of mannitol was significantly lower ( $P < 0.001$ ) in patients (median /range = 9.66/0.52-22.91) than in the controls (median /range = 18.14/2.15-57.73) (Figure 1). Excretion of lactulose was also significantly lower in patients ( $P < 0.05$ ) (median /range = 0.04 /0.0-8.56) than in controls (median /range = 0.39 /0.6-2.09), and the L/M ratio was slightly, but not significantly, lower in patients when compared with controls (Table 2).

The rifampin and isoniazid used in the study were considered pharmaceutically equivalent to rifampin and isoniazid USP. The median/range rifampin concentrations were 6.47/0-31.95 mcg/mL), and the median/range isoniazid concentrations were 2.17/0.8-3.77 mcg/mL). Considering the expected "normal" concentrations of R (8-24 mcg/mL) and H (3-6 mcg/mL), 16/18 patients had low concentrations of one or both drugs, 12/18 patients had low serum concentrations of rifampin (CRM2h) and 13/18 had low isoniazid (CINH2h) levels (Figures 2A and B). In eight of the patients, both drug concentrations were low.

## Discussion

Alterations in intestinal permeability, allowing the passage of macromolecules in cases of bronchial asthma, atopic eczema and sarcoidosis, among others, have been increasingly recognized [32,33]. In pulmonary tuberculosis, little is known about the role of intestinal permeability in drug absorption.

At present, there is no gold standard among the investigation methods for intestinal permeability, which hampers the comparison of published results; hence inclusion of control groups remains important for the interpretation of alterations in intestinal permeability in different situations.

Some factors that influence intestinal absorption can be excluded in our study, such alterations in the osmolarity of the test solution, since it was prepared strictly under the same conditions, and gastrointestinal diseases that alter peristaltic speed, since these diseases were included as exclusion criteria. The groups were matched by age, although gender and age do not normally alter absorptive function.

In our study, using the lactulose/mannitol test, intestinal permeability in patients with pulmonary tuberculosis was clearly abnormal. Significant reductions in urinary excretion of mannitol and lactulose were observed in TB patients, when compared to controls. The L/M ratio, although decreased in the patients, did not vary significantly between groups.

Among the patients, a high percentage of L/M tests was found in which lactulose was undetectable, but not in the controls, which we also found in a previous study [30]. There is no clear explanation for these results. In order to look for differences among patients regarding measurable lactulose, the two groups of patients were compared: group A (lactulose = 0) and B (lactulose > 0) for anthropometric data, inflammatory markers and the presence of intestinal parasites. None of the parameters showed differed significantly between the groups ( $P > 0.05$ ), so we considered the result of undetectable levels of lactulose.

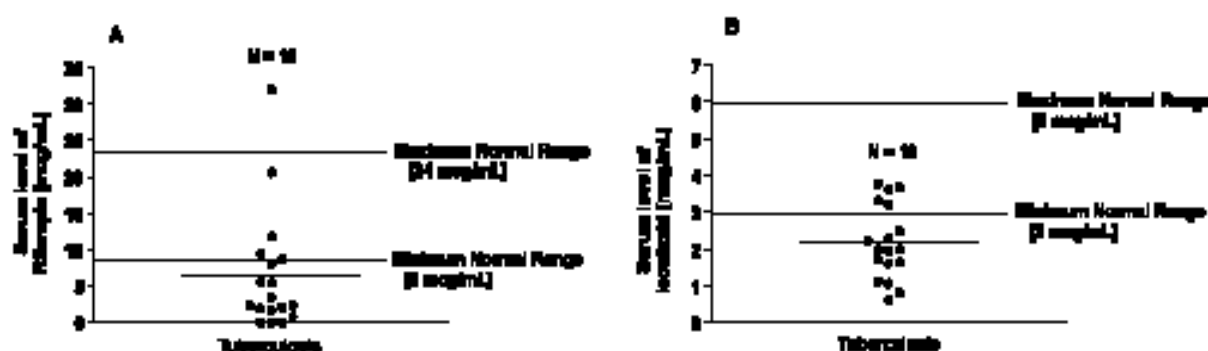
It is known that the intestinal absorption routes of these two sugars are different; lactulose has paracellular absorption through the more permeable intercellular tight junctions, and mannitol has transcellular absorption, possibly through the enterocytes [27]. If the urinary excretion rate of mannitol is low, the absorption of small molecules may be compromised and a reduction in the area of absorptive mucosa can be inferred. If the rate of lactulose

Table 2. Descriptive amounts of the urinary excretion of mannitol, lactulose and the lactulose / mannitol ratio in patients with active pulmonary tuberculosis and in healthy controls

Intestinal permeability parameters	Controls Median (Range)	Patients with tuberculosis Median (Range)	P value
% Mannitol*	18.14 (2.15-57.73)	9.66 (0.52-22.91)	<0.001
% Lactulose**	0.39 (0.6-2.09)	0.04 (0.0-8.56)	<0.05
Lactulose/Mannitol ratio**	0.02 (0.1-0.07)	0.01 (0.0-0.51)	NS

Mann-Whitney Test; NS means not significant ( $P > 0.05$ ). \*Percentage of urinary excretion of mannitol (patients  $n = 40$ ; controls  $n = 28$ ). \*\*Percentage of lactulose urinary excretion (patients  $n = 40$ ; controls  $n = 28$ ). \*\*\*Ratio of the urinary excretion of lactulose:mannitol (patients  $n = 40$ ; controls  $n = 28$ ).

Figure 2. Distribution of the serum levels after two hours of ingestion of 600 mg rifampin (CRM2h) (A) and 400 mg isoniazid (CINH2h) (B) in 18 patients with active pulmonary tuberculosis in Maracanaú Hospital July 2001 – December 2002.



excretion is high, this indicates an increase in intestinal permeability to large molecules, which may be due to a disruption of the selective intestinal barrier regulated by the zonula occludens (tight junctions) between enterocytes. In contrast, if lactulose excretion is low without cell damage, this condition could reflect a decrease in conductance throughout the tight junctions. This may have occurred in the TB patients in our study. Recently, an increasing number of cytokines have been shown to influence tight junction function, both *in vitro* and *in vivo*. Cytokine-induced effects on tight junction barrier function have also been correlated with effects on intrinsic tight junction proteins and on the associated actin cytoskeleton [34]. Reduced mannitol excretions, along with reduced lactulose excretion, could explain why the lactulose/mannitol ratio was not significantly different between TB patients and healthy controls in our study.

The findings suggest that the intestinal absorptive area was reduced in the TB patients. These results are consistent with prior accounts of intestinal malabsorption in tuberculosis patients [1,26,35].

It could be questioned whether a single sample collected two hours after the ingestion of the drugs can provide a measure of the  $C_{max}$ . In fact, studies have shown that  $T_{max}$  for both rifampin and isoniazid occurs around two hours post dose [2,21], although  $C_{max}$  may peak before or after this period, particularly in patients with altered patterns of intestinal

absorption. So, the two-hour dosing measure could detect altered drug absorption but would be inadequate to distinguish between delayed absorption and malabsorption [11].

Another issue to be discussed is the influence of residual concentrations of drugs in TB patients under treatment. Peloquin's studies [2] showed that even with daily doses, seven half-lives occur between doses, so that more than 99% of the drug is eliminated during 24 hours, except in the case of patients with hepatic disease.

Mehta et al. [23] state that patients with pulmonary tuberculosis are frequently malnourished and have hypoalbuminemia. The decreased plasma proteins could reduce plasma protein binding of drugs, consequently making more drugs available for clearance. Although isoniazid is not highly protein bound, rifampin is approximately 85% protein bound, and might be somewhat affected by this alteration. In our study observed 43% of the patients had  $< 3.5$  g/dL serum albumin. However, this is insufficient to explain the reductions in drug concentrations.

In summary, we found a significant decrease in the urinary excretion of mannitol and lactulose in TB patients, when compared to controls, and we found reduced serum concentrations of rifampin and isoniazid in these patients. A significant correlation between the serum concentrations of drugs with mannitol, lactulose or lactulose/mannitol ratios was not found, probably due to the small number of patients

in each category. In conclusion, the findings of impaired absorptive function and reduced concentrations of antituberculosis drugs point to a need for further study of the underlying mechanisms, their impact on resistance, and potential therapeutic approaches to improve intestinal function and drug absorption in patients with tuberculosis, especially in areas where drug resistant tuberculosis is an emerging problem.

#### Acknowledgements

We thank Manoel S. Barboza and Domingos B. Oliveira from the Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine/ Center for Global Health, Federal University of Ceará-Brazil, who helped with lactulose:mannitol test manufacture and measurements, and Rosa Marcia Salani Mota for statistical analysis. This work was in part supported by the Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine, Howard Hughes Medical Institute Grant # 75301564801 and the Brazilian National Research Council (CNPq).

#### References

- Peloquin C.A., Macphée A.A., Berning S.E. Malabsorption of antimycobacterial medications [Letter]. *N Engl J Med* 1993;329:1122-3.
- Peloquin C.A. Therapeutic Drug Monitoring in the Treatment of Tuberculosis. *Drugs* 2002;62:2169-83.
- Fox W. Drug combinations and bioavailability of rifampin. *Tubercle* 1990a;71: 241-5.
- Pelizza G, Nebuloni M., Ferrari P., Gallo G.G. Polymorphism of rifampin. *Il Farmaco (Edizione Scientifica)* 1977;32:471-81.
- Buniva G, Pagani V., Carozzi A. Bioavailability of rifampin capsules. *Int J Pharmacol Therapy Toxicol* 1983;21:404-9.
- Aspesi F. Dissolution testing. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis* 1989;64:37-8.
- Acocella G., Nonis A., Gialdaroni-Grassi C., Grassi C. Comparative bioavailability of isoniazid, rifampin and pyrazinamide administered in free combination and in a fixed triple formulation designed for daily use in antituberculosis chemotherapy. I. Single dose study. *Am Rev Res Dis* 1988a;138:882-5.
- Kimerling M., Phillips P., Patterson P., et al. Low serum antimycobacterial drug levels in non-HIV-infected tuberculosis patients. *Chest* 1998;113(5):1178-83.
- Hurwitz A.E., Schlozman D.L. Effects of antacids on gastrointestinal absorption of isoniazid in rats and man. *Am Rev Respir Dis* 1974;109:41-7.
- Zent C., Smith P. Study of the effect of concomitant food on bioavailability of rifampin, isoniazid and pyrazinamide. *Tubercle Lung Dis* 1995;76:109-13.
- Peloquin C.A., Berning S.E., Huit G.A., Iseman M.D. Aids and TB drug absorption. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3; 12: 1143- 7.
- Hirsch S., Chaves G, Gotteland M., et al. Intestinal permeability in alcoholic patients without liver damage. *Rev Med Chil* 1997;125;6:653-8.
- Polosa K., Murphy K.J.R., Krishnaswamy K. Rifampin kinetics in undernutrition. *Br J Clin Pharmacol* 1984;17:481-4.
- Dieterlen P., Cassereau H., Lestradet H. Permanent malabsorption of rifampin in a diabetic with coeliac disease. *Arch Fr Pediatr* 1986;43:421-2.
- Lopez-Cortes L.F., Ruiz-Valderas R., Viciano P., et al. Pharmacokinetic interactions between efavirenz and rifampicin in HIV-infected patients with tuberculosis. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(9):681-90.
- Berning S.E., Huit G.A., Iseman M.D., Peloquin C.A. Malabsorption of antituberculosis medications by a patient with AIDS. *N Engl J Med* 1992;327:1817-8.
- Peloquin C.A., Nitta A.T., Buran W.J., et al. Low antituberculosis drug concentrations in patients with AIDS. *Ann Pharmacother* 1996;30:919- 23.
- Sahai J., Gallicano K., Swick L., et al. Reduced plasma concentrations of antituberculosis drugs in patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 1997;127:289-93.
- Perlman D.C., Segal Y., Rosenkranz S., et al. The clinical pharmacokinetics of rifampin and ethambutol in HIV-infected persons with tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;Dec 1;41(11):1638-47.
- Choudhri S.H., Hawken M., Gathua S., et al. Pharmacokinetics of antimycobacterial drugs in patients with tuberculosis, AIDS and diarrhea. *Clin Infect Dis* 1997;25:104-11.
- Tappero J.W., Bradford W.Z., Agerton T.B., et al. Serum concentrations of antimycobacterial drugs in patients with pulmonary tuberculosis in Botswana. *Clin Infect Dis* 2005;Aug 15;41:461-9.
- Turner M., McGowan C., Nardell E. Serum drugs levels in tuberculosis patients (abstracts). *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149a:527.
- Mehta J.B., Shantaveerapa H., Byrd J.R.P., et al. TM. Utility of rifampin blood levels in the treatment and follow-up of active pulmonary tuberculosis in patients who were slow to respond to routine directly observed therapy. *Chest* 2001;120:1520-4.
- Morehead R.S. Delayed death from pulmonary tuberculosis: Unsuspected subtherapeutic drug levels. *South Med J* 2000;93:507-10.
- Chiou W.L. The validation of the intestinal permeability approach to predict oral fraction of dose absorbed in humans and rats. *Biopharm Drug Dispos* 1995;16;1:71-5.
- Gurumurthy P., Ramachandran G., Hemanth Kumar A.K., et al. Malabsorption of rifampin and isoniazid in HIV-infected patients with and without tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2004;38 jan 15:280-3.
- Bao Y., Silva T.M.J., Guerrant R.L., et al. Direct analyses of mannitol, lactulose and glucose in urine samples by high-performance anion-exchange chromatography with pulse amperometric detection. *Journal of Chromatography Biomedical Applications* 1996;685:105-12.
- Barboza Jr. M.S., Silva T.M.J., Guerrant R.L., Lima A.A.M. Measurement of intestinal permeability using mannitol and lactulose in children with diarrheal diseases. *Braz J Med Biol Res* 1999;32;12:1499-1504.
- Wekker K., Martin A., Kolle P., Siebeck M., Gross M. Increased intestinal permeability in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Med Res* 2004;Oct 29;9(10):456-60.

30. Lima A.A.M., Silva T.M.J., Gifoni A.M., et al. Mucosal injury and disruption of intestinal barrier function in HIV-infected individuals with and without diarrhea and Cryptosporidiosis in Northeast Brazil. *Am J Gastroenterology* 1997;92(10):1861-6.
31. WHO. Expert committee on physical status: the use and interpretation of anthropometry. (WHO Technical Report Series, 854) Geneva, 1995. 451p.
32. Hijazi Z., Molla A.M., Al-Habashi H., et al. Intestinal permeability is increased in bronchial asthma. *Arch Dis Child* 2004;89(3):227-9.
33. Wallaert B., Colomel J.F., Adenis A., et al. Increased intestinal permeability in active pulmonary sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1992;Jun 145(6):1440-5.
34. Walsh S.V., Hopkins A.M., Nusrat A. Modulation of tight junction structure and function by cytokines. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;Jun 30;41(3):303-13.
35. Barakat M.T., Scott J., Hughes J.M., et al. Grand rounds-Hassersmith Hospital. Persistent fever in pulmonary tuberculosis (clinical conference). *BMJ* 1996;313:1543-5.



**Intestinal Barrier Function and Serum Concentrations of Rifampin, Isoniazid and Pyrazinamide in Patients with Pulmonary Tuberculosis in Fortaleza-CE, Brazil**

**Mônica C. Façanha<sup>1</sup>, Argina M. B. Gondim<sup>2</sup>, Valéria G. F. Pinheiro<sup>1</sup>, Elizabeth C. Barroso<sup>1</sup>, Charles A. Peloquin<sup>3</sup>, Richard L. Guerrant<sup>1,4</sup>, Aldo A. M. Lima<sup>1,4</sup>**

<sup>1</sup> Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine / Center for Global Health, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

<sup>2</sup> Health Center Carlos Ribeiro, Secretary of Health, Fortaleza, Ceará, Brazil.

<sup>3</sup> Infectious Disease Pharmacokinetics Laboratory, National Jewish Medical and Research Center, Denver, CO, USA.

<sup>4</sup> Center for Global Health, Division of Infectious Diseases and International Health, University of Virginia, Charlottesville, VA.

**Short running title:** Absorption and Bioavailability of Antimycobacterial Drugs

**Correspondence to:**

Aldo A. M. Lima, M.D., Ph.D.

Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine ([www.upcibimed.ufc.br](http://www.upcibimed.ufc.br)) / Center for Global Health, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

R. Cel. Nunes de Melo, No. 1315. Rodolfo Teófilo. CEP 60.430-270.

Fortaleza, Ceará, Brasil. Phone/Fax: 55 (85) 3366 8445; E-mail: [alima@ufc.br](mailto:alima@ufc.br).



## 26 Introduction

27

28 Tuberculosis continues to be an important public health problem, especially in  
29 developing countries where it is associated with poverty, hunger, overcrowding, and  
30 inadequate public health systems (32). The incidence and mortality rates of  
31 tuberculosis worldwide (2004) are 140 and 27 per 100,000 inhabitants, respectively  
32 (32). In Brazil (2005), the incidence and mortality rates for tuberculosis are 60 and  
33 8.1 per 100,000 inhabitants (5). In Fortaleza (2003), the capital city of Ceará state,  
34 Northeastern Brazil, the incidence is 91 and mortality 5.6 per 100,000 inhabitants  
35 (11). In contrast, in a developed country like United States of America (2005), the  
36 incidence and mortality rates are much lower, 5 and <1 per 100,000 inhabitants,  
37 respectively (32). Despite the marked decrease in the incidence rate for developed  
38 countries compared to less developed countries, there is a proportionally smaller  
39 reduction in mortality rates. This is explained mostly by the high rate of cure using the  
40 available antimycobacterial drugs for the combination treatment of tuberculosis  
41 around the world. When *Mycobacterium tuberculosis* shows resistance to first line  
42 antimycobacterial drugs, it becomes a significant problem, because the second-line  
43 drugs produce lower cure rates for this disease. In addition, second line combination  
44 drugs will prolong treatment duration, increase adverse events, reduce adherence  
45 and increase cost per treatment (25).

46 The worldwide prevalence of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) from  
47 1999 to 2002 is estimated at 1.7% for general patients, 1.1% in new cases and 7%  
48 for previously treated cases (10). While these prevalence rates are low, the  
49 prevalence rate of MDR-TB is rapidly increasing worldwide (28). In addition, there is  
50 now a more aggressive disease caused by isolates with extended resistance (XDR)

51 to rifampin, isoniazid and other antimycobacterial drugs including fluoroquinolones  
52 and aminoglycosides (28). In the state of Ceará, Brazil, the prevalence rate of MDR-  
53 TB increased from 0.82% in 1994 to 1.48% in 1999 (3) and it continues to rise.

54         There are a few studies suggesting that reduced antimycobacterial drug  
55 absorption and bioavailability can delay or reduce the cure rate for tuberculosis and  
56 enhance the emergence of drug resistance (18,20,27,30). Several studies to date  
57 have shown low serum concentrations of antimycobacterial drugs in HIV/AIDS  
58 patients (4,12,13,23,29,30), but only a few on tuberculosis patients without HIV  
59 (27,30). Since the standard dose of an antimycobacterial drug is mostly based on  
60 trials in healthy volunteers, we postulate that this dose will not be suitable to all  
61 individuals, including patients and healthy volunteers from different racial and genetic  
62 backgrounds.

63         Only a few studies, including one from our research group, have attempted to  
64 evaluate intestinal barrier function, and absorption and serum concentrations of  
65 antimycobacterial drugs (8,12,27), and none to date have evaluated healthy controls  
66 compared to patients with tuberculosis, but without concomitant HIV infection. The  
67 present study evaluates intestinal barrier function and serum concentrations of  
68 rifampin, isoniazid and pyrazinamide in healthy volunteers and outpatients with active  
69 pulmonary tuberculosis.

## 70 **Materials and Methods**

71

72 **Ethical approval.** The study protocol was approved (25Mar04) by the local Human  
73 Research Ethic Committee of the Federal University of Ceará and complied with the  
74 Declaration of Helsinki (1965). The local ethical committee is regulated by National  
75 resolution numbers 196/96, 251/97 and 292/99 from the Agência Nacional de  
76 Vigilância Sanitária, Brasília, DF, Brazil. The approved consent form was read and  
77 signed by each individual before study enrollment.

78

79 **Study design, population and geographic area.** This case-control study was  
80 conducted between July 2004 and December 2005. Thirty outpatients with active  
81 pulmonary tuberculosis (cases) attending the Health Center Carlos Ribeiro were  
82 matched by sex and date of birth with twenty nine healthy volunteers (controls). The  
83 Health Center is located in an urban area of Fortaleza, estimated population of  
84 approximately 2.4 million (2005), capital of the state of Ceará in the Northeast of  
85 Brazil. The Health Center treated 143, 114 and 105 new cases of tuberculosis per  
86 year from 2003-2004. The prevalence of HIV in the population with tuberculosis was  
87 very low (0.44%) as previously reported (6).

88 The following inclusion criteria were used for cases: (a) be a resident of Fortaleza  
89 and enrolled in the directly observed treatment (DOT) program for tuberculosis at  
90 Health Center Carlos Ribeiro; (b) more than 18 years old; (c) with at least two  
91 positive direct microscopy for acid-fast bacteria in sputum samples; (d) signed the  
92 consent form; (e) intake of antimycobacterial drugs (rifampin, isoniazid and  
93 pyrazinamide) for at least two months. The exclusion criteria were as follows: (a)  
94 equal to or less than 18 years old; (b) history of diabetes mellitus, gastrointestinal

95 disease, HIV/AIDS, or any other medical illness that could interfere with the  
96 pharmacokinetics of antimycobacterial drugs; (c) being pregnant.

97

98 **Social-demographic data and nutritional evaluation.** Social and demographic  
99 informations were collected using a questionnaire form. Alcohol dependence was  
100 evaluated using the CAGE (*cut-annoyed-guilty-eye*) questionnaire as previously  
101 described (1,31). Weight (kg) and height (m) were taken on the day of study  
102 enrollment using a calibrated weight meter with an accuracy of 100 g and a meter  
103 with an accuracy of 1 mm. The body mass index (BMI; kg/m<sup>2</sup>) was assessed using  
104 the World Health Organization reference values (33).

105

106 **Blood biochemistry.** Participants were asked to undergo an early morning fast.  
107 Blood samples (5-10 mL) were collected at 2 and 6 hours after antimycobacterial  
108 drug administration (rifampin, isoniazid and pyrazinamide). The following blood  
109 biochemistry substances were assessed using the first sample collection: (a)  
110 glucose; (b) urea; (c) creatinine; (d) aminotransferases (aspartate-AST and alanine-  
111 ALT); (e) total, direct and indirect bilirubin; and (f) total and fractional protein. All  
112 blood biochemistry measurements were done using a quality control protocol for  
113 Good Laboratory Practice, an automatic system at the Chemistry Clinical Laboratory,  
114 University Hospital, Federal University of Ceará (UFC).

115

116 **Intestinal permeability test.** An intestinal permeability test was done using a  
117 standard solution containing lactulose (250 mg/mL; Lactulona<sup>®</sup>, Luitpold Produtos  
118 Farmacêuticos Ltda, S. Paulo, SP, Brazil) and mannitol (50 mg/mL; Manitol, Henri  
119 Farma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, S. Paulo, SP, Brazil) in 20 mL

120 sterilized and distilled water. The standard solution was prepared at the  
121 Biotechnology Laboratory, Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine, School  
122 of Medicine, UFC. All individuals were fasting for at least 3 hours before the  
123 lactulose:mannitol test solution was administered orally. Urine samples were  
124 collected for the next five hours and mixed with one drop (50  $\mu$ L) of clorhexidine (40  
125 mg/mL; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) per 50 mL of urine. The total urine  
126 collected for each individual was measured (mL) and an aliquot of 1.5 mL was  
127 preserved and stored at -80 °C until the amount of lactulose and mannitol could be  
128 measured by high performance liquid chromatography with pulsed amperometric  
129 detection (HPLC-PAD). The quality control HPLC-PAD method was based on  
130 previous work published elsewhere (2).

131

132 ***Antimycobacterial drugs in vitro bioequivalence and serum measurements.***

133 Capsules with a fixed dose of rifampin (300 mg) and isoniazid (200 mg) were used  
134 for serum concentration assessments of these drugs (Lote 0638, Laboratório Far-  
135 Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Pyrazinamide  
136 tablet (500 mg) was also used for serum concentration assessment of this drug (Lote  
137 0313, Laboratório Química do Estado de Goiás S.A. – IQUEGO, GO, Brasil). These  
138 doses are consistent with antimycobacterial drug doses usually used in the treatment  
139 of tuberculosis in the Northeast of Brazil. External quality control for drug content in  
140 the dosage forms for rifampin, isoniazid and pyrazinamide was done at the National  
141 Jewish Medical and Research Center in Denver, Colorado, USA, using a validated  
142 high-performance liquid chromatography (rifampin and isoniazid) and gas  
143 chromatography with mass spectrometry (pyrazinamide) (21,22,24). All drugs had a  
144 mean dose within 107% to 121% of the stated amount.

145 All drugs were administered orally thirty minutes before the oral ingestion of  
146 the lactulose:mannitol test solution. Blood samples were collected in tubes at 2 and 6  
147 hours after oral administered antimycobacterial drugs. Serum was separated by  
148 centrifugation and frozen -80 °C within one hour after collection. Antimycobacterial  
149 drugs (rifampin, isoniazid and pyrazinamide) serum concentrations also were  
150 assayed at National Jewish as described above.

151 The usual range of normal serum concentrations of rifampin (600 mg) was 8-  
152 24 µg/mL, isoniazid (400 mg) 4-6 µg/mL and pyrazinamide (2 g) 30-60 µg/mL  
153 (19,30). Serum concentration was considered low when rifampin was <8 µg/mL,  
154 isoniazid <4 µg/mL and pyrazinamide <30 µg/mL (19,30). Serum concentration was  
155 considered very low when rifampin was <4 µg/mL, isoniazid <2 µg/mL and  
156 pyrazinamide <15 µg/mL (19,30).

157

158 **Sample size calculation and statistical analysis.** Sample size was calculated  
159 using both lactulose:mannitol ratio or antimycobacterial drugs serum concentrations.  
160 Based on our previous studies in Fortaleza (2,27), we would expect a 30% reduction  
161 in lactulose:mannitol ratio or drugs serum concentrations in cases compared to  
162 controls. We estimated a sample size of at least 23 for each group to detect a  
163 significant difference between these groups, using a power of 90% and a two-sided  
164 significant level of 5%. Assuming we could have a 10% loss, then an estimated of at  
165 least 26 subjects in each group was calculated.

166 The data collected were entered twice by two independent persons in a  
167 computer database and further validated using Excel software version 4.0 (Microsoft  
168 Co., Seattle, WA). The normality and variance of quantitative variables were tested  
169 using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. Any parameters not following



170 the normal distribution were analyzed using Mann-Whitney tests, Chi-square tests or  
171 Fisher exact tests. Normally distributed, continuous variables were analyzed using  
172 Student's *t* tests. Covariance analysis (ANCOVA) was used to correct the influence  
173 of BMI and alcohol dependence when compared lactulose:mannitol ratio or drugs  
174 serum concentrations between groups. The linear Pearson's correlation and multiple  
175 regression analysis were used for these parameters after adjusting for BMI and  
176 alcohol dependence. All statistical analyses were performed using the Statistical  
177 Package for Social Sciences version 11.5 (SPSS Inc. Chicago, IL). The figures were  
178 done with GraphPad Prism software version 3.0 (GraphPad Software, San Diego,  
179 CA). The alpha value of 0.05 or less was accepted as identifying a statistically  
180 significant difference.

## 181 Results

182

183 A flow diagram of all eligible subjects is shown in **Figure 1**. A total of 94  
184 individuals (63 cases and 31 controls) were selected to enter the study protocol. Fifty  
185 nine (63%; 59/94) signed the consent form and entered the study protocol. Thirty five  
186 (37%; 35/94) did not enter the study protocol for the following reasons: (a) 9 did not  
187 show up when invited to participate in the study protocol (7 cases and 2 controls); (b)  
188 6 cases had diabetes mellitus; (c) 1 case refused to give a blood sample; and (d) 19  
189 additional cases were not enrolled because sufficient study power was reached with  
190 the first thirty consecutive cases.

191 The characteristics of the individuals selected to enter the study protocol by  
192 group (cases / controls), age, sex, weight, height, BMI, blood total protein, albumin  
193 and globulin are summarized in **Table 1**. The mean and standard deviation of age for  
194 all individuals was 35.8 and 2.66. Thirty nine (66%; 39/59) were male. There were no  
195 significant differences between study groups for the following parameters analyzed:  
196 (a) age; (b) sex; (c) length; and (d) blood total protein. Weight ( $54.7 \pm 8.3$  versus  $71.2$   
197  $\pm 14$  kg;  $p < 0.001$ ) and BMI ( $21 \pm 2.8$  vs.  $26.2 \pm 4.9$ ;  $p < 0.001$ ) were significantly  
198 lower among cases compared to controls (**Table 1**). While blood albumin  
199 concentration ( $4.1 \pm 0.63$  vs.  $4.8 \pm 0.28$ ;  $p < 0.001$ ) was significantly reduced,  
200 globulin concentration ( $3.5 \pm 0.69$  vs.  $2.8 \pm 0.33$ ;  $p < 0.001$ ) was increased in the  
201 tuberculosis group compared to healthy volunteers. The blood biochemistry  
202 substances measured, including glucose, liver and renal functional tests, total  
203 protein and fractions were within normal range for both cases and control groups.  
204 Fifty one percent (30/59) of the all participants had alcohol dependence by the  
205 CAGE questionnaire evaluation criteria. The distribution of alcohol dependence in

206 cases and controls were 60% (18/30) and 42% (12/29) and there was no significant  
207 difference between these groups ( $p > 0.05$ ; Chi-square test).

208 The results on intestinal permeability parameters are summarized in **Table 2**.  
209 Lactulose and mannitol are markers for the paracellular and transcellular transports,  
210 respectively, in the intestinal epithelium. The lactulose:mannitol ratio is also a  
211 parameter to measure intestinal permeability changes on intestinal barrier function  
212 (15,16). The paracellular transport of lactulose was significantly reduced in cases  
213 (median: 0.2043% / range: 0.0-1.3015;  $p = 0.0194$ ) compared to controls (0.4301%  
214 /0.0-2.0643). The mannitol transcellular transport (18.94% / 1.96-71.55 vs. 24.40% /  
215 1.39-63.05;  $p = 0.0698$ ) and the lactulose:mannitol ratio (0.0102 / 0.0-0.0760 vs  
216 0.0153 / 0.0-0.1360;  $p=0.0698$ ) were borderline significantly reduced in cases  
217 compared to controls.

218 The percentage of total individuals with low serum maximum concentration for  
219 one or two antimycobacterial drugs was 27% (16/59) and 73% (43/59), respectively.  
220 The cases low serum concentrations were not significant difference from controls for  
221 isoniazid (cases: 83%; 25/30 vs. controls: 100%; 29/29;  $p > 0.05$ ), but it reaches  
222 significant difference for rifampin (cases: 100%; 30/30 vs. controls: 62%; 18/29;  $p <$   
223 0.001).

224 **Table 3** summarizes the data for delayed absorption of antimycobacterial  
225 drugs. Delayed absorption was defined as having the apparent maximum serum  
226 concentration at the six hour sample collection. Overall delayed absorption was  
227 observed in 48%, 21%, and 26% for rifampin, isoniazid and pyrazinamide,  
228 respectively. Although delayed absorption of isoniazid was more common with cases  
229 compared to controls, these differences were not statistically significant (**Table 3**).

230 Data on serum concentrations of antimycobacterial drugs for all participants,  
231 patients with active pulmonary tuberculosis, and healthy volunteers are summarized  
232 in **Table 4** and **Figure 2**. For rifampin and isoniazid, the mean serum concentrations  
233 at 2 hours and at 6 hours after drug administration, as well as the maximum observed  
234 concentration were below the normal 2 h target ranges for all individuals combined,  
235 for cases, and for controls. For study subjects with maximum concentrations at 2 h, it  
236 was expected that the 6 h samples would be below the target ranges, especially for  
237 rifampin and isoniazid, because of their relatively short elimination half lives.  
238 However, given the high rate of delayed absorption (6 h > 2 h concentration) among  
239 study subjects, we also evaluated the 6 h samples against the target ranges. The  
240 mean serum concentrations at 2 hours post antimycobacterial drug administration,  
241 and the maximum observed concentration, were within the normal range for  
242 pyrazinamide. At six hours, the mean serum concentration for pyrazinamide was  
243 below the normal 2 h target value for all individuals and controls, but not for cases.

244

245 When analysis were done to compare the cases versus controls, we observed  
246 that the mean serum rifampin concentration was significantly lower in cases  
247 compared to controls for 2 hour and 6 hour samples. The maximum concentration of  
248 rifampin was also significantly lower in cases than controls. For rifampin, although the  
249 mean value for controls was considered low, the mean value for cases was  
250 considered very low. Isoniazid and pyrazinamide had maximum concentrations lower  
251 in controls than in the cases. The same was observed for pyrazinamide at 2 hours  
252 samples collected. One patient in the case group had history of diarrheal diseases in  
253 the last two weeks. For this case, the maximum serum concentration for rifampin  
254 (1.33  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and isoniazid (2.23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was below the usual normal range.

255 Pyrazinamide (29.31  $\mu\text{g/mL}$ ) was within the normal range maximum serum  
256 concentration. Overall, the minimum inhibitory concentration was 41, 197 and 3.3  
257 times more for serum maximum concentration of rifampin, isoniazid and  
258 pyrazinamide, respectively (**Figure 2**).

259

## 260 Discussion

261

262 The five first-line drugs for tuberculosis treatment are still highly effective, with low  
263 rates of drug failure, and they have an acceptable degree of toxicity (10,26). Short-  
264 course combined therapy for tuberculosis, as recommended by the World Health  
265 Organization, is based on a four drug regimen for the first two months and two drugs,  
266 rifampin and isoniazid, for the last four months (32). This combined treatment relies  
267 on direct observation of patient compliance to ensure effective treatment and a high  
268 cure rate. The present study is consistent with previous literature, as we followed  
269 patients for more than six months (data not shown) and observed a ninety percent  
270 cure rate (27/30; two gave up the treatment and one had failure the treatment)  
271 among our patients with active pulmonary tuberculosis using this standard combined  
272 therapy. Relapse post-therapy was beyond the scope of this study.

273 Reports have warned of the relative high frequency of mutants resistant to  
274 rifampin, isoniazid and the risk of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB)  
275 (3,7,9,28). Although the prevalence of MDR-TB is still low worldwide, the ascendant  
276 rate of increase is very dramatic (3,28). In Fortaleza, capital of the state of Ceará in  
277 the Northeast of Brazil, the percentage of MDR-TB has increased from 0.82% (1994)  
278 to 1.48% (1999) (3).

279 The issue of low serum concentrations of antimycobacterial drugs and the  
280 relationship to delayed or incomplete response to treatment, or emergence of drug  
281 resistance is still not totally understood. Only a few studies have been conducted on  
282 the pharmacokinetics of first choice drugs for tuberculosis treatment  
283 (4,8,12,13,23,27,29,30). In this report we observed peak serum concentrations of  
284 rifampin and isoniazid that were below normal range for these drugs. This is

285 consistent with other studies using different populations with pulmonary tuberculosis  
286 and HIV/AIDS (4,8,12,13,23,27,29,30). The appropriate absorption of pyrazinamide  
287 observed in this study is also consistent with other reports (4,8,12,13,23,27,29,30).

288 New in the literature, and against our primary hypothesis, are our findings of  
289 low serum concentrations for these drugs in healthy volunteer controls. Thus, low  
290 serum peak concentrations of antimycobacterial drugs were not dependent on  
291 tuberculosis itself or other risk factors evaluated in this study, including malnutrition,  
292 alcohol abuse, total protein and albumin, and intestinal barrier function.

293 Two previous studies have suggested that small absorptive intestinal surface  
294 area could be the primary reason for the low drug absorption in these populations  
295 (12,27). However, the absence of healthy controls in these reports did not allow  
296 completely for this assumption. Malnutrition, low blood albumin concentrations and  
297 altered intestinal barrier function were also confirmed in the present study for patients  
298 with active pulmonary tuberculosis, but these could not explain the low drugs serum  
299 concentrations seen also in healthy control individuals.

300 The drug content *in vitro* was evaluated by an laboratory independent of the  
301 manufacturer and found to be as labeled, thus the drug amount in the medication  
302 was not considered the primary cause for the observed low serum drugs  
303 concentrations. Since all individuals were requested to fast prior to medication  
304 administration, the influence of food on drug absorption was not likely to be the  
305 cause. The lactulose and mannitol sugar formulation had a relative low amount of  
306 these sugars and it was taken at least half an hour after the administration of the  
307 drugs. There are no available data to suggest that these compounds should affect  
308 the absorption of the TB drugs. We did not explicitly test an additional control group  
309 without lactulose and mannitol. Blood samples were collected and, within less than

310 an hour preserved at appropriate temperature, as recommended for the quality  
311 control measurements of these drugs (21,22,24). The blood biochemistry substances  
312 measured allowed us to eliminate diabetes mellitus, and liver or kidney disease as a  
313 possible confounding factors.

314 The proportion of cases with delayed absorption of drugs was not significantly  
315 different from controls, and a relatively high proportion (**Table 4**) of both cases and  
316 controls had delayed peak drug concentrations. We did not have samples between 2  
317 and 6 hours to evaluate an intermediate time to maximum concentrations. The first  
318 pass effect of drug biotransformation at the intestinal wall could not be ruled out and  
319 is a limitation of this study.

320 Although cases had weight and body mass index measurements that were  
321 significantly lower than controls, the percentage of those identified as underweight  
322 was only 16% (5/30). In addition, the area of absorption, as measured by the  
323 mannitol transcellular marker, had only a marginally significant lower absorption area  
324 than controls which does not explain the low drugs absorptions for both cases and  
325 controls. Alcohol abuse is another potential cause of reduced drug absorption and it  
326 could contributed in cases and controls to reduce intestinal drug absorption and  
327 produce low serum concentrations (14).

328 Paracellular intestinal transport, as measured by lactulose marker, was  
329 significantly lower in cases than in controls. However, this pathway should not  
330 significantly influence drug absorption, since it represents less than five percent of  
331 the total area of absorption in the small intestine (17). In addition, it was not  
332 associated with low peak serum concentration in total individuals, cases, or controls.

333 In conclusion, these results showed a high proportion of individuals (cases and  
334 controls) with low peak serum concentrations for rifampin and isoniazid.



335 Pyrazinamide was well absorbed and had normal range serum peak concentration in  
336 cases and controls. The intestinal transcellular and paracellular transport and the  
337 lactulose:mannitol ratio were all significantly or borderline reduced in active  
338 pulmonary tuberculosis, and these markers were not associated with low serum peak  
339 rifampin and isoniazid concentrations. These data warrant further studies  
340 investigating the efficacy of current guidelines for normal peak serum concentrations  
341 and dosing of rifampin and isoniazid for combined therapy of tuberculosis in different  
342 populations around the world.

343

344 **Acknowledgments.** The authors are grateful to the patients, healthy volunteers,  
345 Francisca Maria S. Bento (healthcare worker), staff of the Health Center Carlos  
346 Ribeiro and Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine, School of Medicine,  
347 Federal University of Ceará, Fortaleza, Ce, Brazil for their assistance in the  
348 completion of the research protocol – in particular Mrs. Maria do Carmo N. Pinho,  
349 Verônica M. Oliveira, Domingos B. Oliveira, Manuel S. Barboza Jr., Leah Barrett  
350 (University of Virginia, CHO, VA) and Michelle Kvalsund for help to preparation of  
351 the manuscript.

352 This work was supported by grants numbers 233/06 and 473997/2006-1 from  
353 Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
354 (FUNCAP, CE, Brasil) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
355 Tecnológico, Ministério da Ciência e Tecnologia, MCT–CNPq, Brasília, DF, Brazil.

356 **References**

357

- 358 1. Aertgeerts, B, F. Buntinx, S. Ansoms, and J. Fevery. 2001. Screening properties  
359 of questionnaires and laboratory tests for the detection of alcohol abuse or  
360 dependence in a general practice population. *Br. J. General Practice*. 51:206-217.
- 361 2. Barboza Jr., M. S., T. M. Silva, R. L. Guerrant, and A. A. M. Lima. 1999.  
362 Measurement of intestinal permeability using manitol and lactulose in children  
363 with diarrheal diseases. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 32(12):1499-1504.
- 364 3. Barroso, E. C., J. L. N. Rodrigues, V. G. F. Pinheiro, and C. L. Campelo. 2001.  
365 Prevalência da tuberculose multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999. *J.*  
366 *Pneumol.* 27(6):310-314.
- 367 4. Berning, S. E., G. A. Huitt, M. D. Iseman, and C. A. Peloquin. 1992.  
368 Malabsorption of antituberculosis medications by a patient with AIDS. *New Engl.*  
369 *J. Med.* 327:1817-1818.
- 370 5. Brasil. Ministério da Saúde. 2005. Vigilância em saúde: dados e indicadores  
371 selecionados. Brasília, DF.
- 372 6. Broutet, S., A. de Queiroz Sousa, F. P. Basílio, H. L. Sá, F. Simon, and F. Dabis.  
373 1996. Prevalence of HIV-1, HIV-2 and HTLV antibody, in Fortaleza, Ceara, Brazil,  
374 1993-1994. *Int. J. STD AIDS.* 7(5):365-369.
- 375 7. Caws, M., and F. A. Drobniewski. 2001. Molecular techniques in the diagnosis of  
376 *Mycobacterium tuberculosis* and the detection of drug resistance. *Ann. NY Acad.*  
377 *Sci.* 953:138-145.
- 378 8. Choudhri, S. A., M. Hawken, S. Gathua, G. O. Minyiri, W. Watkins, J. Sahai, D. S.  
379 Sitar, F. Y. Aoki, and R. Long. 1997. Pharmacokinetics of antmycobacterial drugs  
380 in patients with tuberculosis, AIDS, and diarrhea. *Clin. Infect. Dis.* 25:104-111.

- 381 9. Ducati, R. G., A. Ruffino-Netto, L. A. Basso, and D. S. Santos. 2006. The  
382 resumption of consumption. A review on tuberculosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*  
383 101(7):697-714.
- 384 10. Faustini, A., A. J. Hall, and C. A. Perucci. 2006. Risk factors for multidrug-resistant  
385 tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax.* 61:158-163.
- 386 11. Fortaleza. Secretaria Municipal de Saúde. 1995. Tuberculose. *Boletim de Saúde*  
387 *de Fortaleza.* 9(1).
- 388 12. Gurumurthy, P., G. Ramachandra, A. K. H. Kumar, S. Rajasekaran, C.  
389 Padmapriyadarsini, S. Swaminathan, P. Venkatesan, L. Sekar, S. Kumar, O. R.  
390 Krishnarajasekhar, and P. Paramesh. 2004. Malabsorption of rifampin and  
391 isoniazid in HIV-infected patients with and without tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.*  
392 38:280-283.
- 393 13. Gurumurthy, P., G. Ramachandran, A. K. H. Kumar, S. Rajsekaran, C.  
394 Padmapriyadarsini, S. Swaminathan, S. Bhagavathy, P. Venkatesan, L. Sekar, A.  
395 Mahilmaran, N. Ravichandran, and P. Paramesh. 2004. Decreased bioavailability  
396 of rifampin and other antituberculosis drugs in patients with advanced human  
397 immunodeficiency. *Antimicrobial Agents Chemother.* 48(11):4473–4475.
- 398 14. Keshavarzian, A., J. Z. Fields, J. Vaeth, and E. W. Holmes. 1994. The differing  
399 effects of acute and chronic alcohol on gastric and intestinal permeability. *Am. J.*  
400 *Gastroenterol.* 89:2205-2212.
- 401 15. Lima, N. L., A. Soares, A., R. M. Mota, H. S. Monteiro, R. L. Guerrant, and A. A.  
402 M. Lima. 2007. Wasting and intestinal barrier function in children taking alanyl-  
403 glutamine-supplemented enteral formula. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*  
404 44(3):365-74.

- 405 16. Lima, A. A. L., T. M. J. Silva, A. M. R. Gifoni, L. J. Barrett, I. T. McAuliffe, Y. Bao,  
406 J. W. Fox, D. P. Fedorko, R. L. Guerrant. 1997. Mucosal injury and disruption of  
407 intestinal barrier function in HIV-infected individuals with and without diarrhea and  
408 cryptosporidiosis in Northeast Brazil. *Am. J. Gastroent.* 92(10):1861-1866.
- 409 17. Marcial, M. A. S. L. Carlson, and J. L. Madara. 1984. Partitioning of paracellular  
410 conductances along the ileal crypt-villus axis: a hypothesis based structural  
411 analysis with detailed consideration to tight-junction structure-function  
412 relationships. *J. Memb. Biol.* 80:59-70.
- 413 18. Mehta, J. B., H. Shantaveerapa, J. R. P. 2001. R. P. Byrd, S. E. Morton, F.  
414 Fountain, and T. M. Roy. 2001. Utility of rifampin blood levels in the treatment and  
415 follow-up of active pulmonary tuberculosis in patients who were slow to respond  
416 to routine directly observed therapy. *Chest.* 120:1520-1524.
- 417 19. Peloquin, C. A. 1997. Using therapeutic drug monitoring to dose the  
418 antimycobacterial drug. *Clin. Chest Med.* 18:79-87.
- 419 20. Peloquin, C. A., A. A. Macphee, and S.E. Berning. 1993. Malabsorption of  
420 antimicrobial medications. *N. Engl. J. Med.* 329:1122-1123.
- 421 21. Peloquin, C. A., A. E. Bulpitt, G. S. Jaresko, R. W. Jelliffe, G. T. James, and D. E.  
422 Nix. 1998. Pharmacokinetics of pyrazinamide under fasting conditions, with food,  
423 and with antacids. *Pharmacotherapy* 18:1205-1211.
- 424 22. Peloquin, C. A., A. E. Bulpitt, G. S. Jaresko, R. W. Jelliffe, J. M. Childs, and D. E.  
425 Nix. 1999. Pharmacokinetics of ethambutol under fasting conditions, with food,  
426 and with antacids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:568-572.
- 427 23. Peloquin, C. A., A. T. Nitta, W. J. Buran, K. F. Brudney, J. R. Miranda-Massari, M.  
428 E. McGuinness, S. E. Berinin, and G. T. 1996. Gerena. Low antituberculosis drug  
429 concentrations in patients with AIDS. *Ann. Pharmacother.* 30:919-923.

- 430 24. Peloquin, C. A., R. Namdar, A. A. Dodge, and D. E. Nix. 1999. Pharmacokinetics  
431 of isoniazid under fasting conditions, with food, and with antacids. *Int. J. Tuberc.*  
432 *Lung Dis.* 3:703-710, 1999.
- 433 25. Perri, G. D., and S. Bonora. 2004. Which agents should we use for treatment of  
434 multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*? *J. Antimicrob. Chemother.*  
435 54:593-602.
- 436 26. Petri, W. A. 2007. Chemotherapy of tuberculosis, *Mycobacterium avium* complex  
437 disease, and leprosy, Chapter 47. In Goodman & Gilman's *The Pharmacological*  
438 *Basis of Therapeutics*, 11<sup>th</sup> Ed. The McGraw-Hill Co., New York, NY.
- 439 27. Pinheiro, V. G. F., L. M. A. Ramos, H. S. Monteiro, E. C. Barroso, O. Y. Bushen,  
440 M. C. Façanha, C. A. Peloquin, R. L. Guerrant, and A. A. M. Lima. 2006. Intestinal  
441 permeability and malabsorption of rifampin and isoniazida in active pulmonary  
442 tuberculosis. *Braz. J. Infect. Dis.* 10(6):374-379.
- 443 28. Raviglione, M. C., and I. M. Smith. 2007. XDR tuberculosis – Implications for  
444 global public health. *N. England J. Med.* 356(7):656-659.
- 445 29. Sahai, J., K. Gallicano, L. Swick, S. Tailor, G. Garber, I. Seguin, L. Oliveras, S.  
446 Walker, A. RAchlis, and D. W. Cameron. 1997. Reduced plasma concentrations  
447 of antituberculosis drugs in patients with HIV infection. *Ann. Intern. Med.* 127:289-  
448 293.
- 449 30. Tappero, J. W., W. Z. Bradford, T. B. Agerton, P. Hopewell, A. L. Reingold, S.  
450 Lockman, A. Oyewo, E. A. Talbot, T. A. Kenyon, T. L. Moeti, H. J. Moffat, and C.  
451 A. Peloquin. 2005 Serum concentrations of antimycobacterial drugs in patients  
452 with tuberculosis in Botswana. *Clin. Infect. Dis.* 41(4):461-469.

- 453 31. Vinson, D. C., J. M. Galliher, C. Reidinger, J. A. Kappus. 2004. Comfortably  
454 Engaging: Which Approach to Alcohol Screening Should We Use? *Ann. Fam.*  
455 *Med.* 2(5):398-404.
- 456 32. World Health Organization (WHO). 2006. Global tuberculosis control:  
457 surveillance, planning, financing. Geneva.
- 458 33. World Health Organization (WHO). 1995. Physical status: the use and  
459 interpretation of anthropometry. Geneva, Report of a WHO Expert Committee.  
460 *Série de Informes Técnicos*, n. 854, p. 462.

461 **Table 1** – The characteristics at baseline of the individuals selected to enter the study  
 462 protocol by group (cases / controls), age, sex, weight, height, body mass index, blood  
 463 total protein, albumin and globulin, Fortaleza, CE, Brazil, from July, 2004 to  
 464 December, 2005.

Parameters	Total	Cases <sup>1</sup>	Controls	P <sup>2</sup>
	N = 59	N = 30	N = 29	Values
<b>Age</b> (Mean ± sd <sup>2</sup> )	35.8 ± 13.0	34.5 ± 14.6	34.0 ± 11.0	0.294
<b>Sex</b>				
<b>Female</b> N (%)	20 (33.9)	10 (33.3)	10 (34.5)	0.926
<b>Male</b> N (%)	39 (66.1)	20 (66.7)	19 (65.5)	0.926
<b>Weight</b> (kilogram)	62.8 ± 13.8	54.7 ± 8.3	71.2 ± 14.0	<0.001
<b>Height</b> (meter)	1.63 ± 0.09	1.62 ± 0.07	1.65 ± 0.1	0.438
<b>BMI<sup>4</sup></b> (kg / m <sup>2</sup> )	65.7 ± 12.1	60.3 ± 8.0	71.2 ± 14.0	0.038
<b>Total proteins</b> (mg / dL)	7.55 ± 0.8	7.55 ± 0.93	7.56 ± 0.46	0.538
<b>Albumin</b> (mg / dL)	4.42 ± 0.69	4.08 ± 0.63	4,78 ± 0.28	<0.001
<b>Globulin</b> (mg / dL)	3.12 ± 0.68	3.47 ± 0.69	2.76 ± 0.33	<0.001

465 <sup>1</sup> Cases = active pulmonary tuberculosis; controls = healthy volunteers matched by  
 466 sex and date of birth.

467 <sup>2</sup>P Value of significance by Student's unpaired t test or Chi-square test.

468 <sup>3</sup>sd = Standard deviation. All data are shown as mean ± sd unless different indicated.

469 <sup>4</sup>BMI = body mass index = weight / height square.

470 **Table 2.** Intestinal permeability test as measured by the percentage of urinary  
 471 excretion of lactulose, mannitol and lactulose:mannitol ratio in the total individuals,  
 472 active pulmonary tuberculosis and healthy volunteers matched by date birth and sex,  
 473 Fortaleza, Ce, Brazil, from July, 2004 to December, 2005.

Parameters	Total (N = 59)	Cases <sup>1</sup> (N = 30)	Controls (N = 29)	P <sup>2</sup> Values
	Median (Range)	Median (Range)	Median (Range)	
% Lactulose <sup>3</sup>	0.3066 (0.0-2.0643)	0.2043 (0.0-1.3015)	0.4301 (0.0-2.0643)	0.0194
% Mannitol <sup>4</sup>	21.65 (1.39-71.54)	18.94 (1.96-71.55)	24.40 (1.39-63.05)	0.0698
<b>Lactulose: Mannitol ratio</b>	0.0140 (0-0.1360)	0.0102 (0.0-0.0760)	0.0153 (0.0-0.1360)	0.0698

474 <sup>1</sup> Cases mean active pulmonary tuberculosis; controls mean healthy volunteers  
 475 matched by date of birth and sex.

476 <sup>2</sup> P Values of significance by Mann-Whitney test.

477 <sup>3</sup> Percentage of urinary excretion of lactulose.

478 <sup>4</sup> Percentage of urinary excretion of mannitol.

479



480 **Table 3.** Distribution of delayed absorption of antimycobacteria drugs by total  
 481 individuals, patients with active pulmonary tuberculosis and healthy volunteers  
 482 matched by date of birth and sex, Fortaleza,Ce, Brazil, from July, 2004 to December,  
 483 2005.

<b>Drugs<sup>1</sup></b>	<b>Total (58)</b>		<b>Cases (29)<sup>2</sup></b>		<b>Controls (29)</b>		<b>P<sup>3</sup></b>
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Values</b>
<b>Rifampin</b>	28	48	12	41	16	55	0.431
<b>Isoniazid</b>	12	21	9	31	3	10	0.103
<b>Pyrazinamide</b>	15	26	7	24	8	28	1.000

484 <sup>1</sup> Delayed drugs absorption were defined as maximum serum concentration found  
 485 at 6 hour sample collected.

486 <sup>2</sup> One case did not have enough samples for the six hours drugs measurements.

487 <sup>3</sup> P Values of significance by Fisher exact test.

**Table 4.** Serum sample concentrations of antimycobacteria drugs in the total individuals, active pulmonary tuberculosis and healthy volunteers matched by sex and date of birth, Fortaleza, Ce, Brazil, from July 2004 to Dedember, 2005.

<b>Drugs</b>	<b>Total</b> (N = 59)	<b>Cases<sup>1</sup></b> (N = 30)	<b>Controls</b> (N = 29)	<b>P<sup>2</sup></b> <b>Values</b>
<b>Rifampin at 2 hours</b>	3.13 ± 3.49	1.15 ± 0.78	5.07 ± 3.9	0.0001
<b>Rifampin at 6 hours</b>	3.13 ± 2.57	1.18 ± 0.51	5.07 ± 1.55	<0.001
<b>Rifampin maximum<sup>3</sup></b>	3.97 ± 3.58	1.46 ± 0.72	6.69 ± 3.07	<0.001
<b>Isoniazid at 2 hours</b>	2.36 ± 1.24	2.30 ± 1.60	1.86 ± 0.75	0.194
<b>Isoniazid at 6 hours</b>	0.95 ± 0.74	1.40 ± 0.62	0.96 ± 0.86	0.109
<b>Isoniazid maximum</b>	2.46 ± 1.19	2.62 ± 1.53	1.98 ± 0.76	0.057
<b>Pyrazinamide 2 hours</b>	40.17 ± 12.42	42.38 ± 11.02	35.11 ± 13.16	0.015
<b>Pyrazinamide at 6 hours</b>	28.72 ± 5.78	31.80 ± 4.99	27.99 ± 6.46	0.129
<b>Pyrazinamide maximum</b>	40.94 ± 11.44	44.10 ± 10.40	36.32 ± 12.02	0.007

<sup>1</sup> Cases = active pulmonary tuberculosis; controls = healthy volunteers matched by date of birth and sex.

<sup>2</sup> P Value of significance by Student's unpaired t test. All data (µg/mL) are presented as mean ± standard deviation.

<sup>3</sup> Maximum serum concentrations were defined as the highest measurement independent of the sample time collected.

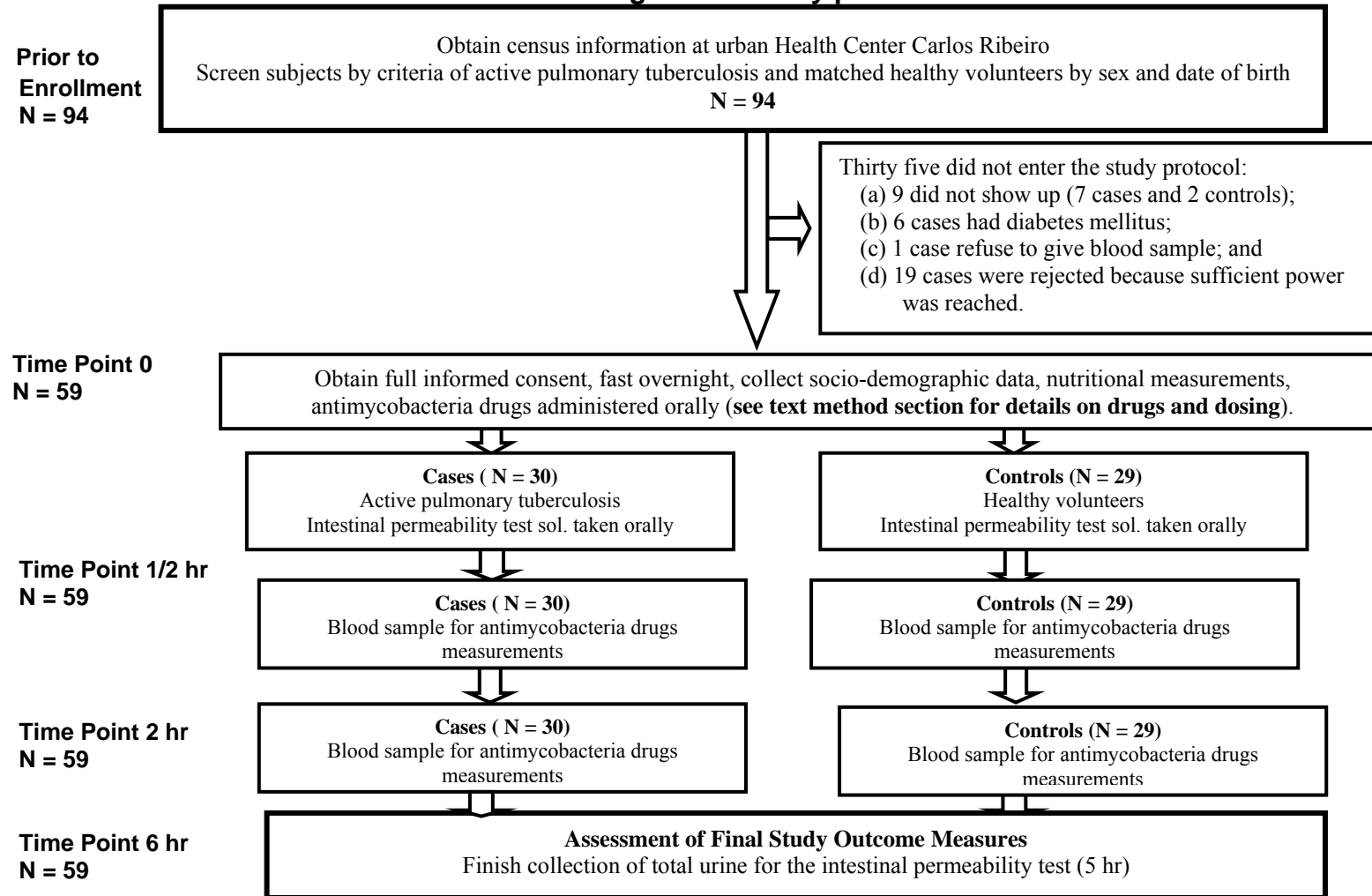
## Figures Legend

**Figure 1.** Flow diagram for all individuals, patients with active pulmonary tuberculosis (cases) and healthy volunteers matched by date of birth and sex, Fortaleza, Ce, Brazil, from July, 2004 to December, 2005.

**Figure 2.** Scatter plot of the maximum serum concentrations of antimycobacteria drugs, the maximum serum concentrations within the normal range, and minimum inhibitory concentration by total individuals, patients with active pulmonary tuberculosis and healthy volunteers matched by date of birth and sex, Fortaleza, Ce, Brazil, from July, 2004 to December, 2005. Maximum serum concentration was defined as the highest serum concentration independent of serum sample time collected. Panel **(A)** shows the scatter plot of the rifampin (600 mg, v.o.) maximum serum concentration; **(B)** isoniazid (300 mg, v.o.) maximum serum concentration; and **(C)** pyrazinamide (500 mg, v.o.). The plot shows also the mean  $\pm$  standard deviation. The Student's unpaired *t* test was used to compare the mean between groups.

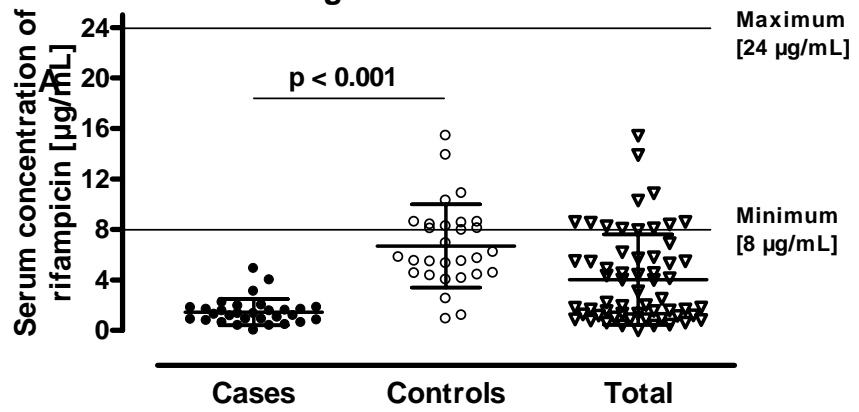
Figure 1

Flow diagram for study protocol



1

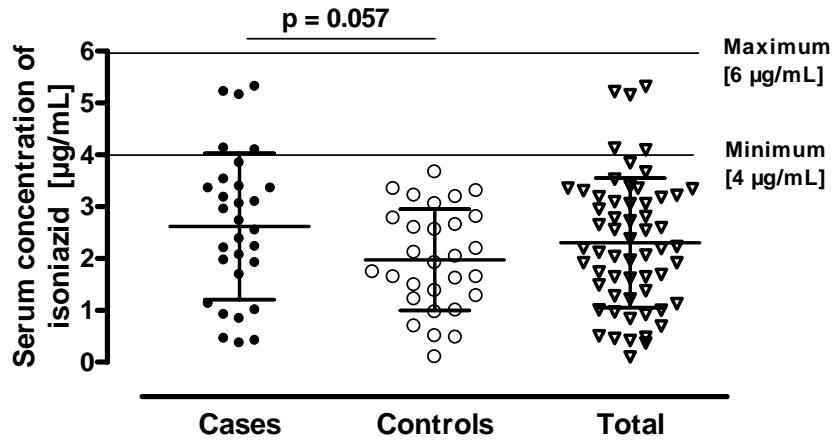
Figure 2



2

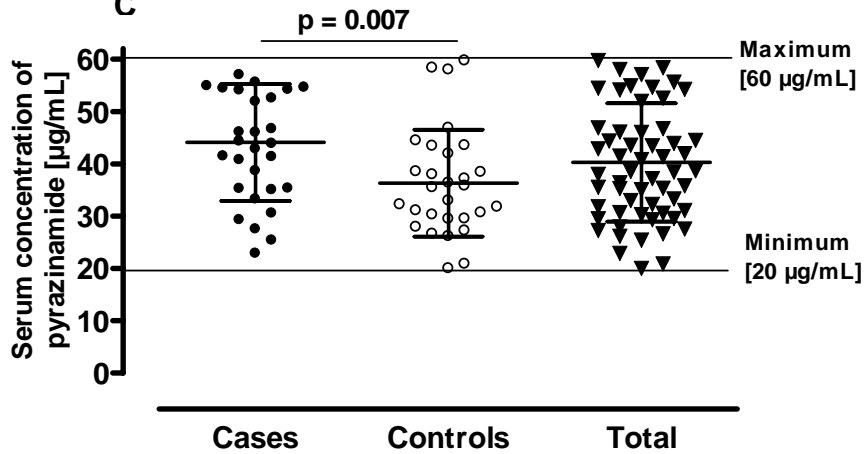
3

B



4

C



5  
6

7                   **Serum Concentrations of Rifampin, Isoniazid and Intestinal**

8                   **Absorption, Permeability in Patients with Multidrug**

9                   **Resistant Tuberculosis**

10           **Elizabeth C. Barroso<sup>2</sup>, Valéria G.F. Pinheiro<sup>1</sup>, Mônica C. Façanha<sup>1</sup>, Maria R.D.**

11           **Carvalho<sup>2</sup>, Maria E. Moura<sup>2</sup>, Creusa L. Campelo<sup>3</sup>, Charles A. Peloquin<sup>4</sup>, Richard L.**

12           **Guerrant<sup>1,5</sup>, and Aldo A.M. Lima<sup>1,5</sup>**

13  
14           Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine / Center for Global Health, Department of  
15           Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Federal University of Ceará,  
16           Fortaleza, Ceará, Brazil<sup>1</sup>; Messejana's Hospital, Secretary of Health, Ceará, Brazil<sup>2</sup>;  
17           Central Laboratory, Secretary of Health, Ceará, Brazil<sup>3</sup>; National Jewish Health, Denver<sup>4</sup>;  
18           Center for Global Health, Division of Infectious Diseases and International Health,  
19           University of Virginia, Charlottesville, Virginia<sup>5</sup>

20  
21  
22           **Short running title:** Rifampin and isoniazid in MDR tuberculosis

23           **Correspondence to:**

24           Aldo A. M. Lima, M.D., Ph.D.

25           Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine ([www.upcibimed.ufc.br](http://www.upcibimed.ufc.br)) / Center for  
26           Global Health, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Federal  
27           University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

28           R. Cel. Nunes de Melo, No. 1315. Rodolfo Teófilo. CEP 60.430-270.

29           Fortaleza, Ceará, Brasil. Phone/Fax: 55 (85) 3366 8445; E-mail: [alima@ufc.br](mailto:alima@ufc.br).

30

**Abstract**

31           This study evaluates the serum concentrations of rifampin, isoniazid and intestinal  
32 barrier function in patients with MDR-TB, drug susceptible tuberculosis (DS-TB) and health  
33 volunteers (HC; controls). MDR-TB, DS-TB and HC were 32, 28 and 30 individuals,  
34 respectively. There were a significantly lower proportion of peak serum concentrations for  
35 rifampin in MDR-TB and DS-TB as compared with HC. The isoniazid peak serum  
36 concentration was not significantly different between MDR-TB versus DS-TB or DS-TB  
37 versus HC, but it was higher with MDR-TB compared to HC. The percent of mannitol  
38 excretion was significantly lower in the MDR-TB group compared to the other study groups.  
39 These data suggested a lower peak serum concentration of rifampin for both MDR-TB and  
40 DS-TB as compared with HC group. The data also showed lower intestinal area of absorption  
41 in patients with tuberculosis and even worse in MDR-TB.

42

43 **Key words:** Multidrug-resistant tuberculosis; bioavailability of antimycobacterial drugs;  
44 intestinal barrier function; rifampin; isoniazid.

## Introduction

Tuberculosis continues to be an important public health problem, where one out of every 3 people on Earth is infected.<sup>1</sup> Worldwide and in people living with HIV/AIDS, tuberculosis is the number one infectious killer.<sup>1</sup> Every 20 seconds, someone dies of tuberculosis in the World. The treatment for tuberculosis presents several problems such as difficulties with adherence and the lengthy treatment which burdens patients and health services. The current treatment regimens for tuberculosis take 6 to 24 months and require frequent supervision.

Erratic, incomplete treatment and low peak serum concentrations of antituberculosis drugs create an important risk for multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and also extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB).<sup>2,3</sup> Recent estimates suggest that every year, nearly half a million MDR-TB cases emerge and more than 130,000 people die of MDR-TB. In certain geographical areas of the World over 20% of new tuberculosis cases are now MDR-TB, and almost 10% of MDR-TB cases are XDR-TB.<sup>3,4</sup> In the state of Ceará, Brazil, the proportion of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) increased from 0.82% in 1994 to 1.48% in 1999<sup>5</sup> and it continues to rise (Barroso EC, unpublished data).

There are a few studies suggesting that reduced antimycobacterial drug absorption and bioavailability can delay or reduce the cure rate for tuberculosis and enhance the emergence of drug resistance.<sup>6--8</sup> Several studies to date have shown low serum concentrations of antimycobacterial drugs in HIV/AIDS patients<sup>9--13</sup> and others on tuberculosis patients with or without HIV.<sup>8,14--18,20</sup> Most previous studies of rifampin and isoniazid have used the same daily dose, and most have not included pharmacokinetic evaluations, we postulate that these doses will not be suitable to all individuals, including patients and healthy volunteers from different racial and genetic backgrounds. In addition to these factors, intestinal barrier



function and absorptive area may potentially influence antituberculous drug absorption and peak serum concentrations. In the last ten years our group has used lactulose and mannitol absorption as markers for the paracellular and transcellular transport, respectively, in the intestinal epithelium.<sup>8,19</sup> Only a few studies, including two from our research group, have attempted to evaluate intestinal barrier function, absorption and serum concentrations of antimycobacterial drugs<sup>8,14,20</sup>, and none to date have evaluated MDR-TB patients compared to drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy controls (HC), without concomitant HIV infection. The present study evaluates intestinal barrier function and serum concentrations of rifampin and isoniazid in outpatients with MDR-TB, drug susceptible-tuberculosis (DS-TB) and in health controls (HC).

## Material and Methods

**Ethical approval.** The study was approved by the local and national ethical committee for research called CONEP, Conselho Nacional de Saúde, resolution No. 196/96, 251/97 and 292/99 from Agência Nacional Sanitária, Brasília, DF, Brazil. Consent and case report forms were submitted to the same committee and approved on April 4, 2006. All subjects were informed verbally and signed the consent form before entering the study.

**Geographic location and study population.** The study was performed at the Hospital de Messejana, 200 beds, from August, 2006 to April, 2007. The hospital is located in Fortaleza city, the capital of the Ceará state in the Northeast of Brazil. The population of the state is approximately 8,097,276 habitants from the census done in 2005.<sup>21</sup> The state had 41,073 new cases of tuberculosis from 1990 to 1999.<sup>5</sup> In 2005, the total new cases of tuberculosis were 4,104 with an incidence of 50.7 per 100,000 habitants.<sup>22</sup>

**Study design, inclusion and exclusion criteria.** The study was a cross-section evaluation of 127 screened individuals, including health volunteers, for serum rifampin and isoniazid peak serum concentration and intestinal barrier function. MDR-TB was defined as a patient infected with *Mycobacterium tuberculosis* resistant to at least rifampin (RMP) and isoniazid (INH) using the susceptibility test by the proportion method at Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN-CE) using the method reported before by Canetti (1963).<sup>23</sup> DS-TB was defined as a patient infected with *Mycobacterium tuberculosis* susceptible to all four drugs tested, rifampin, isoniazid, streptomycin and ethambutol. A health volunteer (HC) was consider normal control based on clinical history and laboratory studies including: total and differential blood cell counts; blood biochemistry; liver and kidney function tests; total and

serum proteins; and anti-HIV test. All groups of patients and healthy volunteers were matched by age and sex.

The inclusion criteria were: (a) be adequate with the cases and health volunteer definition; (b) age above 15 years old; and (c) agree to participate in the study and sign the consent form. The exclusion criteria were: (a) not be able to isolate the *Mycobacterium tuberculosis* in MDR-TB and DS-TB patients; (b) isolation of nontuberculous mycobacteria; (c) clinical history of allergy to rifampin or isoniazid; or (d) diagnosed with cancer, gastrointestinal diseases, liver or kidney dysfunction or other systemic severe diseases.

***Social-demographic, clinical and nutritional evaluation.*** A case report form was developed and used to collect social-demographic and clinical data at the enrollment of each patient or control after signed the consent form. The history of alcohol ingestion was taken based on previous report by O'Connor & Schottenfeld (1998).<sup>24</sup> The smoking history was based on the classification by Fahn (1998).<sup>25</sup>

Weight (kg) and height (m) were taken on the day of study enrollment using a calibrated scale with an accuracy of 100 g and a height measuring stick with an accuracy of 1 mm. The body mass index (BMI; kg/m<sup>2</sup>) was assessed using the World Health Organization reference values.<sup>26</sup>

***Blood biochemistry.*** Participants were asked to undergo an early morning fast. Blood samples (5-10 mL) were collected at 2 and 6 hours after antimycobacterial drug administration (RMP+INH). The following blood biochemistry substances were assessed: (a) glucose; (b) urea; (c) creatinine; (d) aminotransferases (aspartate-AST and alanine-ALT); (e) total, direct and indirect bilirubin; (f) total and fractional protein; and (g) HIV test. All blood biochemistry measurements were done using a quality control protocol for Good Laboratory Practice, an

automatic system at the Chemistry Clinical Laboratory, Messejana's Hospital, Secretary of Health, Ceará, Brazil.

***Intestinal permeability test.*** Briefly, a solution containing lactulose (250 mg/mL; Lactulona<sup>®</sup>, Luitpold Produtos Farmacêuticos Ltda, S. Paulo, SP, Brazil) and mannitol (50 mg/mL; Manitol, Henri Farma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, S. Paulo, SP, Brazil) in 20 mL sterilized and distilled water, was used for the intestinal permeability test. This solution was prepared at the Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine, School of Medicine, UFC. All individuals were fasted for at least 3 hours and their bladder emptied immediately before the lactulose: mannitol test solution was administered orally. Urine samples were collected for the next five hours and mixed with one drop (50 µL) of clorhexidine (40 mg/mL; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) per 50 mL of urine. The total urine collected for each individual was measured (mL) and an aliquot of 1.5 mL was preserved and stored at -80 °C until the amount of lactulose and mannitol could be measured by high performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD). This method and the quality control HPLC-PAD method was based on previous work published elsewhere.<sup>19</sup>

***Rifampin and isoniazid in vitro bioequivalence and serum measurements.*** All patients and health volunteers received the same lot # 05070517 (Valid until July, 2007 from Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco ---LAFEPE, Recife, PE, Brazil) of fixed combined pill doses for rifampin plus isoniazid, 150 and 100 mg, respectively. The quality control reported from Agência Nacional de Vigilância Sanitária --- ANVISA, Brasília, DF, Brazil, showed 96 and 97% of the original dose for rifampin and isoniazid, respectively.

All patients and health volunteers were asked to fast after midnight and those taking medication to treat tuberculosis, ingested their pills until 18: 00 hours the day before from the

collection of serum samples.<sup>27</sup> The doses of rifampin and isoniazid for each patient were calculated by kilogram of body weight, following the guidelines from Program Nacional da Tuberculose, Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brazil, as published elsewhere.<sup>28</sup> All doses were taken with 150 ml of water and under direct observation by one of the investigators participant in the study protocol. Blood samples (8 ml) were collected from all participants in the study using tubes with EDTA, two and six hours after the ingestion of the drugs. Serum was separated by centrifugation and frozen -80 °C within one hour after collection. Rifampin and isoniazid serum concentrations were assayed at the National Jewish Health, Denver, CO, using a validated high-performance liquid chromatography (Refs). All drugs had a mean dose within 107% to 121% of the stated amount referenced in the pills. Peak serum concentrations and normal serum range of these drugs were validated using the two hours blood samples.<sup>27,29</sup> Normal serum concentrations were 8-24 µg/mL and 3-6 µg/mL for rifampin and isoniazid, respectively.<sup>27,29</sup> Low and very low peak serum concentrations for rifampin were <8 and <4 µg/mL, respectively. For isoniazid, it was <3 and <2 µg/mL, respectively, for low and very low peak serum concentrations.<sup>27,29</sup>

***Sample size calculation and statistical analysis.*** Sample size was calculated using both lactulose: mannitol ratio or antimycobacterial drugs serum concentrations. Based on our previous studies in Fortaleza<sup>8,19</sup>, we would expect a 30% increase in lactulose: mannitol ratio or a 30% reduction in serum drug concentrations in cases compared to controls. We estimated a sample size of at least 23 for each group to detect a significant difference between these groups, using a power of 90% and a two-sided significant level of 5%. Assuming we could have a 10% loss, then an estimated of at least 26 subjects in each group was calculated.

All the data were entered twice by two independent persons and validated using the Excel software version 4.0 (Microsoft Co., Seattle, WA). The statistical analyses were done

using the Statistical Package for Social Sciences version 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL). The normality and variance of quantitative variables were tested using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. Any parameter not following the normal distribution were math transform or analyzed using non-parametric tests such as Kruskal Wallis, Mann-Whitney tests, Chi-square tests or Fisher exact tests. For multiple comparisons between groups, the Kruskal Wallis sub-hypothesis test was used. Normally distributed, continuous variables were analyzed using Student's *t* test. Covariance analysis (ANCOVA) was used to correct the influence of several factors such as body mass index (BMI), alcohol and smoke dependence when compared intestinal permeability parameters or serum drugs concentrations. The figures were done using GraphicPad Prism software 3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). The *p* values of 0.05 and less were considered a statistically significant difference.

## Results

A flow diagram of all eligible subjects is shown in **Figure 1**. A total of 127 individuals (44 MDR-TB patients, 39 DS-TB patients and 44 HC) were selected to enter the study protocol. Ninety (71%; 90/127) signed the consent form and entered the study protocol. Thirty seven (29%; 37/127) did not enter the study protocol for the following reasons: (a) 3 HC refused to give blood samples, (b) 3 cultures were negative (DS-TB group), (c) 4 cultures showed non-tuberculosis mycobacterium (3 from DS-TB group and 1 from MDR-TB group), (d) 2 cultures were contaminated (from MDR-TB group), (e) 25 additional cases were not enrolled because sufficient power was reached. The total individuals in each group of the study were 32, 28 and 30 for TBMR, DS-TB and HC, respectively (**Figure 1**).

The characteristics of the individuals selected to enter the study protocol by group (MDR-TB, DS-TB and HC), age, sex, alcoholism, smoker, drug use, BMI, total blood proteins, albumin, hemoglobin, number of previous TB treatments, period between the first TB treatment and study enter date (P1TS), period between the current treatment and study enter date (PCTS) and the doses of rifampin and isoniazid per kilogram of body weight are summarized in **Table 1**. The median/range of age for all individuals was 42.5/17-69 (years). Forty five (50%; 45/90) were male. There were no significant differences between study groups for the following parameters analyzed: (a) age; (b) sex; (c) geographic location of the individuals; (e) associated pathology such as diabetes mellitus, other pulmonary diseases, HIV/AIDS infection, psychiatry disorders and intestinal parasites; (f) severity of pulmonary lesions and (g) detection of the *M. tuberculosis* in the initiation of the study protocol. All the individuals, except one (DS-TB patient who refused to do the test), were negative for anti-HIV test. The blood biochemistry substances measured, including glucose, liver and renal functional tests, total proteins and fractions were within normal range for all groups.

The lactulose:mannitol ratio was similar among the three groups ( $p > 0.05$ ). The paracellular transport of lactulose was significantly reduced in MDR-TB patients (median / range, 0.257% / 0.0--0.937) compared to HC (0.408% / 0.0--1.902;  $p < 0.05$ ) as well as the mannitol transcellular transport (median / range, 12.93% / 1.35--20.99 vs. 15.92% / 0.23--34.09;  $p = 0.0109$ ). Covariance analysis showed that the significant reduction of the percentage of lactulose excretion for MDR-TB was dependent on cofactors such as alcoholism plus smoker, weight loss, body mass index, hemoglobin, and albumin, where the percentage of mannitol excretion continued significantly lower for this group compared to DS-TB or HC (**Table 2**).

The peak serum concentration for rifampin (RC<sub>max</sub>), defined as the highest serum concentration independent of the time collected, was significantly lower in MDR-TB (5.37 / 0.21--19.92  $\mu\text{g/mL}$ ) than in HC (8.19 / 1.46--18.97  $\mu\text{g/mL}$ ) and lower in DS-TB (2.11 / 0.22--12.60) compared to HC controls ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ , respectively). There was no significant difference between MDR-TB *versus* DS-TB groups (**Figure 2A**). The continued use of rifampin stimulates liver enzymes to metabolize this drug and 29% reduction in the serum concentration is expected to happen in those patients taken this medication.<sup>30</sup> Further analysis, adjusting the peak serum concentration for rifampin in MDR-TB and HC groups that were using the drug only for the study, showed consistent lower peak serum concentration of this drug for MDR-TB and DS-TB groups compared to HC (**Figure 2B**).

Considering the normal range of serum concentration of rifampin (8--24  $\mu\text{g/mL}$ ), the data showed a significant higher proportion of patients below 8  $\mu\text{g/mL}$  in the MDR-TB (78%; 25 / 32) compared to HC (50%; 15 / 30),  $p < 0.05$  and in DS-TB (82%; 23 / 28) compared to HC,  $p < 0.05$  (**Table 3**). This analysis is also consistent if below the very low serum concentration of rifampin ( $< 4 \mu\text{g/mL}$ ) is considered (**Table 3**).



By linear correlation analysis, RCmax was found to be positively correlated with dose per kilogram of body weight only for the HC group ( $r = 0.529$ ,  $p = 0.0027$ ) (**Table 4**).

The peak serum concentration for isoniazid (ICmax) was not significantly different comparing MDR-TB (3.89 / 1.01—4.72  $\mu\text{g/mL}$ ) *versus* DS-TB (3.26 / 0.77—4.09  $\mu\text{g/mL}$ ) or DS-TB *versus* HC, but the peak concentration was higher on MDR-TB compared to HC (2.85 / 0.65—3.67  $\mu\text{g/mL}$ ;  $p < 0.01$ ) (**Figure 2C**). The proportion of patients with low ( $< 3 \mu\text{g/mL}$ ) serum concentration of isoniazid were also significantly reduced in the MDR-TB compared to HC (**Table 3**).

By linear correlation analysis, ICmax was found to be positively correlated to dose per kilogram of body weight for all groups: HC ( $r = 0.378$ ,  $p = 0.0396$ ), DS-TB ( $r = 0.615$ ,  $p = 0.0005$ ), and MDR-TB ( $r = 0.388$ ,  $p = 0.0329$ ) (**Table 4**).

One year after the last patient entered the study, we accessed the treatment response in the study population. Seventeen out of 32 MDR-TB patients (53%) had cured, 38% (12 / 32) had treatment failure and 9% (3 / 32) died. Twenty four out of 28 patients with DS-TB (86%) had cured, 7% (2 / 28) had discontinued their treatment and 7% (2 / 28) were lost to follow up. There was a significant difference in cure rates between MDR-TB and DS-TB patients, 53 *versus* 88% (Fischer exact test,  $p = 0.0114$ ). All healthy volunteers continued in a good health after one year of follow up.

## Discussion

Several factors have been studied and they are potentially associated with development of drug resistance in the treatment of tuberculosis.<sup>31,32</sup> Among these factors are cited non-adherence to treatment, factors related to patient or the interaction between health team assistance and the patient, extreme poverty, severe disease, alcoholism, smoker, inadequate or incorrect doses, drug intolerance and failure to deliver anti-tuberculosis drugs.<sup>31,32</sup> Two factors that remain poorly understood include intestinal barrier and absorptive function and bioavailability as indirectly measured by the intestinal lactulose: mannitol absorption ratio and peak serum drug concentrations, respectively.<sup>19,27,29,33</sup>

This study evaluates the intestinal barrier function and peak serum rifampin and isoniazid concentrations and reviews finding specific for patients with multidrug resistant tuberculosis compared to those with drug susceptible tuberculosis and healthy volunteers. Studies done by our group and others have shown that patients with tuberculosis or co-infected with HIV/AIDS have decreased intestinal absorptive area that may relate to low serum concentrations of anti-tuberculosis drugs.<sup>8,13,20</sup> None to date have evaluated patients with MDR-TB as done here. It is possible that this condition is even worse and might be also relate to decreased drug absorption and consequently low peak serum drug concentration. The data in this study show interesting results related to these two possibilities. First, in a multivariate we find that the excretion rate for mannitol, a good marker for intestinal area of absorption, was significantly lower in MDR-TB group than in DS-TB and HC (Table 2). Secondly, barrier disruption may alter drug uptake. In a previous study<sup>8</sup> and unpublished work (Façanha MC, unpublished data), we found that DS-TB and HC patients had significantly lower lactulose excretion ratios, indicating reduced intercellular or tight junction permeability.<sup>19,34</sup> The data shown here demonstrated that this effect was influenced by weight loss, body mass index, albumin, hemoglobin and the association of alcohol plus smoker (the

significant decrease in the percentage of lactulose excretion in MDR-TB *versus* HC disappeared after multivariate analysis including these factors) instead of the influence of tuberculosis itself.<sup>35-37</sup> This last effect may have influenced in part the lactulose: mannitol ratio in such a way that it did not show significant difference between all groups studied. This is also consistent with other study.<sup>8</sup> Because several factors noted above could influence intestinal barrier function and peak serum drug concentrations, a correlation of intestinal permeability parameters with serum drug concentrations was not seen in these data. It is reasonable to think that the low serum concentration of rifampin and decreased intestinal area of absorption in the MDR-TB group might influence the efficacy of the therapeutic regime for tuberculosis. Further well designed cohort studies will be needed to understand the causality of these factors associated with anti-tuberculosis resistance drugs and treatment failure.

There are several studies conducted on the pharmacokinetics of first choice drugs for tuberculosis, but almost none in the multidrug resistant tuberculosis.<sup>9-18,20,30</sup> This study focuses on the peak serum rifampin and isoniazid concentrations on MDR-TB compared to DS-TB and health volunteers matched by age and sex. Overall the literature has reported reduced serum concentration of rifampin and isoniazid in patients with tuberculosis (compared to uninfected controls) with or without HIV/AIDS.<sup>8-18,20</sup> In this report, we again note low serum concentrations of rifampin and isoniazid in patients with MDR-tuberculosis, DS-tuberculosis and healthy controls. New in this study is the significant decrease of serum rifampin concentration on MDR-TB and DS-TB compared to HC after adjusting for rifampin liver enzymes inducer drug metabolism.<sup>30</sup> This is an important finding since MDR-TB patients are already at increased risk for having multidrug resistance and have a high risk for treatment failure and consequently more deaths as seen in the treatment assessed of these patients after one year of follow up.

Recent study showed that increased doses of rifampin (600 mg *versus* 450 mg) significantly reduced the proportion of patients with low serum rifampin concentrations without significantly increasing on the severe side effects of this drug.<sup>18</sup> This dose was used in some of the patients in the MDR-TB group with body weight over 45 kilogram, as per the guidelines mentioned in the method. In their study, they used different formulation for rifampin and isoniazid, while in this report the combined formulation of both drugs was used, although the *in vitro* bioequivalence was documented twice by independent laboratories. Some authors have observed that isoniazid accelerates degradation of rifampin in the acidic conditions of the stomach when administered in fixed dose combination.<sup>30--40</sup> So, it is important to understand this low serum rifampin concentration in this study group and further double-blind studies with different doses of rifampin will be critical to define an optimal dose of rifampin before suggesting any change on the combination drugs treatment for tuberculosis.

The proportion of patients in the MDR-TB and DS-TB groups with low serum isoniazid concentrations is also high in this study and was consistent with data reported by others for DS-TB patients.<sup>8--18,20</sup> The significantly higher proportion of low serum isoniazid concentrations, found in this study, in the HC group compared to MDR-TB may be explained by the significant positive correlation between dose per kilogram of body weight and IC<sub>max</sub> found here and in others studies.<sup>15,33</sup>

In conclusion, we found an important proportion of individuals with low serum rifampin and isoniazid in all three groups studied. Serum rifampin concentrations were significantly lower in the MDR-TB and DS-TB compared to HC. MDR-TB had a significantly reduced intestinal absorptive area compared to DS-TB and HC. In addition, alcoholism plus smoker, weight loss, body mass index, albumin, hemoglobin were significantly associated with reduced intestinal permeability via paracellular intestinal

transport and this was independent of infection with tuberculosis. These data warrant further studies investigating the efficacy of current guidelines for peak serum concentrations and dosing of rifampin and isoniazid for combined therapy of tuberculosis in different groups of patients around the world.

**Acknowledgments.** The authors are grateful to the patients, healthy volunteers, staff of the Messejana's Hospital tuberculosis outpatients service and Clinical Research Unit & Institute of Biomedicine, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ce, Brazil for their assistance in the completion of the research protocol.

This work was supported by grants numbers 233/06 and 473997/2006-1 from Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP, CE, Brasil) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Ministério da Ciência e Tecnologia, MCT–CNPq, Brasília, DF, Brazil.

## References

34. World Health Organization (WHO), 2006. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva.
35. Perri GD, Bonora S, 2004. Which agents should we use for treatment of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*? *J Antimicrob Chemother* 54: 593--602.
36. Raviglione MC, Smith IM, 2007. XDR tuberculosis – Implications for global public health. *N England J Med* 356: 656--659.
37. Aziz MA, Wright A, Lazlo A, De Muynck A, Portaels F, Van Deun A, Wells C, Nunn P, Blanc L, Raviglione M, 2006. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis. *Lancet* 368: 2142--2154.
38. Barroso EC, Rodrigues JLN, Pinheiro VGF, Campelo CL, 2001. Prevalência da tuberculose multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999. *J Pneumol* 27: 310--314.
39. Mehta JB, Shantaveerapa H, Byrd JRP Jr, Morton SE, Fountain F, Roy TM, 2001. Utility of rifampin blood levels in the treatment and follow-up of active pulmonary tuberculosis in patients who were slow to respond to routine directly observed therapy. *Chest* 120: 1520--1524.
40. Peloquin CA, Macphee AA, Berning SE, 1993. Malabsorption of antimicrobial medications. *N Engl J Med* 329: 1122--1123.
41. Pinheiro VGF, Ramos LMA, Monteiro HS, Barroso EC, Bushen OY, Façanha MC, Peloquin CA, Guerrant RL, Lima ALM, 2006. Intestinal permeability and malabsorption of rifampin and isoniazid in active pulmonary tuberculosis. *Braz J Infect Dis* 10: 374--379.

42. Berning SE, [Huitt GA](#), [Iseman MD](#), [Peloquin CA](#), 1992. Malabsorption of antituberculosis medications by a patient with AIDS. *New Engl J Med* 327: 1817--1818.
43. Gurumurthy P, Ramachandran G, Kumar AKH, Rajasekaran S, Padmapriyadarsini C, Swaminathan S, Venkatesan P, Sekar L, Bhagavathy S, Mahilmaran A, Ravachandran N, Paramesh P, 2004. Decreased bioavailability of rifampin and other antituberculosis drugs in patients with advanced human immunodeficiency. *Antimicrobial Agents Chemother* 48: 4473--4475.
44. Peloquin CA, Nitta AT, Burman WJ, Brudney KF, Miranda-Massari JR, McGuinness ME, Berning SE, Gerena GT, [1996](#). Low antituberculosis drug concentrations in patients with AIDS. *Ann Pharmacother* 30: 919--923.
45. Sahai J, Gallicano K, Swick L, Tailor S, Garber G, Seguin I, Oliveras L, Walker S, Rachlis A, Cameron DW, 1997. Reduced plasma concentrations of antituberculosis drugs in patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 127: 289--293.
46. Gurumurthy P, Ramachandran G, Kumar AKH, Rajasekaran S, Padmapriyadarsini C, Swaminathan S, Venkatesan P, Sekar L, Krishnarajasekhar OR, Paramesh P, 2004. Malabsorption of rifampin and isoniazid in HIV-infected patients with and without tuberculosis. *Clin Infect Dis* 38: 280--283
47. Tappero JW, Bradford WZ, Agerton TB, Hopewell P, Reingold AL, Lockman S, Oyewo A, Talbot A, Kenyon TA, Moeti TL, Moffat HJ, Peloquin CA, 2005. Serum concentrations of antimycobacterial drugs in patients with tuberculosis in Botswana. *Clin Infect Dis* 41: 461--469.
48. McIlleron H, Wash P, Burger A, Norman J, Folb PI, Smith P, 2006. Determinants of Rifampin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Pharmacokinetics in a Cohort of Tuberculosis Patients. *Antimicrobial Agents Chemother* 50: 1170--1177.

49. Kimerling M, Phillips P, Patterson P, Hall M, Robinson A, Dunlap N, 1998. Low serum antimycobacterial drug levels in non-HIV-infected tuberculosis patients. *Chest* 113: 1178-1183.
50. Van Crevel R, Alisjahbana B, De Lange WCMF, Borst F, Danusantoso H, Van Der Meer JWM, Burger D, Nelwan RHH, 2002. Low plasma concentrations of rifampicin in tuberculosis patients in Indonesia. *Int J Tuberc Lung Dis* 6: 497--502.
51. Ruslami R, Nijland HMJ, Alisjahbana B, Parwati I, Van Crevel R, Aarnoutse RE, 2007. Pharmacokinetics and tolerability of a higher rifampin dose versus the standard dose in pulmonary tuberculosis patients. *Antimicrob. Agents Chemother* 51: 2546--2551.
52. Barboza MS Jr, Silva TM., Guerrant RL, Lima AAM, 1999. Measurement of intestinal permeability using manitol and lactulose in children with diarrheal diseases. *Braz J Med Biol Res* 32: 1499--1504.
53. [Choudhri SA](#), Hawken M, Gathua S, Mirnyri GO, Watkins W, Sahai J, Sitar DS, Aoki FY, Long R, 1997. Pharmacokinetics of antimycobacterial drugs in patients with tuberculosis, AIDS, and diarrhea. *Clin Infect Dis* 25: 104--111.
54. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em 12 de julho de 2006.
55. Ceará. Secretaria de Estado da Saúde. Situação epidemiológica da tuberculose no Ceará. Informe Epidemiológico – Tuberculose, fev. 2007. Disponível em: <[http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/informe\\_tuberculose\\_02\\_07.pdf](http://www.saude.ce.gov.br/internet/publicacoes/informestecnicos/informe_tuberculose_02_07.pdf)>. Acesso em: 24.nov.2007.
56. Canetti G, Rist N, Grosset J, 1963. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux et drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev Tuberc Pneumol* 27: 217--272.



57. O'Connor PG, Schottenfeldt RD, 1998. Patients with alcohol problems. *N Engl J Med* 338: 592--600.
58. Fahn HJ, Wang LS, Kao SH, Chang SC, Huang MH, Wei YH, 1998. Smoking-Associated Mitochondrial DNA Mutations and Lipid Peroxidation in Human Lung Tissues. *Am J Respir Cell Mol Biol* 19: 901--909.
59. World Health Organization (WHO), 1995. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, Report of a WHO Expert Committee. Série de Informes Técnicos, 854, p. 462.
60. Peloquin CA, 1997. Using therapeutic drug monitoring to dose the antimycobacterial drug. *Clin Chest Med* 18: 79--87.
61. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2004. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes Brasileiras para tuberculose 2004. *J Bras Pneum* 30 (suppl 1): 57--85.
62. Peloquin CA, 2002. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis. [Drugs](#) 62: 2169--2183.
63. Acocella G, Pagani A, Marchetti M, Baroni GC, Nicolis FB, 1971. Kinetic studies on rifampicin. I. Serum concentration analysis in subjects treated with different oral doses over a period of two weeks. *Chemotherapy* 16, p: 346--370.
64. Barroso EC, Sousa ALO, Barroso JB, Mota RMS, Oliveira ACM, Rodrigues JL, 2003. Fatores de risco para tuberculose multirresistente adquirida. *J Pneumol* 29: 89--97.
65. Barroso EC, Barroso JB, Rodrigues JL, Mota RMS, Morais, MFM, Campelo, CL, 2003. Fatores associados aos tratamentos inadequados em grupo de portadores de tuberculose multirresistente. *J Pneumol* 29: 350--357.

66. Um S-W, Lee SW, Know SY, Yoon HI, Park KU, Song J, Lee O-T, Lee J-H, 2007. Low serum concentrations of anti-tuberculosis drugs and determinants of their serum levels. *Int J Tuberc Lung Dis* 11: 972--978.
67. Lima NL, Soares A, Mota RM, Monteiro HS, Guerrant RL, Lima AA, 2007. Wasting and intestinal barrier function in children taking alanyl-glutamine-supplemented enteral formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 44: 365--374.
68. Walsh SV, Hopkins AM, Nusrat A (2000) Modulation of tight junction structure and function by cytokines. *Adv Drug Deliv Rev* 41: 303--313.
69. Fortes A, Pereira K, Antas PR, Franken CL, Dalcolmo M, Ribeiro-Carvalho MM, Cunha SK, Geluk A, Kritski A, Kolk A, Klatser P, Sarno EN, Ottenhoff THM, Sampaio EP, 2005. Detection of in vitro interferon-gamma and serum tumor necrosis factor-alpha in multidrug-resistant tuberculosis patients. *Clin Exp Immunol* 141: 541--548.
70. Castro AZ, Diaz-Bordalez BM, Oliveira EC, Garcia RC, Afiune JB, Paschoal IA, Santos LM, 2005. Abnormal production of transforming growth factor beta and interferon gamma by peripheral blood cells of patients with multidrug-resistant tuberculosis in Brazil. *J Infect* 51: 318--324.
71. Singh S, Mariappan TT, Sankar R, Sarda N, Singh BA, 2002. A critical review of the probable reasons for poor/variable bioavailability of rifampicin from antitubercular fixed-dose combination (FDC) products, and the likely solutions for the problem. *Int J Pharm* 228: 5--17.
72. Mariappan TT, Singh S, 2003. Regional gastrointestinal permeability of rifampicin and isoniazida (alone and their combination) in the rat. *Int J Tuberc Lung Dis* 7: 797-803.
73. Toit LC, Pillay V, Danckwerts MP, 2006. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. *Respiratory Research* 7: 118.

## Figures Legend

**Figure 1.** Flow diagram by multidrug-resistant tuberculosis, drug-susceptible tuberculosis and healthy controls groups in Ceará-Brazil from August, 2006 to April, 2007.

**Figure 2.** Scatter plot of the maximum serum concentrations of antimycobacterial drugs within the normal range by multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy controls (HC) groups in Ceará-Brazil, from August, 2006 to April, 2007. Maximum serum concentration was defined as the highest serum concentration independent of serum sample time collected. Panel (A) shows the scatter plot of the rifampin (weight-adjusted dose, 450 or 600 mg) maximum serum concentration; (B) shows the scatter plot of the rifampin (weight-adjusted dose, 450 or 600 mg) maximum serum concentration with MDR-TB and HC groups adjusted results in according to reference 30 and (C) isoniazid (weight adjusted dose, 300 or 400 mg) maximum serum concentration.

**Table 1** – The characteristics at baseline of the multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy control (HC) groups in Ceará-Brazil, from August, 2006 to April, 2007.

Characteristics	MDR-TB	p <sup>1</sup>	DS-TB	p <sup>2</sup>	HC	p <sup>3</sup>
	N = 32	Values	N = 28	values	N = 30	values
Age – years <sup>4</sup>	41.5 (17.0-61.0)	>0.05 <sup>10</sup>	36.5 (21.0-69.0)	>0.05 <sup>10</sup>	44.0 (19.0-58.0)	>0.05 <sup>10</sup>
Male - n (%)	15 (46.9)	>0.05 <sup>11</sup>	16 (57.1)	>0.05 <sup>11</sup>	14 (46.7)	>0.05 <sup>11</sup>
Alcoolismo Grave-n (%)	10 (31.3)	>0.05 <sup>11</sup>	12 (42.9)	<0.05 <sup>11</sup>	2 (6.7)	<0.05 <sup>11</sup>
Smoker (pack years) <sup>4</sup>	1.6 (0.0-153.0)	>0.05 <sup>10</sup>	9.5 (0.0-73.5)	<0.05 <sup>10</sup>	0.0 (0.0-30.0)	<0.05 <sup>10</sup>
Drug use-n (%)	2 (6.3)	>0.05 <sup>11</sup>	10 (35.7)	<0.05 <sup>11</sup>	1 (3.3)	>0.05 <sup>11</sup>
BMI <sup>5</sup> (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>4</sup>	19.9 (13.0-38.4)	>0.05 <sup>10</sup>	20.3 (15.7-26.3)	<0.01 <sup>10</sup>	24.8 (19.2-38.6)	<0.01 <sup>10</sup>
Weight loss <sup>6</sup> (%) <sup>4</sup>	-5.3 (-39.2-12.5)	>0.05 <sup>10</sup>	-4.9 (-19.0-7.8)	P<0.01 <sup>10</sup>	0.0 (-2.8-9.2)	P<0.01 <sup>10</sup>
Total proteins (mg/dL) <sup>4</sup>	7.3 (6.3-8.5)	0.3466 <sup>10</sup>	7.5 (5.7-8.6)	0.0467 <sup>10</sup>	7.2 (6.5-7.9)	0.4895 <sup>10</sup>
Albumin (mg/dL) <sup>7</sup>	4.17 ± 0.3	>0.05 <sup>12</sup>	4.14 ± 0.47	<0.05 <sup>12</sup>	4.65 ± 0.25	<0.05 <sup>12</sup>
Hemoglobin (g/dL) <sup>4</sup>	12.9 (8.3-16.1)	0.4046 <sup>12</sup>	12.3 (7.5-17.1)	0.0011 <sup>12</sup>	14.4 (11.8-16.9)	0.0024 <sup>12</sup>
Previous TB therapy (number) <sup>4</sup>	3.0 (0.0-8.0)	<0.0001 <sup>13</sup>	0.0 (0.0-2.0)		---	
PITS <sup>8</sup> (years) <sup>4</sup>	4.5 (0.3-38.6)	<0.0001 <sup>13</sup>	0.2 (0.0-15.0)		---	
PCTS <sup>9</sup> (weeks) <sup>7</sup>	36.5±22.0	<0.0001 <sup>14</sup>	6.4±4.6		---	
RMP dose/body weight (mg/kg) <sup>7</sup>	10.41±1.67	0.4186 <sup>10</sup>	10.72±1.14	<0.0001 <sup>10</sup>	9.05±1.43	<0.0003 <sup>10</sup>
INH dose/body weight (mg/kg) <sup>7</sup>	6.94±1.12	0.418 <sup>15</sup>	7.15±0.76	<0.0001	6.03±0.95	<0.0003 <sup>15</sup>

<sup>1</sup> MDR-TB *versus* DS-TB; <sup>2</sup> DS-TB *versus* HC; <sup>3</sup> MDR-TB *versus* HC; <sup>4</sup> Median (range); <sup>5</sup> Body Mass Index = weight / height square; <sup>6</sup>Current weight / former weight; <sup>7</sup> mean ± standard deviation; <sup>8</sup> Period between first TB treatment and the initiation of the study; <sup>9</sup> Period between current treatment and and the initiation of the study; <sup>10</sup> Kruskal Wallis Multiple Comparisons; <sup>11</sup> Odds Ratio; <sup>12</sup> Minimum Squares Multiple Comparisons; <sup>13</sup> Mann-Whitney test; <sup>14</sup> Student's unpaired t test; <sup>15</sup> Tamhane Multiple Comparisons. p ≤ 0.05 was considered a statistically significant difference.

**Table 2** – Results of covariance analysis for the percentage of mannitol excretion for the factors: weight loss, body mass index, albumin, hemoglobin, and alcoholism+smoker in multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy controls (HC).

<b>Percentage of</b>	<b>MDR-TB</b>		<b>DS-TB</b>		<b>HC</b>	
<b>mannitol excretion</b>		p <sup>1</sup>		p <sup>1</sup>		p <sup>1</sup>
<b>Mean</b>	13.18	<b>0.037<sup>2</sup></b>	16.03	0.7307 <sup>3</sup>	16.61	<b>0.029<sup>4</sup></b>
<b>Standard deviation</b>	± 0.965		± 1.077		± 1.157	

<sup>1</sup>ANCOVA, <sup>2</sup>MDR-TB *versus* DS-TB, <sup>3</sup>DS-TB *versus* HC, <sup>4</sup>MDR-TB *versus* HC.

**Table 3** – Proportions of the volunteers in multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy controls (HC) groups below the lower therapeutic limits for rifampin and isoniazid.

DRUG	Reference range	MDR-TB		p <sup>1</sup> values	DS-TB		p <sup>2</sup> values	HC		p <sup>3</sup> values
		N	%		N	%		N	%	
<b>Total</b>		32	100.0		28	100.0		30	100.0	
<b>2hRC</b> <sup>4</sup>	< 8 µg/mL	25	78.1	>0.05 <sup>10</sup>	23	82.1	<0.05 <sup>10</sup>	16	53.3	<0.05 <sup>10</sup>
<b>6h RC</b> <sup>5</sup>	< 8 µg/mL	31	96.9	–	28	100.0	–	25	83.3	–
<b>RCmax</b> <sup>6</sup>	< 8 µg/mL	25	78.1	>0.05 <sup>10</sup>	23	82.1	<0.05 <sup>10</sup>	15	50.0	<0.05 <sup>10</sup>
<b>RCmax</b> <sup>6</sup>	< 4 µg/mL	11	34.4	<b>0.0191</b> <sup>10</sup>	19	67.9	<b>&lt;0.0001</b> <sup>10</sup>	3	10.0	<b>0.0327</b> <sup>10</sup>
<b>2hIC</b> <sup>7</sup>	< 3 µg/mL	9	28.1	–	11	39.3	–	17	56.7	–
<b>6hIC</b> <sup>8</sup>	< 3 µg/mL	27	84.4	–	28	100.0	–	30	100.0	–
<b>ICmax</b> <sup>9</sup>	< 3 µg/mL	6	18.8	>0.05 <sup>10</sup>	11	39.3	>0.05 <sup>10</sup>	17	56.7	<0.05 <sup>10</sup>
<b>ICmax</b> <sup>9</sup>	< 2 µg/mL	3	9.4	–	5	17.9	–	8	26.7	–

<sup>1</sup>MDR-TB *versus* DS-TB; <sup>2</sup> DS-TB *versus* HC; <sup>3</sup> MDR-TB *versus* HC; <sup>4</sup> Two hour serum rifampicin concentration; <sup>5</sup> Six hour rifampicin concentration; <sup>6</sup> Rifampicin maximum serum concentrations defined as the highest measurement independent of sample time collected; <sup>7</sup>Two-hour serum isoniazid concentration; <sup>8</sup>Six-hour serum isoniazid concentration; <sup>9</sup>Rifampicin maximum serum concentrations defined as the highest measurement independent of sample time collected; <sup>10</sup> Fisher Exact test.

**Table 4**– Correlation between the dose per kilogram of body weight of rifampin (RMP) and isoniazid (INH) with the serum concentrations of these drugs by multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), drug-susceptible tuberculosis (DS-TB) and healthy controls (HC).

GROUP		RMPdose (mg/kg)		INHdose (mg/kg)	
		r <sup>1</sup>	p	r <sup>1</sup>	p
MDR-TB	RCmax <sup>2</sup>	0.108	0.5573	0.113	0.5374
	ICmax <sup>3</sup>	0.384	<b>0.0298</b>	0.388	<b>0.0329</b>
DS-TB	RCmax <sup>2</sup>	0.058	0.7710	0.049	0.8036
	ICmax <sup>3</sup>	0.596	<b>0.0008</b>	0.615	<b>0.0005</b>
HC	RCmax <sup>2</sup>	0.529	<b>0.0027</b>	0.529	<b>0.0027</b>
	ICmax <sup>3</sup>	0.382	<b>0.0372</b>	0.378	<b>0.0396</b>

<sup>1</sup>Pearson's linear correlation; <sup>2</sup>Rifampin maximum serum concentration independent of sample time collected; <sup>3</sup>Isoniazid maximum serum concentration independent of sample time collected.

Figure 1

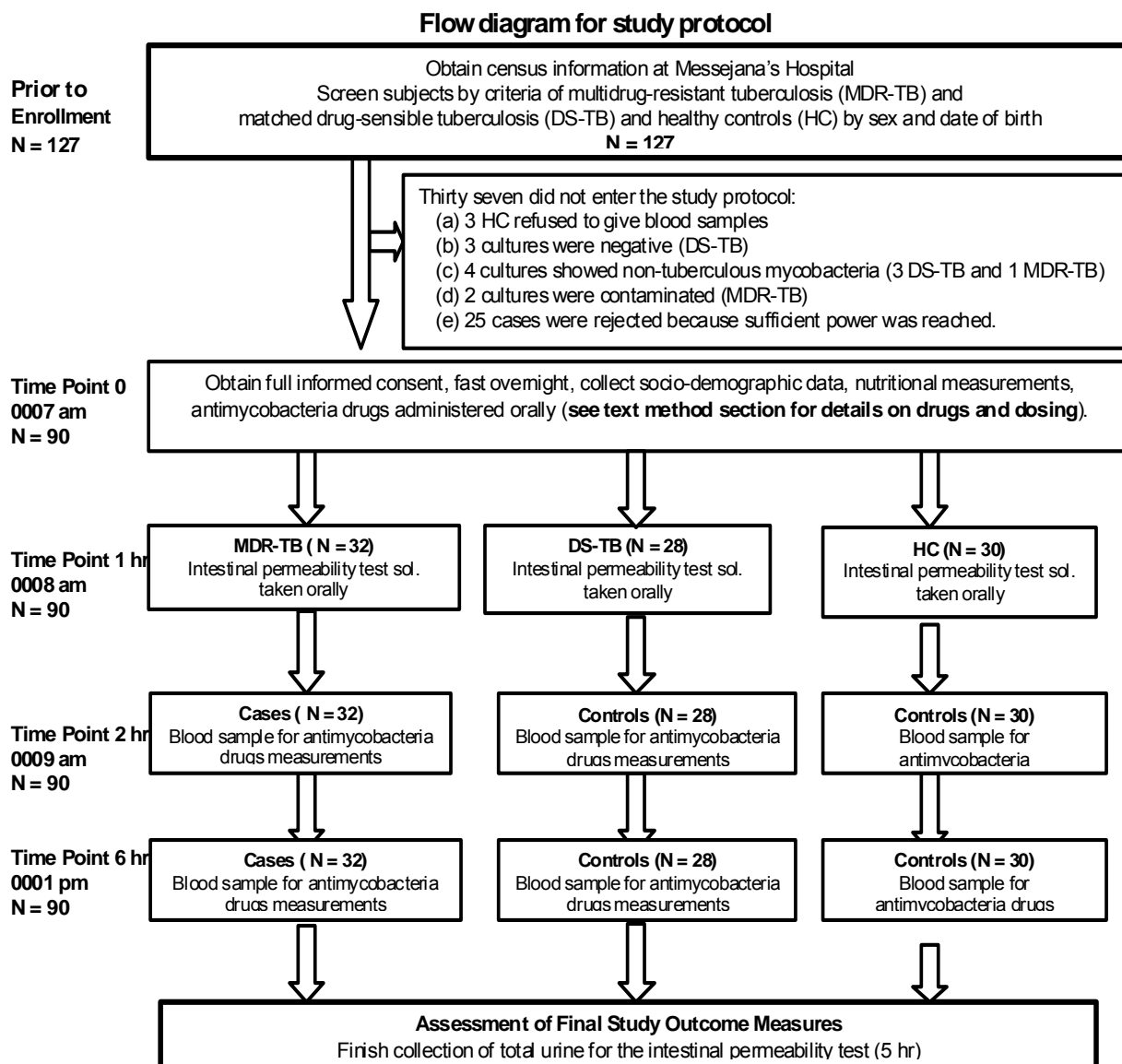




Figure 2

