



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

CAROLLINE DE ARAÚJO MARIZ

**Incidência e fatores associados à hepatotoxicidade durante o tratamento da
tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids com estudo do polimorfismo do gene
NAT2**

Recife - PE

2015

CAROLLINE DE ARAÚJO MARIZ

Incidência e fatores associados à hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids com estudo do polimorfismo do gene NAT2

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Medicina Tropical, área: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque.

Co-orientador: Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto.

Recife – PE

2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

M343i Mariz, Caroline de Araújo.
 Incidência e fatores associados à hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids com estudo do polimorfismo do gene NAT2 / Caroline de Araújo Mariz. – Recife: O autor, 2015.
 205 f.: il. tab.; quad.; 30 cm.

 Orientadora: Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque.
 Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.
 Inclui referências, apêndices e anexos.

 1. HIV. 2. Tuberculose. 3. Toxicidade. 4. Hepatopatia. 5. Polimorfismo genético I. Albuquerque, Maria de Fátima Pessoa Militão de (Orientadora). II. Título.

618.9883

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2016-004)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPEQ)
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

CAROLLINE DE ARAÚJO MARIZ

No dia 27 de março de 2015, às 13h30, na Sala Prof. Murillo La Greca - no 3º. and. do CCS/UFPE, os Membros Doutores: a **Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (UFPE)**, a **Profa. Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues (UFPE)**, a **Profa. Dra. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (UFPE)**, a **Profa. Dra. Joanna D'Arc Lyra Batista (UFRGS)** e o **Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho (UPE)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a doutoranda **CAROLLINE DE ARAÚJO MARIZ** sobre a sua Tese intitulada **"INCIDÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À HEPATOTOXICIDADE DURANTE O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS COM ESTUDO DO POLIMORFISMO DO GENE NAT2"**, a qual foi orientada pela **Profa. Dra. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque (CPqAM/FIOCRUZ)** e co-orientada pelo **Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes (UFPE)**. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Aprovada

Profa. Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Aprovada

Profa. Dra. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura

Aprovada

Profa. Dra. Joanna D'Arc Lyra Batista

Aprovada

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

Aprovado

Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Profa. Dra. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Profa. Dra. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura

Profa. Dra. Joanna D'Arc Lyra Batista

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

REITOR

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Nicodemos Teles de Pontes Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA TROPICAL**

Vera Magalhães da Silveira

CORPO DOCENTE

Ana Catarina de Souza Lopes

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André Brayner dos Santos

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Amélia Vieira Maciel

Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Marli Tenório Cordeiro

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vera Magalhães da Silveira

Vláudia Maria Assis Costa

CORPO DOCENTE COLABORADOR

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Rejane Pereira Neves

À minha família,
com todo o meu amor.
À memória da minha tia
Maria Marta de Araújo

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, minha eterna gratidão, por fazer-Se constante em minha vida, guiando-me e conduzindo-me a mais esta vitória. A cada dia, tenho a certeza de que Tu és uma fonte inesgotável de poder ilimitado, em que posso confiar e que tudo ocorre ao Seu tempo.

Aos pacientes do Hospital Correia Picanço, os quais, no seu anonimato e humildade, tornaram possível a concretização desta tese.

Aos meus pais, **Maria Wilma e Manuel Vicente**, meus maiores e melhores exemplos, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade. Todo o meu amor e reconhecimento pelo apoio, incentivo a minha educação e perseverança imensurável no que sempre me foi dado.

Aos meus irmãos, **Rafael e Camilla**, pela presença constante em minha vida.

Ao meu marido, **Arnóbio Mariz**, por acreditar que eu seria capaz de vencer mais este obstáculo e, por mais uma vez, criar condições pessoais, para que eu pudesse desenvolver a minha tese, e aos meus filhos **Lara, Arnóbio Neto e Luiz Eduardo**, motivo maior da minha existência, que certamente compreendem a grandeza deste momento, conquistado com lágrimas e coragem, mas, acima de tudo, com a certeza de vencer.

A minha avó, **Concessa**, uma mulher guerreira, de fortaleza admirável e muito querida por todos, por todo o amor e ensinamentos que me foram dados durante toda a minha vida.

Ao meu avô, **Nesinho Vicente**, *in memoriam*, exemplo de bondade e seriedade, com a certeza de que de, onde estiver, estará vibrando por mais esta vitória. Saudades, muitas saudades...

À **Lia e Mauricéia**, pela compreensão, paciência, dedicação e carinho dispensados aos meus filhos durante os momentos de minha ausência.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos, sobre os quais tenho consciência de que é impossível citar a todos, pela fidelidade, apoio e torcida para a concretização de mais esta etapa da minha vida.

A minha Orientadora, **Profª. Drª. Fátima Militão**, exemplo de honestidade e competência científica, por ter aceitado o desafio de me orientar mais uma vez e pelo estímulo constante nas horas de recomeço. Hoje, faltam-me palavras para agradecer toda a dedicação, apoio, força e aprendizado desde o início da minha trajetória no mestrado. Sinto-me honrada em poder ter sido orientada pela senhora. Muito obrigada por tudo!

Ao **Prof. Dr. Edmundo Lopes**, pela oportunidade que me foi dada desde a época do mestrado, quando me apresentou a Dra. Fátima e me proporcionou o ingresso no mundo

científico. Também me faltam palavras para agradecer toda dedicação, competência e apoio que sempre me foram dados.

Ao **Dr. Bartolomeu Acioli dos Santos**, por acreditar no meu projeto e pela colaboração na condução do estudo genético.

À **Dr^a. Magda Maruza e Dr^a. Líbia Moura**, pela amizade, apoio, colaboração e aprendizado constante.

À **Dr^a. Silvana Barreto**, pelo apoio e paciência que me foi dispensado no processamento das amostras.

Ao **Dr. Ulisses Montarroyos**, pela competência, paciência e disponibilidade em me facilitar a compreensão das análises estatísticas.

À **Daniela Salustiano, André Pastor, Brena Belfort e Bruno Correia**, pela disponibilidade, apoio e importantes colaborações para o crescimento deste trabalho.

À **Adriana Paula, Karita, Lila, Marcelo, Tássia, Perla, RONALDA, Rose, Lourdinha, Vânia e Fabiana**, pelo compromisso e colaboração na realização das entrevistas e coleta das amostras.

A todos que fazem o **LaViTe**, que me acolheram de forma tão carinhosa e paciente, por toda a infraestrutura que foi disponibilizada para a realização do estudo genético. Certamente, não teria conseguido avançar sem o apoio de todos vocês.

A **Adagilson Silva e Edna Meirelles**, pela amizade e presteza na busca pelos artigos científicos.

Aos Professores membros do corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, especialmente ao professor **Dr. Ricardo Ximenes** pelos ensinamentos científicos, apoio e oportunidade de aprendizado pessoal.

Aos colegas do Doutorado, em especial **Ana Lúcia Fontenele, Ana Paula Sampaio, Glaydes Torres e Kleodoaldo Lima** pelo companheirismo, amizade e por todos os momentos que dividimos.

A **Walter Galindo**, sempre muito atencioso e prestativo para resolver os diversos assuntos acadêmicos.

A todos os que fazem o **Grupo AIDS-PE** pelo acolhimento e oportunidade que me foram dados os meus sinceros agradecimentos.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer”

(Gandhi)

RESUMO

Pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA), diagnosticadas com tuberculose (TB) ativa, apresentam uma maior probabilidade em desenvolver reações adversas devido à reconhecida toxicidade hepática tanto dos antirretrovirais quanto dos tuberculostáticos. Esta tese resultou em três artigos originais e teve como principal objetivo estimar a incidência e identificar fatores associados ao desenvolvimento de hepatotoxicidade, verificar a ocorrência dos marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C e fatores associados, além de verificar a associação entre polimorfismos e haplótipos do gene NAT2 e a ocorrência de hepatotoxicidade após o início do tratamento da TB em PVHA. Uma coorte de 173 indivíduos com infecção pelo HIV foi monitorada no Hospital Correia Picanço, durante o período de outubro de 2007 a agosto de 2012. Todos os pacientes tiveram as enzimas aminotransferases dosadas antes do início do tratamento para TB e 30 e 60 dias depois. Realizou-se análise de regressão logística bivariada e multivariada, e a magnitude das associações foi expressa pelo Odds Ratio (OR) como uma estimativa do risco relativo com intervalo de confiança de 95%. A incidência de hepatotoxicidade durante o tratamento para TB em PVHA foi 30,6% e foi demonstrada no primeiro artigo. O uso de fluconazol, a desnutrição e ser classificado fenotipicamente como acetilador lento para o gene NAT2 foram fatores associados de forma independente à hepatotoxicidade. No segundo artigo, entre os 173 pacientes avaliados antes do início do tratamento para TB, 166 (95,9%) foram investigados quanto à presença de marcadores sorológicos HBV e HCV, cuja prevalência na população foi de, respectivamente, 36,7% e 6,6%. Os homens com 40 anos ou mais apresentaram um risco maior de infecção pelo HBV. O terceiro artigo evidencia a associação da presença do alelo variante nos *loci* polimórficos C282T e G590A do gene NAT2 à hepatotoxicidade após o início de drogas antituberculose em PVHA. Indivíduos portadores de haplótipos GT/GT e GT/AC apresentam um risco de até 4,4 vezes, para desenvolver hepatotoxicidade ($p < 0,005$). Acredita-se que pesquisas sobre este tema possam contribuir para tornar o tratamento da TB individualizado principalmente em PVHA, por meio da adaptação das drogas e suas dosagens, de acordo com o perfil genético baseado em haplótipos funcionais do Gene NAT2. Recomenda-se que o uso de fluconazol deve ser evitado em PVHA durante o tratamento da tuberculose.

Palavras-chave: HIV. Tuberculose. Toxicidade. Hepatopatia. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

People living with HIV/AIDS (PLWHA), diagnosed with active tuberculosis (TB), are more likely to develop adverse reactions due to liver toxicity both of the antiretroviral as of tuberculosis treatment. This thesis resulted in three original articles that aimed to estimate the incidence and risk factors associated with the development of hepatotoxicity, to verify the occurrence of serological markers of hepatitis B and C and related factors, and the association between polymorphisms and haplotypes the NAT2 gene and the occurrence of hepatotoxicity after initiation of treatment for TB in PLWHA. A cohort of 173 individuals with HIV infection was followed up in Correia Picanço Hospital, during the period from October 2007 to August 2012. All patients had aminotransferase enzymes dosed prior to the start of treatment for TB and 30 and 60 days after. We conducted a bivariate and multivariate logistic regression analysis and the magnitude of the associations was expressed by odds ratio (OR) as an estimate of relative risk with 95% confidence interval. The first article showed the incidence of hepatotoxicity in PLWHA during treatment for TB, that was 30.6%. The use of fluconazole, malnutrition and be classified phenotypically as slow acetylators for NAT2 gene have been the independent factors associated of hepatotoxicity. In the second article, among the 173 patients evaluated before the initiation of treatment for TB, 166 (95.9%) were investigated for the presence of serological markers HBV and HCV, whose prevalence in the population was, respectively, 36.7% and 6.6%. Men aged 40 years and older had a higher risk of HBV infection. The third article highlights the association between the presence of the variant allele in the polymorphic *loci* C282T and G590A of NAT2 gene and the occurrence of hepatotoxicity after initiation of antituberculosis drugs for PLWHA. Individuals with haplotypes GT/GT and GT/AC present a risk of up to 4.4 times for developing hepatotoxicity ($p < 0.005$). We believe that research on this topic, can contribute to make individualized treatment of tuberculosis, mainly in PLWHA, through the adaptation of drugs and their dosages, according to the genetic profile based on functional gene NAT2 haplotypes. We recommend that the use of fluconazole should be avoided in PLWHA during tuberculosis treatment.

Keywords: HIV. Tuberculosis. Toxicity. Liver disease. polymorphism, Genetic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o uso de drogas antituberculosas segundo revisão da literatura (2007-2013)	33
Figura 1	Modelo teórico para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em PVHA.	38
Figura 2	Critérios metodológicos adotados para a condução dos três estudos que compõem a tese. Recife, 2007 – 2012.	41
Figura 3	Eletroforese em gel de agarose 1% de DNA genômico de 96 amostras diferentes a partir de sangue total, utilizando o Kit de Extração Mini Cent Bio Pur(Biometrix®, Brasil).	47
Figura 4	Gel de agarose 1% com produtos da PCR/NAT2 : (1) Marcador de peso molecular; (2-16) produto de PCR com 667pb contendo a região codificante de NAT2.	48
Figura 5	Identificação do SNP G590A por meio da visualização do cromatograma no software ApE. (A) Genótipo ancestral homozigoto. (B) Genótipo heterozigoto. (C) Genótipo variante.	48
Figura 6	Fluxograma da Pesquisa	51
Figura 7	Resultado da pesquisa dos marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C em 166 pacientes com HIV/Aids e Tuberculose ativa. Recife, 2007 – 2012.	58
Figura 8	Resultado da pesquisa do HBV-DNA em pacientes com HIV/Aids, tuberculose ativa e Anti-HBc total reagente. Recife, 2007-2012.	59
Gráfico 1	Frequência de sintomas entre os casos de hepatotoxicidade.	52
Gráfico 2	Média de tempo de uso de ARV entre os pacientes que iniciaram TARV antes do tratamento para tuberculose.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Análise Univariada da Associação entre Fatores Biológicos e de Hábitos de Vida e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	53
Tabela 2	Análise Univariada da Associação entre Fatores Clínicos e Laboratoriais e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	54
Tabela 3	Genótipos do Gene NAT2 classificados de acordo com o Comitê Internacional de Nomenclatura do Gene NAT2 e Perfil Fenotípico Acetilador em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	55
Tabela 4	Análise Univariada da Associação entre o Uso de Drogas para o Tratamento de Outras Doenças Oportunistas e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	56
Tabela 5	Análise Multivariada da Associação entre Fatores Estudados e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	57
Tabela 6	Análise Univariada da Associação de Fatores Biológicos, Sócio-demográficos e de Hábitos de Vida com a Ocorrência de Marcadores Sorológicos do Vírus da Hepatite B em Pacientes com HIV/Aids e Tuberculose. Recife, 2007 – 2012	60
Tabela 7	Análise Multivariada da Associação de Fatores Biológicos, Sócio-demográficos e de Hábitos de Vida com a Ocorrência de Marcadores Sorológicos do Vírus da Hepatite B em Pacientes com HIV/Aids e Tuberculose. Recife, 2007 – 2012	61
Tabela 8	Distribuição de Frequências de Variáveis Biológicas, Clínicas e Laboratoriais em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	62
Tabela 9	Distribuição de Frequências Alélicas e Genotípicas dos Sete <i>Loci</i> (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) do Gene NAT2 em PVHA e TB e Pacientes Saudáveis. Recife, 2007 – 2012	63
Tabela 10	Análise Univariada da Associação entre Sete Polimorfismos de Único Nucleotídeo do Gene NAT2 e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012	64
Tabela 11	Comparação Geral entre Combinações de Haplótipos do Gene NAT2 (rs1799930 x rs1041983) e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 a 2012	65
Tabela 12	Comparação Individual entre o Efeito Genotípico de Haplótipos do Gene NAT2 (rs1799930 x rs1041983) e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 a 2012	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
Acetil-coA	acetil-coenzimaA
ACTG	Aids Clinical Trials Group
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ALT	Alanina aminotransferases
anti-HBc	anticorpo total contra o antígeno do núcleo (core) do vírus da hepatite B
anti-HBe	anticorpo contra o antígeno “e” do vírus da hepatite B
anti-HBs	anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV	anticorpo contra o antígeno do vírus da hepatite C
ARV	Antirretroviral
AST	aspartato aminotransferases
BC	bilirrubina conjugada
BT	bilirrubina total
C	Citosina
CD4	célula linfocitária com proteína de superfície da membrana celular 4
CIOMS	Council for International Organizations of Medical Sciences
CNCT	Campanha Nacional Contra a Tuberculose
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
CYP	citocromo P450
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
E	Etambutol
FA	Fosfatase alcalina

FioCruz	Fundação Oswaldo Cruz
G	Guanina
H	Isoniazida
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy - Terapia Antirretroviral Altamente Potente
HBeAg	Antígeno “e” do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HBV-DNA	DNA do vírus da hepatite B
HCP	Hospital Correia Picanço
HCV	Vírus da hepatite C
HIV	Human Immunodeficiency Virus - Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	human leukocyte antigen / antígeno leucocitário humano
H-W	Hardy-Weinberg
IC	intervalo de confiança
IMC	índice de massa corpórea
IP	inibidor da protease
IP/r	Inibidor da protease/ritonavir
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo
Lacen-PE	Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco
LaViTe	Laboratório de virologia e terapia experimental
MgCl	Cloreto de magnésio
µl	Microlitro
mM	Milimolar
NAT2	N-acetiltransferase2

OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde / World Health Organization
OR	Odds ratio
Pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PVHA/PLWHA	Pessoas vivendo com HIV/Aids / People living with HIV/AIDS
R	Rifampicina
RIP / RHZ	Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida
RIPE / RHZE	Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida, Etambutol
SINAN	Sistema de Notificação e Agravos de Notificação
SNP	Single nucleotide Polymorphisms
T	Timina
TARV	Terapia antirretroviral
TaqDNA polimerase	enzima isolada de uma bactéria termofílica <i>Thermus aquaticus</i> a qual consegue reproduzir, em laboratório, a síntese de DNA igual à que ocorre em seres vivos (sentido 5'-3').
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
ULN / LSN	Upper Limit of Normal / Limite superior da normalidade
Z	Pirazinamida

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	19
2 INTRODUÇÃO	21
3 REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1 Epidemiologia da coinfeção HIV e Tuberculose: impacto da associação	24
3.2 O tratamento antituberculose e antirretroviral em pessoas vivendo com HIV	25
3.3 Hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose	28
3.4 Definição de caso de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas com e sem infecção pelo HIV	30
3.5 Fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade pelo uso de drogas antituberculose	31
3.6 A presença da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) e C (HCV) em pacientes coinfectados HIV/TB	34
3.7 A isoniazida e o seu mecanismo de metabolização	35
3.8 O Polimorfismo genético NAT2	36
4 MODELO TEÓRICO	38
5 OBJETIVOS	39
5.1 Objetivo geral	39
5.2 Objetivos específicos	39
6 MATERIAL E MÉTODO	40
6.1 Desenho do estudo	40
6.2 Local do estudo	40
6.3 População do estudo	40
6.4 Critérios de inclusão	40
6.5 Critérios de exclusão	40
6.6 Período de seguimento da coorte	41

6.7 Definição do tamanho da amostra e Amostragem	41
6.8 Definição de termos e variáveis de estudo	42
6.8.1 Definição de termos	42
6.8.1.1 Caso de tuberculose	42
6.8.1.2 Soropositividade para o HIV	42
6.8.2 Definição e categorização de variáveis	42
6.9 Considerações éticas	44
6.10 Coleta e processamento de dados	45
6.10.1 Coleta de dados	45
6.10.2 Descrição de técnicas	46
6.10.3 Genotipagem do gene NAT2	47
6.11 Análise de dados	49
7 RESULTADOS	50
8 DISCUSSÃO	67
9 RECOMENDAÇÕES	76
10 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	90
APÊNDICE B – Questionário Padronizado	93
APÊNDICE C – Ficha de Coleta de dados	103
APÊNDICE D – Ficha de monitoramento da coorte de tuberculose	123
APÊNDICE E – Artigo 1 - Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS	127

APÊNDICE F – Artigo 2 - Artigo publicado no <i>Journal of Medical Virology</i> - Serological Markers of hepatitis B and C in patients with HIV/AIDS and active tuberculosis - DOI:10.1002/jmv.24432	159
APÊNDICE G – Artigo 3 - New haplotypes NAT2 gene signatures (SNPs C282T and G590A) are strongly associated with hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS, during tuberculosis treatment	181
ANEXO A – Aprovação do comitê de ética e pesquisa do CCS/UFPE	205

1 APRESENTAÇÃO

O GRUPO AIDS/PE, formado por docentes, pesquisadores e profissionais da área da saúde das Universidades Federal e Estadual de Pernambuco e Secretaria de Saúde do Estado, constituiu-se com o propósito de estudar vários aspectos da infecção pelo HIV. Três projetos de pesquisa foram desenvolvidos no Hospital Universitário Oswaldo Cruz e no Hospital Correia Picanço, os quais, juntos, correspondem a cerca de 75% do atendimento a pessoas que vivem com HIV/Aids no Estado de Pernambuco. Um desses projetos teve como objeto de estudo a coinfeção tuberculose/HIV e intitulou-se “Estudo clínico-epidemiológico da coinfeção tuberculose/HIV”, coordenado por Dr^a. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque, minha orientadora, e vice-coordenado por Dr^a. Magda Maruza. Dentre as perguntas às que o estudo clínico-epidemiológico da coinfeção tuberculose/HIV buscou responder, estava qual a incidência e os fatores associados ao desenvolvimento da hepatotoxicidade após o início do tratamento para tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids, o que se tornou objeto de estudo da presente tese.

Participar desta pesquisa no Hospital Correia Picanço e, posteriormente, dar continuidade ao projeto no Laboratório de Virologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – LaViTe/CPqAM foi um enorme desafio. Estudar a infecção pelo HIV/Aids — uma epidemia mundial, apesar de todos os avanços científicos relacionados a uma melhor compreensão da dinâmica da infecção pelo HIV e da eficácia da terapia antirretroviral — e sua associação com a tuberculose tornou-se um dos principais fatores que motivaram a busca do conhecimento.

Estudar a toxicidade hepática produzida pelo uso de medicamentos para tratar tuberculose em PVHA tornava-se necessário, dado que seu mecanismo não estava bem esclarecido na literatura. Muitas foram as dificuldades operacionais para o desenvolvimento deste estudo. Garantir a coleta de sangue e a dosagem das enzimas hepáticas dos pacientes recrutados antes que iniciassem o tratamento para tuberculose e aos 30 e 60 dias após o início do tratamento demandou dedicação, presença no Serviço e muito trabalho.

Do ponto de vista acadêmico, novos conhecimentos foram sendo incorporados — o raciocínio epidemiológico, a compreensão dos mecanismos fisiopatogênicos da hepatotoxicidade —, mas talvez o maior desafio tenha sido estudar o polimorfismo do Gene NAT2. Novos conceitos e novas práticas foram necessários, pois, além de cursar

durante seis meses a disciplina de Genética, foi preciso sobrepujar durante o processo de aprendizagem de procedimentos de laboratório. Após um ano de otimização da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), finalmente consegui visualizar a famosa “bandinha” que tanto procurava, e, a partir daí, a pesquisa fluiu. Vieram os sequenciamentos, as análises dos sequenciamentos e, atrelado a tudo isso, a descoberta do quanto é maravilhoso aprender. Ao final dessa etapa, precisei integrar as três áreas de conhecimento — a genética, a hepatologia e a epidemiologia — para a análise dos estudos. Nesse caminho, contei com o apoio e a dedicação de meus orientadores, Dr^a. Fátima Militão e Dr. Edmundo Lopes, de Dr. Bartolomeu Acioli dos Santos, e de toda a equipe da pesquisa.

E, assim, nasceu esta tese, mais um fruto do GRUPO AIDS/PE.

2 INTRODUÇÃO

O tratamento para tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA) não difere do recomendado para a população em geral. No entanto, a reconhecida toxicidade hepática produzida tanto pelos tuberculostáticos como pelos antirretrovirais pode ser agravada pela associação dos dois esquemas terapêuticos e, conseqüentemente, pela maior probabilidade em causar o desenvolvimento de reações hepáticas adversas (HAVLIR et. al., 2011).

Atualmente, no Brasil, o Ministério da Saúde preconiza o tratamento da tuberculose por meio do uso diário de quatro medicamentos (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol) durante um período mínimo de dois meses, seguido da manutenção de dois desses fármacos (Rifampicina e Isoniazida) por mais quatro meses. A associação medicamentosa adequada, as doses corretas e o uso por tempo suficiente, com supervisão da tomada dos medicamentos, são os meios para evitar a persistência bacteriana e o desenvolvimento de resistência às drogas, assegurando, assim, a cura do paciente (BRASIL, 2011).

A hepatotoxicidade é uma reação adversa grave frequentemente observada durante o tratamento para tuberculose (COCA et. al., 2010), cuja incidência pode variar entre 2 e 28% (TOSTMANN et. al., 2007). Parece não haver consenso entre os pesquisadores no que se refere à ocorrência diferenciada de hepatotoxicidade pelo uso de drogas para o tratamento da tuberculose em pessoas com e sem o HIV (BREEN et. al., 2006; HOFFMAN et. al., 2007; EL-SADR et. al., 2008). Idade, sexo, desnutrição, etilismo, hepatite crônica B e/ou C, infecção pelo HIV, polimorfismo genético do gene NAT2, dentre outros, são referidos pela literatura como sendo fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade induzida pelo uso de drogas antituberculose (CHALASANI; BJORNSSON, 2010; LEE et. al., 2010; TEIXEIRA et. al., 2011).

A enzima NAT2 participa ativamente do processo de metabolização da isoniazida no fígado. Segundo Matos & Martins (2005), a N-acetilação é fundamental para a metabolização de inúmeros fármacos, sendo conhecido, desde há algum tempo, o fenótipo dos acetiladores lentos e rápidos da isoniazida. A associação entre o fenótipo NAT2 acetilador lento e a hepatotoxicidade induzida por drogas para o tratamento da tuberculose tem sido reportada em diferentes populações (OHNO et al., 2000; HUANG et al., 2002; CHO et. al, 2007; POSSUELO et. al. 2008; LEE et. al. 2010; TEIXEIRA et. al., 2011; BEN MAHMOUD et. al., 2012).

Estudo realizado por Possuelo et. al. (2008) no sul do Brasil revelou que 64,3% dos pacientes que apresentaram hepatotoxicidade induzida por drogas tuberculostáticas eram acetiladores lentos. Os mesmos enfatizaram, contudo, que dados da farmacogenética obtidos na população estudada não poderiam ser comparados com outras populações brasileiras, uma vez que o Brasil é um país que possui uma das populações mais heterogêneas do mundo.

Apesar das evidências demonstradas, em diversas populações, de que a distribuição dos alelos codificadores para o gene NAT2 bem como o relato de outros fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade divergem de acordo com a etnia, existem poucos estudos pertinentes a este tema envolvendo pessoas com o HIV, desenvolvidos no Brasil. De modo particular, até o presente momento, ainda não foram publicados estudos sobre o tema em questão na região Nordeste. A escassez de tais estudos sobre este tema nessa região e, em especial, no Estado de Pernambuco motivou a autora a desenvolver o presente trabalho, cujos resultados serão apresentados em três artigos originais.

No primeiro artigo, intitulado: **“Hepatotoxicidade durante o tratamento para a tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids”**, relatam-se os resultados de um estudo de coorte prospectivo de pessoas vivendo com HIV/Aids e diagnóstico de tuberculose ativa em Pernambuco. O objetivo do estudo foi estimar a incidência e identificar os fatores associados ao desenvolvimento de hepatotoxicidade após o início do tratamento da tuberculose nesta população.

Em um segundo artigo, intitulado: **“Marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C em pacientes com HIV/Aids e diagnóstico de tuberculose ativa”**, o objetivo do estudo foi verificar a prevalência de marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C e fatores associados em pacientes com HIV/Aids e diagnóstico de TB ativa.

O terceiro artigo, intitulado: **“Novas assinaturas de haplótipos do Gene NAT2 (SNPs C282T e G590A) estão fortemente associadas ao desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids”**, buscou elucidar a associação dos polimorfismos (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) e haplótipos do Gene NAT2 e a ocorrência de hepatotoxicidade durante o tratamento da TB em PVHA em Pernambuco.

A possibilidade de minimizar o efeito hepatotóxico produzido pelo uso de drogas antituberculose — não só na população com HIV, em que a polifarmácia é uma rotina, mas

também na população não infectada pelo vírus — justificou a execução deste trabalho. A elucidação dos mecanismos genéticos envolvidos no desenvolvimento da hepatotoxicidade pode contribuir, para, em um futuro próximo, tornar o tratamento da tuberculose individualizado, por meio da adaptação das drogas e suas dosagens de acordo com o perfil genético de cada doente. Sendo assim, espera-se que o conhecimento produzido forneça subsídios para a implementação de condutas e protocolos de acompanhamento, além de estabelecer critérios distintos para o uso de medicações entre os subgrupos que possuem um maior potencial em desenvolver reações adversas no fígado.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Epidemiologia da coinfeção HIV e Tuberculose: impacto da associação

O aumento da incidência de tuberculose em várias partes do mundo, sobretudo nos países subdesenvolvidos, tem sido atribuído, entre outros fatores, à coinfeção HIV/TB, que é responsável pelo elevado número de tuberculose pulmonar com baciloscopia negativa e formas extrapulmonares de difícil diagnóstico (KRITSKI et. al., 2005; SWAMINATHAN et. al., 2010).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) estimam que, dos 8,6 milhões de novos casos de tuberculose no mundo em 2012, 1,1 milhão (13%) estava entre pessoas que vivem com o HIV. Nesse mesmo período, houve 1,7 milhão de óbitos em decorrência da tuberculose, dos quais 400.000 (24%) ocorreram em pessoas coinfectadas HIV/TB. A tuberculose é uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre pessoas vivendo com o HIV no mundo (WHO, 2013).

O Brasil é um dos 22 países priorizados pela OMS, os quais representam 80% da carga mundial de Tuberculose. Em 2012, 69.461 casos novos de tuberculose foram notificados no país, com taxa de incidência de 35,8 casos/100.000 habitantes (BRASIL, 2013).

No Estado de Pernambuco, em 2013, o coeficiente de incidência de tuberculose foi de 49,3/100.000 habitantes, dos quais 11,6% ocorreram em pessoas vivendo com o HIV. Salienta-se que estes índices foram maiores do que os observados no Brasil e na própria região Nordeste (34,4/100.000 habitantes) (BRASIL, 2014).

É frequente a descoberta da soropositividade para HIV durante o diagnóstico da tuberculose. Estima-se, no Brasil, que, embora a oferta de testagem seja de aproximadamente 70%, apenas cerca de 50% têm acesso ao seu resultado em momento oportuno, com uma prevalência de positividade de 15% (BRASIL, 2010). Em Recife, um inquérito epidemiológico envolvendo 1.500 pacientes que iniciaram tratamento para tuberculose nos serviços de saúde do município, entre maio de 2001 e julho de 2003, revelou que a prevalência de infecção pelo HIV foi de 8%. O estudo registrou, contudo, que um percentual importante de pacientes não realizou a sorologia para HIV, apesar de

esta ter sido indicada (SANTOS et. al., 2005). Outro estudo de prevalência, também conduzido em Recife, no período entre agosto e outubro de 2009, revelou que, dos 88% dos indivíduos que iniciaram tratamento para tuberculose, 5,1% deles estavam infectados pelo HIV (VILELA et al., 2013). Este dado indica que há uma queda na prevalência de casos de HIV diagnosticados no início do tratamento da tuberculose no município de Recife. De modo particular, Recife é a capital brasileira que apresenta o maior coeficiente de mortalidade (8,0/100.000 habitantes) por tuberculose (BRASIL, 2014).

O risco de indivíduos HIV positivos e infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* desenvolver tuberculose é estimado ser entre 20 e 37 vezes maior do que entre aqueles infectados apenas pelo bacilo (WHO, 2011). Enquanto pessoas infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis* e sem o HIV apresentam risco de adoecimento médio de 5 a 10% durante toda a vida, aqueles com HIV passam a ter um risco de adoecer de 5 a 10% ao ano, o que demonstra o efeito altamente nocivo da associação entre as duas doenças (JAMAL; MOHERDAUI, 2007).

A interação existente entre o *Mycobacterium tuberculosis* e o HIV é sinérgica e bidirecional, ou seja, resulta em uma progressão mais rápida tanto da tuberculose como da infecção pelo HIV. A infecção pelo HIV acelera o desenvolvimento de formas graves da tuberculose, e esta, por sua vez, leva à redução na contagem de linfócitos CD4, intensificando a imunossupressão provavelmente como resultado de um aumento da atividade viral (ROSAS-TARACO et al., 2006; UIP, LEWIS, PEDRO, 2007).

3.2 O tratamento antituberculose e antirretroviral em pessoas vivendo com HIV

A tuberculose foi endêmica em vários países da Europa em séculos passados. Na Inglaterra, por exemplo, durante a Revolução Industrial, que chegou ao seu apogeu na segunda metade do século XVIII, o empobrecimento das grandes cidades e centros urbanos levou à disseminação da tuberculose, também denominada peste branca. Em Londres, o coeficiente de mortalidade por TB chegou a 1.100 por 100 mil habitantes (DANIEL, 2006).

A descoberta do bacilo da tuberculose por Robert Koch, em 1882, surgiu na época em que 30 a 50% dos óbitos, nas idades produtivas, eram devidos exclusivamente à tuberculose, e o tratamento nada mais era que uma meditação para a morte, afirmava o grande professor e médico Sigismond Jaccoud (NEVES, 1982). Essa descoberta foi um

marco fundamental para o conhecimento da doença e impulsionou várias tentativas de controle e tratamento desta enfermidade. Os medicamentos utilizados neste tempo eram feitos à base de quinino, creosoto, enxofre, cálcio e preparados de ouro e bismuto (MURRAY, 2004), e o crescente medo do perigo de contágio fez com que o isolamento, a assepsia e a boa alimentação fossem recomendados e praticados durante décadas (GONÇALVES, 2000).

Em 1890, Koch, por meio de experiências com animais, acreditou que a tuberculina, substância elaborada pelo bacilo da tuberculose, poderia fazer regredir as lesões pulmonares dos tísicos e publicou o célebre artigo “Sobre um remédio para a cura da Tuberculose”. A generalização, logo após a descoberta desta terapêutica, foi rápida, porém a administração da tuberculina em altas doses causou intensas reações alérgicas e destruições pulmonares, e, por ironia da história, esse foi o tratamento que causou maior mortandade entre os tuberculosos (MONTEIRO, 1945; ZWERLING et al., 2011).

A tuberculose no século XX caracterizou-se por altas taxas de mortalidade, sobretudo até o final dos anos 40. A partir de então, começaram a ser utilizados medicamentos para o tratamento da doença (MACIEL, MENDES, GOMES et al., 2012). Apesar da descoberta da estreptomicina em 1944 e da eficácia demonstrada laboratorialmente da isoniazida no tratamento da TB em 1952, apenas na década de 1960, o esquema com três antibióticos (estreptomicina, ácido para-amino-salicílico e isoniazida) foi instituído, e a cura da doença, alcançada em cerca de 95% (HIJJAR et al., 2007; SLOAN, DAVIES, KHOO, 2013). Tal fato levou as nações desenvolvidas a acreditarem na erradicação da TB ou, pelo menos, no seu controle nos países industrializados.

Contudo, a migração populacional, a crise sócio-financeira mundial, o turismo que movimentava milhões de pessoas por ano, o aparecimento de cepas resistentes aos fármacos utilizados na terapêutica e o surgimento da síndrome da imunodeficiência humana adquirida (Aids), na década de 1980, demonstraram que mesmo os países ricos não estão protegidos da TB. Muito pelo contrário, a epidemia pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), associada aos fatores supracitados, tornou a TB um grave problema de saúde pública mundial (WHO, 2006).

No Brasil, o esquema de tratamento da tuberculose foi padronizado em 1964 com a Campanha Nacional Contra a Tuberculose (CNCT). Com a introdução do esquema 2HRZ/4HR (isoniazida – H, rifampicina – R e pirazinamida – Z) em 1979, a duração do tratamento passou de 12 para 6 meses, o que pode ter contribuído, na época, para a maior

adesão à terapia medicamentosa e consequente redução de mortalidade (ANTUNES; WALDMAN; MORAES, 2000). O esquema 2HRZ/4HR foi utilizado por 30 anos.

Em 2009, as taxas de resistência às drogas utilizadas no tratamento da tuberculose (6,0% para isoniazida e 1,4% para combinação isonizida + rifampicina), em comparação à década de 1990, aumentaram. Objetivando evitar a expansão da resistência aos medicamentos e garantir maiores taxas de cura, foi proposta a introdução de uma 4ª droga ao esquema, o etambutol (BRASIL, 2009). Desde então, o tratamento completo tem duração de seis meses e é dividido em duas fases. Na 1ª fase, também denominada fase intensiva ou fase de ataque, que tem duração de dois meses, os medicamentos utilizados são a rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol. Na 2ª fase, também denominada fase de manutenção, que tem duração de quatro meses, os medicamentos utilizados são apenas rifampicina e isoniazida (BRASIL, 2009; CONDE et. al., 2009).

O tratamento da tuberculose em pacientes com infecção pelo HIV segue as mesmas recomendações para os não infectados, tanto nos esquemas quanto na duração total do tratamento. A introdução precoce da terapia antirretroviral (TARV) concomitante ao tratamento da TB aumenta a expectativa de vida de indivíduos com infecção pelo HIV, diminuindo a mortalidade em 56%, conforme mostrou o estudo de Karim et al. (2010). Outro estudo, conduzido por Blanc et. al. (2011), demonstrou que a introdução de drogas antirretrovirais após 2 semanas de iniciado tratamento para tuberculose aumenta o risco de reação paradoxal, porém reduz o risco de morte entre pessoas adultas infectadas pelo HIV, as quais possuem contagem de linfócitos CD4 < 200 cél./mm³. Por outro lado, Breen et. al. (2006), ao compararem indivíduos coinfectados com contagem de linfócitos CD4 < 100 cél./mm³ com aqueles possuindo contagem de linfócitos CD4 > 100 cél./mm³ no momento do diagnóstico da tuberculose, afirmaram não existir diferença na ocorrência de reações adversas ou interrupção de tratamento, quando a TARV foi iniciada antes do tratamento para tuberculose, dentro de ou após dois meses de iniciado o tratamento antituberculose.

No Brasil, o Ministério da Saúde preconiza a realização da contagem de linfócitos CD4 antes do início da TARV, se possível, em torno do 15º dia de tratamento da tuberculose, quando o efeito da transativação heteróloga (elevação transitória da carga viral e diminuição da contagem de linfócitos CD4 em decorrência da presença da tuberculose) é menos evidente, independente da forma clínica da tuberculose. De forma geral, em todo paciente coinfectado com TB/HIV, recomenda-se o início de TARV

independente do resultado da contagem de linfócitos CD4 devido ao elevado risco de óbito nos três primeiros meses de tratamento da tuberculose (BRASIL, 2013).

Muito embora tenham sido obtidos avanços significativos com os progressos da TARV no que se refere à redução drástica da mortalidade e morbidade da Aids, a incidência de efeitos adversos decorrentes do uso de drogas antirretrovirais permanece elevada (CARVALHO FILHO, 2007). O tratamento da tuberculose em pessoas com infecção pelo HIV é complexo, pois, dada a reconhecida toxicidade e exigências de adesão dos dois esquemas terapêuticos, o início concomitante de ambos, além de proporcionar o aumento do risco de intolerância medicamentosa e impor dificuldades de identificar qual droga está associada a uma possível toxicidade, aumenta o risco de reações paradoxais (KRITSKI et. al., 2005; ÚRIZ et. al., 2007; BRASIL, 2009).

Descreve-se importante interação medicamentosa entre a rifampicina, os inibidores da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo (ITRNN) e os inibidores da protease (IP), que reduzem drasticamente os níveis plasmáticos destas duas classes de antirretrovirais. É válido lembrar que estes antirretrovirais utilizam a mesma via de metabolização e, por conseguinte, tornam o tratamento antirretroviral ineficaz e aumentam as chances de resistência do vírus ao medicamento (DEAN et. al., 2002; KRITSKI et. al., 2005). Por outro lado, a concentração plasmática da rifampicina, quando administrada conjuntamente com os ITRNN e os IP, não é comprometida, pois, apesar de ser uma potente indutora do citocromo P450 (CYP 3A4), possui via de metabolização diferente (RACHID; SCHECHTER, 2008).

Há poucas opções reais de ARV potente para pacientes com tuberculose devido à oscilação dos níveis séricos de ITRNN e IP provocada pelo uso da rifampicina (UIP; LEWIS; PEDRO, 2007). Atualmente, é recomendada a utilização de esquemas antirretrovirais compostos por dois inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN) + efavirenz como a primeira opção de escolha de terapia antirretroviral para pacientes em uso de rifampicina (BRASIL, 2009).

3.3 Hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose

Embora os fármacos utilizados para o tratamento da tuberculose sejam bastante eficazes, estudos têm demonstrado que a sua utilização pode produzir reações adversas de diferentes graus de gravidade (BLUMBERG et. al., 2003; ARBEX et. al., 2010), as quais

podem causar interrupção ou abandono de tratamento e, conseqüentemente, o aumento da resistência adquirida e falência terapêutica (BREEN et. al., 2006).

De uma maneira geral, as reações adversas hepatotóxicas são responsáveis por 2-5% dos casos de icterícia em pacientes hospitalizados, 10% dos casos de hepatites em adultos e 25% das hepatites fulminantes (JORGE, 2007). Além disso, também é considerada a causa mais frequente de insuficiência hepática aguda, de interrupção de tratamento ou até mesmo de transplante hepático (DAVI; HAMILTON, 2010). De modo particular, dentre as reações adversas causadas pelas drogas antituberculosas, a hepatotoxicidade é um evento comum a três dos principais fármacos do esquema básico proposto pelo Ministério da Saúde, a saber, isoniazida, rifampicina e pirazinamida (ARBEX et. al., 2010).

O fígado é o principal órgão responsável pela metabolização da maioria das drogas e substâncias xenobióticas (CHALASANI; BJÖRNSSON, 2010). Os sistemas enzimáticos responsáveis pela biotransformação (metabolização) de muitos fármacos em metabólitos mais polares e menos lipossolúveis estão localizados no retículo endoplasmático liso do fígado. É de fundamental importância o papel desempenhado pelo metabolismo na eliminação dos fármacos, uma vez que compostos químicos estranhos são impedidos de permanecer por tempo indeterminado no organismo, por intermédio da sua excreção renal ou biliar (PEREIRA, 2007).

O metabolismo dos fármacos envolve dois tipos de reações químicas da biotransformação enzimática, que são classificadas como reações de Fase I ou reações de Fase II. As reações de Fase I (catabólicas) ocorrem no retículo endoplasmático e convertem o fármaco original em um metabólito mais polar, por meio de oxidação, redução ou hidrólise. As reações oxidativas são catalisadas por um complexo enzimático denominado citocromo P450. Essas enzimas são frequentemente denominadas “microssomais”, e, para que sejam atingidas, o fármaco precisa atravessar a membrana plasmática do hepatócito. As reações hidrolíticas não envolvem as enzimas microssômicas hepáticas, mas ocorrem no plasma e em muitos tecidos, inclusive no citoplasma do hepatócito. As reações de Fase II, denominadas reações de conjugação ou síntese, envolvem a ligação do fármaco ou metabólito primário a um substrato endógeno, como o ácido glicurônico, sulfato, acetato, aminoácidos e outros, de forma a aumentar a sua polaridade (WILLIAM, 1995; ANTOINE et. al., 2008; STOLF, 2011).

Existem dois tipos principais de hepatotoxicidade reconhecidos: o tóxico direto e o idiossincrásico. A hepatotoxicidade direta ocorre de forma previsível, dose dependente e com um período de latência curto entre a exposição e a lesão hepática. Essa reação é, em sua maioria, passível de prevenção. Por outro lado, a hepatotoxicidade idiossincrásica é caracterizada por ser uma reação imprevisível, anormal, geneticamente determinada e não é dose dependente. Geralmente são mais graves e exigem a interrupção da droga. A prevenção é possível nos casos em que são conhecidas as bases genéticas, onde o fenótipo do indivíduo é caracterizado por testes apropriados. Considera-se que a maioria das reações idiossincrásicas, de mecanismos variados, resulta de diferenças na reatividade metabólica a agentes específicos, a qual difere entre os indivíduos. A formação de metabólitos reativos derivados de reações de biotransformação está frequentemente relacionada à hepatotoxicidade idiossincrásica, como é o caso da isoniazida (TRIPATHI, 2006; CHALASANI; BJÖRNSSON, 2010).

3.4 Definição de caso de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas com e sem infecção pelo HIV

Várias são as definições utilizadas para hepatotoxicidade induzidas por drogas na literatura. Pacientes com hepatotoxicidade induzida por tuberculostáticos, segundo Carvalho Filho (2007) e Tostmann et. al.(2008), são aqueles sintomáticos, que possuem valores das enzimas hepáticas três vezes acima do limite superior da normalidade, ou assintomático, com valores das enzimas hepáticas cinco vezes acima do limite superior da normalidade. Breen et. al.(2006) definiram hepatotoxicidade como sendo o aumento das enzimas hepáticas cinco vezes acima do valor do limite superior da normalidade ou o aumento dos níveis de bilirrubinas. O AIDS Clinical Trials Group (ACTG) classifica a hepatotoxicidade de acordo com a intensidade, podendo o valor das enzimas hepáticas variar entre 1,25 vezes o limite superior normal (grau I) até > 10 vezes o limite superior normal (grau IV) (ACTG, 1992). Por outro lado, o Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) considera hepatotoxicidade como sendo o aumento da Alanina Aminotransferase (ALT) ou da Bilirrubina Conjugada (BC) acima de 2 vezes o limite superior da normalidade ou a combinação do aumento do Aspartato Aminotransferase (AST), da Fosfatase Alcalina (FA) e da Bilirrubina Total (BT) com, pelo menos, um desses marcadores hepáticos apresentando valores acima de 2 vezes o limite superior da normalidade (BÉNICHOU, 1990). No Brasil, o Ministério da Saúde define

hepatotoxicidade pelo uso de drogas antituberculosas como sendo a elevação das aminotransferases três vezes acima do limite superior da normalidade com sintomas de hepatite associados (náusea, vômito, icterícia, astenia e dispepsia) ou a elevação das aminotransferases cinco vezes acima do limite superior da normalidade sem sintomas de hepatite associados (BRASIL, 2011).

As várias definições para hepatotoxicidade induzidas por drogas citadas na literatura dificultam estabelecer comparações entre os estudos, e esta afirmação pode ser corroborada com os achados de Coca et. al. (2010), os quais, em um estudo caso-controle conduzido em Belo Horizonte com 162 pacientes portadores de tuberculose, com o objetivo de comparar a hepatotoxicidade induzida por tuberculostáticos em pacientes com e sem HIV, verificaram que é grande o impacto de pequenas alterações na definição de hepatotoxicidade adotada como referencial. Esses autores estudaram três definições de hepatotoxicidade simultaneamente. Não foram identificadas associações entre o HIV e a hepatotoxicidade, quando foram utilizados os seguintes parâmetros: o aumento da ALT em 3 vezes o limite superior da normalidade ou o aumento da BT e ALT em 2 e 3 vezes, respectivamente, o limite superior da normalidade. Breen et. al. (2006) verificaram retrospectivamente a ocorrência de reações adversas graves induzidas por drogas antituberculose (graus III/IV) em 312 pacientes que iniciaram tratamento para tuberculose, dos quais 156 indivíduos eram infectados pelo HIV, e 156, não infectados pelo HIV. Hepatotoxicidade foi definida como o aumento de cinco vezes o valor do limite superior da normalidade da ALT e AST ou o aumento dos níveis de bilirrubinas. Os resultados desse estudo mostraram que a ocorrência de hepatotoxicidade foi a mesma nos dois grupos (13%).

3.5 Fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade pelo uso de drogas antituberculose

De uma maneira geral, o risco de hepatotoxicidade é influenciado por diferentes fatores, a exemplo da idade, do sexo, do estado nutricional, das interações medicamentosas, da gravidez, do alcoolismo e de outras doenças, tais como o HIV e as doenças crônicas do fígado. Variações genéticas em isoenzimas que geram os bioprodutos tóxicos podem resultar em diferenças na reatividade metabólica a agentes específicos e na resposta imune, o que varia de indivíduo para indivíduo (LEE, 2003; CHALASANI; BJÖRNSSON, 2010).

Em relação às drogas antituberculose, especificamente, parece não haver consenso entre pesquisadores no que se refere aos fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose (Quadro 1). Alguns estudos consideram a idade avançada (>50 anos), sexo feminino, etilismo, baixo peso corporal, alcoolismo, hepatite crônica B e/ou C, infecção pelo HIV e forma extrapulmonar da tuberculose como os principais fatores que predispõem à hepatotoxicidade (UNGO et al., 1998; ANAND et. al., 2006; TOSTMANN et. al., 2007; MAKHLOUF et. al., 2008; MARZUKI et. al., 2008; FOUNTAIN et. al., 2008; ALAVI et al., 2011). Outros estudos apontam diferentes fatores de risco para hepatotoxicidade induzida pelos fármacos antituberculose: perfil acetilador lento Gene NAT2, o genótipo homozigoto CYP 2E1 c1/c1, ausência do HLA-DQA1*0102 e a presença do HLA-DQB1*0201 (SHARMA et. al., 2002; HUANG et. al., 2003; POSSUELO et. al., 2008; TEIXEIRA, 2009). Para Breen et. al.(2006), a etnia pode ser a explicação para a ocorrência de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose.

Quadro 1- Fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o uso de drogas antituberculosas segundo revisão da literatura (2007-2013)

Autores	Título do Estudo	Definição Hepatotoxicidade	População estudada	Fatores de risco	OR (IC95%)
Santos et al. 2013	N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients	ALT $\geq$ 3x LSN	TB/HIV	- Fenótipo NAT2 acetilador lento - Fenótipo NAT2 acetilador lento e CYP 2E1	3.05 (1.1-8.6) 4.26 (1.5-12.4)
Ali et al. 2013	Anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity among TB/HIV co-infected patients at Jimma University Hospital, Ethiopia: Nested case-control study	ALT e/ou AST $\geq$ 3x LSN Ou Qualquer aumento acima dos valores pré-tratamento com sintomas hepatite	TB/HIV	- TB pulmonar disseminada - IMC < 18,5 mg/dL	5.6 (2.1-15.0) 3.6 (1.3-10.1)
Teixeira et al. 2011	Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatites in Brazilian TB patients	ALT e/ou AST $\geq$ 3x LSN Sintomas hepatite	TB	- Fenótipo NAT2 acetilador lento	2.86 (1.1 -7.7)
Alavi et al 2011	Drug induced hepatitis among Iranian patients suffering from tuberculosis	ALT $\geq$ 5x LSN c/ sintomas	TB	- HCV - HBV - HIV - Idade > 35 anos - Álcool - Uso de drogas ilícitas	14.2 (8.2-24.9) 2.0 (1.1-3.8) 7.5 (2.8 – 19.7) 2.4 (1.7 - 3.4) 3.5 (1.3 – 9.9) 11.3 (7.7 -16.7)
Marzuki et al. 2008	Prevalence and risk factors of antituberculosis drug-induced hepatites in Malaysia	ALT e/ou AST $\geq$ 3x LSN ou BT > 1.5 mg/dL	TB	- HIV - TB extrapulmonar	3.54 (1.2-10.0) 2.33 (1.2-4.7)
Pukenyte et al. 2007	Incidence of and risk factors for severe liver toxicity in HIV-infected patients on anti-tuberculosis treatment	ALT 5.1-10x LSN e/ou BT 2.6-5x LSN ou ALT >10xLSN e/ou BT > 5xLSN	TB/HIV	- Valores basais pré-tratamento: ALT BT - Fluconazol	3.86 (1.1-12.8) 4.34 (1.1-16.7) 4.9 (1.5-15.8)

ALT(alanina aminotransferases), AST (aspartato aminotransferases), BT (bilirrubina total), CYP (citocromo P450), GST (glutathione S-transferase), HBV (vírus da hepatite B), HCV (vírus da hepatite C), HIV (vírus da imunodeficiência humana), IMC (índice de massa corpórea), LSN (limite superior da normalidade), NAT2 (arilamina N-acetiltransferase2), TB (tuberculose).

Fonte: a autora.

3.6 A presença da infecção pelo vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV) em pacientes coinfectados HIV/TB.

A ocorrência de infecção pelo vírus das hepatites B e C em pacientes com infecção pelo HIV é relativamente comum. Dados da literatura revelam que pessoas acometidas por estas infecções apresentam risco elevado de mortalidade e morbidade por hepatite crônica, cirrose, descompensação da doença hepática e carcinoma hepatocelular (SOUZA et al., 2004; SHEPARD et al., 2006; ATTIA et al., 2012; MASGALA; BONOVAS; NIKOPOULOS, 2012).

As hepatites virais B e C, assim como a infecção pelo HIV e a tuberculose, constituem grave problema de saúde pública. Estima-se que existam aproximadamente 350 milhões de pessoas infectadas pelo HBV e 170 milhões de pessoas infectadas pelo HCV no mundo (BRASIL, 2009; BRASIL, 2011).

Em estudo de prevalência recente de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais brasileiras, constatou-se que, no conjunto das capitais de cada macrorregião e no Distrito Federal, a infecção pelo vírus da hepatite B foi menor que 1%, e, da hepatite C, foi de 1,38%, o que classifica o país como sendo de baixa endemicidade (XIMENES et al., 2010). De acordo com dados do Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais do Brasil, foi confirmado, no ano de 2011, um total de 14.609 casos de infecção pelo HBV, e, destes, 757 estiveram associados à infecção pelo HIV. Em relação ao número de casos confirmados pelo HCV, do total de 9.565 casos, 931 estiveram associados à infecção pelo HIV no mesmo ano (BRASIL, 2011).

No Estado de Pernambuco, no ano de 2011, a taxa de detecção para cada 100.000 habitantes de casos confirmados de infecção pelo HBV e HCV foi de, respectivamente, 2,1 e 1,1% (BRASIL, 2011).

Estudos têm demonstrado que a infecção pelo HCV no curso da doença pelo HIV é responsável pela rápida progressão da doença hepática, pelas alterações da resposta imune e pior prognóstico. Além disso, o advento da *highly active antiretroviral therapy* (HAART) proporcionou o aumento da sobrevida dos pacientes com HIV/Aids e propiciou tempo necessário, para que o HBV e o HCV desenvolvam todo o seu potencial letal entre os coinfectados (GUPTA; SINGH, 2010; CAMERON et al., 2011; OPERSKALSKI; KOVACS, 2011; MASGALA; BONOVAS; NIKOPOULOS, 2012).

A ocorrência de infecções pelo HVB ou HCV é sugerida como sendo fator de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose e durante

o uso da HAART (SULKOWSKI et al., 2002; TOSTMANN et al., 2008; ALAVI et al., 2011).

3.7 A isoniazida e o seu mecanismo de metabolização

A isoniazida é um fármaco bactericida que age na síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA) contra *Mycobacterium tuberculosis* intracelular e extracelular. Tem estrutura simples, constituída de um anel de piridina e um grupo hidrazida. Quando administrada de forma oral é rapidamente absorvida através do trato gastrointestinal e sua concentração plasmática é de 3 a 5 µg/mL após uma a duas horas da ingestão, distribuindo-se por todos os fluídos e células. É excretada preferencialmente por via urinária com 75-95% da dose inicial eliminada nas primeiras 24 horas principalmente na forma de metabólitos, sendo os principais produtos de excreção aqueles resultantes de acetilação enzimática (acetil-isoniazida) e hidrólise enzimática (ácido isonicotínico) (KRITSKY, 2005; TRIPATHI, 2006; ARBEX et. al., 2010).

O mecanismo de metabolização inicia-se no fígado, onde a isoniazida é acetilada pela N-acetiltransferase2 (NAT2), principal enzima responsável pela inativação e metabolização da isoniazida, a qual é codificada pelo gene NAT2. A NAT2 é uma enzima de conjugação de Fase II que catalisa a transferência do grupo acetil, a partir do cofator acetil-coenzima A (Acetil-CoA), ao terminal nitrogenado da droga. Após acetilação, a acetilisoniazida é hidrolizada por uma amidase à acetil-hidrazina que é, então, oxidada em intermediários hepatotóxicos pela isoenzima mono-oxigenase CYP450 2E1. Paralelamente, a acetilhidrazina pode gerar diacetilhidrazina ou hidrazida, podendo ser convertida, por enzimas microsossomais hepáticas, em metabólicos reativos que se presumem ser responsáveis pela indução da hepatotoxicidade causada pela administração da isoniazida (HUANG et. al., 2002; HUANG et. al., 2003; MARTINS; MATOS, 2005; TRIPATHI, 2006).

A taxa de acetilação da isoniazida exibe variação genética, e, de acordo com o fenótipo de cada indivíduo, pode haver três tipos diferentes de capacidade acetiladora: rápida, intermediária e lenta, sendo controverso se esses últimos são mais propensos a manifestações de hepatotoxicidade, apesar de não haver diferença na atividade antimicrobiana (TRIPATHI, 2006; ARBEX et. al., 2010). A proporção de acetiladores lentos e rápidos diverge em diferentes partes do mundo, com uma prevalência de acetiladores lentos variando de 10-20% entre japoneses, 50-60% entre caucasianos e 90%

entre a população do norte da África (LEE et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2011; AN et al., 2012; BEM MAHMOUD et al., 2012).

3.8 O Polimorfismo genético NAT2

Polimorfismo genético é toda variação que afeta as complexas sequências de nucleotídeos (genes) e que ocorrem na população geral de forma estável com uma frequência igual ou superior a 1%. As substituições de base única ou Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) em genes que codificam transportadores de medicamentos, enzimas metabolizadoras de medicamentos ou envolvidas na biossíntese e reparo do DNA podem determinar a eficácia e a toxicidade de alguns fármacos (METZGER; SOUZA-COSTA; TANUS-SANTOS, 2006).

Existem relatos na literatura descrevendo vários polimorfismos genéticos de enzimas de metabolização hepática que predispõem a hepatotoxicidade por várias substâncias. Polimorfismos do gene NAT2 explicam a distribuição bimodal de frequência após a administração de doses idênticas da isoniazida a indivíduos diferentes, ou seja, um grupo de acetiladores rápidos e outro de acetiladores lentos (LUIZON et. al., 2010). Alguns autores sugerem a pesquisa prévia do fenótipo NAT2, no início da terapia para tuberculose, como sendo útil em prever reações hepáticas adversas nesta parcela da população (OHNO et. al., 2000; HUANG et. al., 2002; KINZIG-SCHIPPERS et. al., 2005).

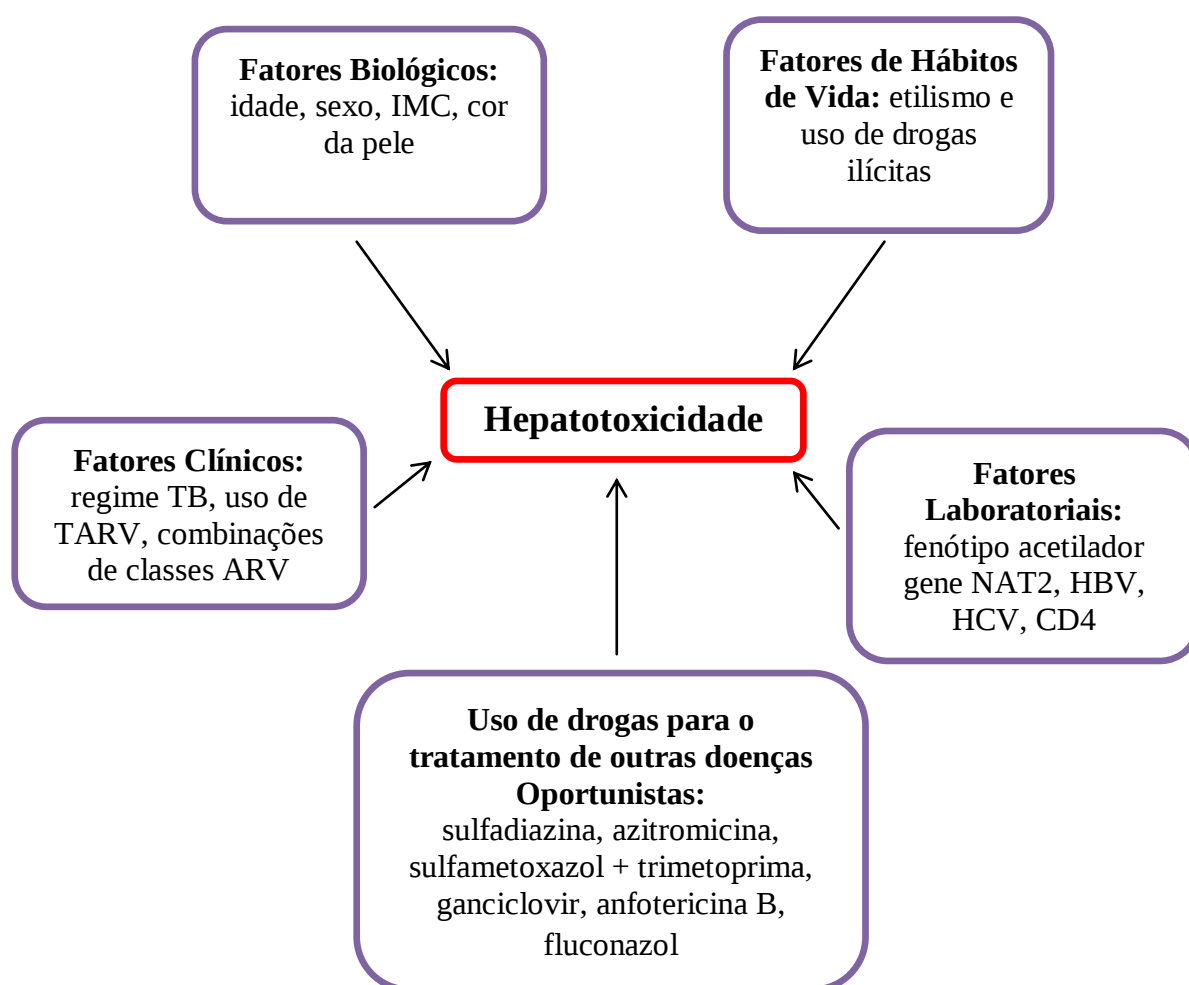
Durante muitos anos, desde a sua introdução ao esquema terapêutico para tratamento da tuberculose em 1952, a isoniazida vem sendo apontada como uma droga hepatotóxica. Embora estudos recentes tenham demonstrado a associação entre o fenótipo de acetilação e a suscetibilidade ao desenvolvimento de hepatotoxicidade secundário à utilização da isoniazida, esse tema parece ainda ser controverso. Teixeira et. al. (2011), em um estudo caso-controle retrospectivo com 167 pessoas que iniciaram tratamento para tuberculose entre os anos de 1998 e 2008, no Rio de Janeiro, demonstraram forte associação entre o perfil acetilador lento e a ocorrência de hepatotoxicidade induzida pelas drogas antituberculose (OR 3.59; IC 95% 2.53-4.64). Na Tunísia, Bem Mahmoud et. al. (2012) estudaram 66 pacientes com tuberculose no período de janeiro a novembro de 2008 e evidenciaram associação estatisticamente significativa entre o perfil acetilador lento e o desenvolvimento de hepatotoxicidade. Outros autores, em diferentes populações, também

reportaram a associação entre o fenótipo NAT2 e a hepatotoxicidade induzida pelos tuberculostáticos (HUANG et. al., 2002; CHO et. al., 2007; FUKINO et. al., 2008; POSSUELO et. al., 2008; BOZOK CETINTAS et. al., 2008; LEE et. al., 2010). Por outro lado, Mitchell et. al. (1975) e Vuilleumier et. al. (2006) observaram, respectivamente, que os acetiladores rápidos seriam mais vulneráveis aos danos hepáticos induzidos pelos fármacos antituberculose devido a uma maior produção de hepatotoxina, em decorrência da rápida atividade da enzima NAT2, e nenhuma relação entre o perfil de acetilação e a hepatotoxicidade induzida por essas drogas.

Diante do exposto, é possível afirmar que a hepatotoxicidade induzida pela isoniazida está relacionada com o seu metabolismo. Os estudos realizados até o presente momento, no entanto, demonstram conclusões contraditórias, sugerindo a necessidade de novos estudos em diferentes populações para uma melhor elucidação acerca desta problemática.

4 MODELO TEÓRICO

Figura 1 – Modelo teórico para o desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em PVHA.



Fonte: a autora

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Estimar a incidência e identificar fatores associados ao desenvolvimento de hepatotoxicidade; verificar a ocorrência de marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C e fatores associados; verificar a associação entre polimorfismos (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) e haplótipos do Gene NAT2 e a ocorrência de hepatotoxicidade após o início do tratamento da tuberculose em uma coorte prospectiva de PVHA em Pernambuco.

5.2 Objetivos Específicos

Estimar a incidência de hepatotoxicidade após o início do tratamento para tuberculose e fatores associados;

Verificar a associação entre polimorfismos (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) e haplótipos do Gene NAT2 e a ocorrência de hepatotoxicidade;

Verificar a ocorrência de marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C e fatores associados à soropositividade do marcador para o HBV e o HCV.

6 MATERIAL E MÉTODO

6.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo de pessoas vivendo com HIV/Aids que iniciaram tratamento para tuberculose.

6.2 Local do estudo

O estudo desenvolveu-se no Hospital Correia Picanço (HCP), que integra a rede estadual da Secretaria de Saúde de Pernambuco, constituindo-se em um dos principais serviços de referência para doenças infecciosas na cidade do Recife. Atualmente, é responsável por cerca da metade do atendimento aos pacientes com infecção pelo HIV do Estado.

6.3 População da pesquisa

A população foi composta por pacientes com infecção pelo HIV/Aids, com diagnóstico de tuberculose ativa, de ambos os sexos, residentes no Estado de Pernambuco, atendidos no serviço de saúde onde a pesquisa se desenvolveu.

Uma população controle saudável, sem tuberculose e infecção pelo HIV, também foi estudada com a finalidade de verificar se as frequências alélicas e genotípicas observadas nesta população seriam semelhantes às frequências alélicas e genotípicas observadas na população do estudo. Esta população controle foi constituída por 80 indivíduos doadores de medula óssea do Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME), selecionados de forma aleatória.

6.4 Critério de inclusão

Ter idade ≥ 18 anos;

Ser notificado no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Tuberculose (Sinan TB);

6.5 Critério de exclusão

Não ter realizado dosagens das enzimas AST e/ou ALT antes do início do tratamento para tuberculose.

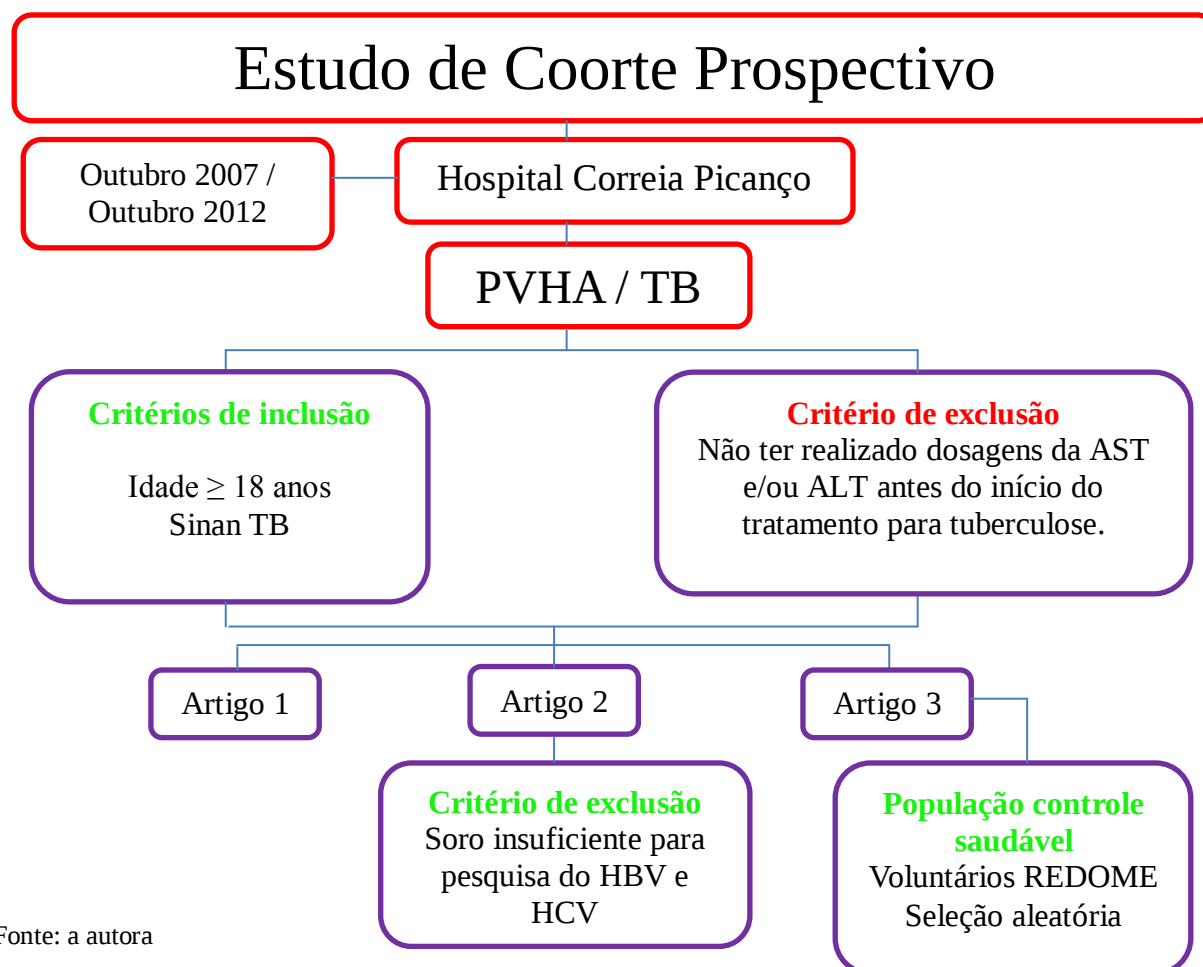
6.6 Período de recrutamento e seguimento da coorte

O recrutamento dos pacientes teve início em outubro de 2007, e as dosagens das aminotransferases foram realizadas antes do início do tratamento, com 30 e 60 dias. Todos os pacientes foram seguidos até 60 dias após a entrada na coorte.

6.7 Definição do tamanho da amostra e amostragem

Para esse estudo, foi estimado previamente um tamanho amostral considerando o polimorfismo do gene NAT2 como exposição para o desenvolvimento da hepatotoxicidade. Para isso, foi tomado como referência o estudo de Teixeira *et al.* (2011), que teve como resultado uma frequência igual a 69,2% do fenótipo acetilador lento do gene NAT2 no grupo de pacientes que desenvolveram hepatotoxicidade com uma odds ratio (OR) estimada de 2,86 (IC 95%: 1,06 – 7,68). Com base nesses parâmetros, com um nível de confiança de 95% e poder de 80%, a amostra total estimada foi de 150 pacientes.

Figura 2 – Critérios metodológicos adotados para a condução dos três estudos que compõem a tese. Recife, 2007 – 2012.



Fonte: a autora

6.8 Definição de termos e variáveis de estudo

6.8.1 Definição de termos

6.8.1.1 Caso de tuberculose

Diagnóstico confirmado por baciloscopia ou cultura ou para aquele indivíduo em que o médico assistente, com base nos dados clínico-epidemiológicos e no resultado de exames complementares, firma o diagnóstico de tuberculose.

6.8.1.2 Soropositividade para o HIV

Indivíduo que apresentou sorologia positiva para o HIV, por meio de técnicas de ELISA, imunofluorescência, Western-blot ou teste rápido, conforme fluxograma definido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2008).

6.8.2 Definição e categorização das variáveis

Para responder ao objetivo geral deste estudo, o evento de interesse foi a hepatotoxicidade, adotando-se a definição do Ministério da Saúde para casos induzidos por drogas antituberculosas, ou seja, a elevação das aminotransferases três vezes o valor encontrado antes do início do tratamento com sintomas de hepatite associados. Foram considerados sintomas de hepatite a ocorrência de icterícia, náusea, vômito, dispepsia e astenia (BRASIL, 2011).

Os fatores estudados potencialmente associados ao desfecho hepatotoxicidade foram: variáveis biológicas e de hábitos de vida — *sexo, faixa etária, cor da pele, índice de massa corporal* (IMC), este último obtido pela divisão do peso em quilogramas pela altura ao quadrado em metros, categorizado como desnutrido ($IMC < 18,5 \text{ Kg/m}^2$), eutrófico ($18,5 \leq IMC \leq 24,9 \text{ Kg/m}^2$) e sobrepesado/obeso ($IMC \geq 25,0 \text{ Kg/m}^2$), *etilismo e uso de drogas ilícitas*.

Para classificar os padrões de consumo de álcool, perguntaram-se a frequência e o consumo de doses de bebidas alcoólicas nos últimos 3 meses. A frequência foi codificada em categorias, variando de nunca (para os abstêmios) até todos os dias, que, combinado ao número de doses, classificou o indivíduo em: abstêmio (nunca bebeu ou bebe menos de oito doses ao ano); bebedor leve (bebe com frequência mensal ou até um a dois dias na semana, sem exceder 10 doses); bebedor pesado (bebe com frequência diária ou de 3 a 4

dias na semana, excedendo 5 doses diárias) e dependente alcoólico (quem está em tratamento). Para efeito de análise de regressão, a variável *etilismo* foi agregada em dois níveis: sim (bebedor leve, bebedor pesado e dependente do álcool) e não (abstêmios).

O consumo de *drogas ilícitas* foi categorizado como: uso atual — indivíduos que afirmaram ter usado maconha, cocaína, “crack” e/ou cola no último ano — usou no passado — indivíduos que relataram o uso dessas drogas ao longo da vida — e nunca usou — indivíduos que nunca experimentaram maconha, cocaína, “crack” e/ou cola.

Variáveis clínicas e laboratoriais: *Esquema TB*, *Uso de TARV*, *Combinação de classes de TARV*, *Fenótipo Gene NAT2*, Sorologias *Anti-HBc* (anticorpo total contra o antígeno do núcleo do vírus da hepatite B) e *Anti-HCV* (anticorpo total contra o antígeno do vírus da hepatite C) e contagem de células *CD4*.

O *esquema terapêutico* utilizado para tratar a tuberculose, definido de acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, foi categorizado como Esquema RIP (constituído por três drogas: rifampicina, isoniazida e pirazinamida), Esquema RIPE (constituído por quatro drogas: rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol) e outros esquemas utilizados.

A utilização de drogas antirretrovirais na ocasião do início do tratamento para tuberculose foi confirmada por registros de prontuários e categorizada como: não fez uso da terapia, iniciou antes do tratamento TB e iniciou nos dois primeiros meses de tratamento TB. A combinação de classes TARV também foi investigada e categorizada como: não fez uso de TARV, esquema antirretroviral contendo dois inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleotídeo (ITRN) em combinação com um inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleotídeo (ITRNN), esquema antirretroviral contendo dois ITRN e um inibidor da protease com ritonavir (IP/r) e a utilização de outros esquemas antirretrovirais.

A utilização de drogas (*sufadiazina*, *azitromicina*, *sulfametoxazol+trimetoprima*, *anfotericina B*, *ganciclovir* e *fluconazol*) para o tratamento de outras doenças oportunistas durante os primeiros 60 dias de tratamento para tuberculose também foi investigada e categorizada como: sim, indivíduos que fizeram uso da droga; e não, os indivíduos que não fizeram uso da droga.

As sorologias para *Anti-HBc* e *Anti-HCV* foram categorizadas como reagente e não reagente. Para a *contagem de células CD4*, foi considerada a contagem de células CD4 até

seis meses antes do início do tratamento para tuberculose e categorizada como níveis < 200 cél./mm³ e ≥ 200 cél./mm³.

Entre os 7 SNPs (*Single nucleotide polymorphism*) (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) do gene NAT2 comumente encontrados na população humana, foram analisados, para *efeito de classificação fenotípica*, quatro SNPs que resultam na substituição do aminoácido e na consequente diminuição da capacidade de acetilação. Indivíduos que apresentaram pelo menos dois alelos variantes em qualquer um dos SNPs nas posições 191, 341, 590 e 857 foram classificados como acetiladores lentos (SABBAGH; DARLU, 2005). O fenótipo gene NAT2 foi categorizado em acetilador lento e acetilador rápido.

Para responder ao objetivo do segundo artigo desta tese, o evento de interesse foi o resultado da pesquisa dos marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C.

Os fatores analisados, potencialmente associados ao desfecho positividade do marcador do HBV e do HCV, foram: variáveis biológicas, sócio-demográficas e de hábitos de vida: *sexo*, *faixa etária*, *cor da pele*, categorizada como branca e não branca, *índice de massa corporal* (IMC), *renda*, categorizada como < 1 salário-mínimo e ≥ 1 salário-mínimo, *com quem reside*, categorizado como sozinho e com a família e/ou companheiro(a), *etismo* e *uso de drogas ilícitas*.

No terceiro artigo, a presença do alelo variante nos 7 SNPs do gene NAT2 foi o evento de interesse. Para efeito de análise, a identificação de pelo menos 1 alelo variante no genótipo constituiu o grupo exposto. Todo genótipo homozigoto ancestral constituiu o grupo não exposto.

6.9 Considerações éticas

A pesquisa teve início após anuência da direção do HCP e aprovação do projeto de Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco sob o parecer de Nº 254/05 e faz parte de um consórcio de pesquisa, interinstitucional, conduzido pelo GRUPO AIDS-PE, em Recife.

Participaram do estudo aqueles que concordaram espontaneamente e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A), elaborado com base nos aspectos éticos da Resolução nº 466/12, do Conselho Nacional de Saúde, que contém

as diretrizes e normas da pesquisa envolvendo seres humanos (<conselho.saude.gov.br/resoluções/2012/reso466.pdf>).

6.10 Coleta e processamento de dados

6.10.1 Coleta de dados

Para esta pesquisa, foram elaborados dois instrumentos específicos de coleta de dados. As informações foram coletadas a partir de uma entrevista estruturada e efetuada presencialmente, com a aplicação de um questionário (Apêndice B) e de uma ficha de coleta de dados (Apêndice C) extraídos do prontuário ambulatorial e de internamento de cada paciente participante da pesquisa. A entrevista foi realizada por profissionais de saúde previamente capacitados e avaliados periodicamente pelo coordenador do trabalho de campo da pesquisa. Os dados dos prontuários médicos foram coletados pelo pesquisador principal do presente estudo.

A coleta de sangue periférico foi realizada no laboratório do próprio serviço onde a pesquisa foi desenvolvida. A primeira coleta foi realizada antes do início do tratamento para tuberculose, e, nesse momento, além de se coletar sangue para dosagens das aminotransferases, foram também coletadas as amostras para a pesquisa sorológica dos vírus das hepatites B e C (Anti-Hbc total, Anti-HBs – anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B, HbsAg – antígeno de superfície do vírus da hepatite B, HBV-DNA – DNA do vírus da hepatite B e Anti-HCV) e sangue para extração de DNA de cada paciente. As demais coletas seguiram o protocolo do estudo, ocorreram aos 30 e 60 dias após o início do tratamento para TB apenas para dosagem das aminotransferases. Como já citado anteriormente, aqueles que apresentaram sintomas de hepatite, antes do primeiro ou segundo retorno da visita de seguimento, tiveram seu sangue coletado para aferição das aminotransferases e monitoramento de efeitos adversos do tratamento para TB (Apêndice D).

A pesquisa dos marcadores dos vírus das hepatites B e C foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas de Pernambuco, e a pesquisa do HBV-DNA foi realizada no Laboratório de Virologia do Laboratório Central de Pernambuco (LACEN).

Por se tratar de material biológico de pessoas vivendo com HIV/Aids, a extração de DNA de cada paciente foi realizada em um laboratório particular da cidade do Recife, que dispunha da infraestrutura de segurança adequada para tal procedimento. Após esse processo, as amostras de DNA foram encaminhadas para o Laboratório de Virologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – LaViTe/CPqAm/FioCruz, onde foi realizada a identificação dos polimorfismos do gene NAT2 por meio da reação de cadeia de polimerase (PCR) seguida de sequenciamento.

Como a pesquisa faz parte de um projeto mais abrangente, a equipe constou de 12 pessoas, entre entrevistadores, técnico de laboratório, coordenadores de campo e alunos de pós-graduação.

6.10.2 Descrição de técnicas

O teste rápido utilizado é o Rapid-check HIV1 & 2 (NDI-Núcleo de Doenças Infecciosas, Vitória, ES, Brasil) ou o Teste rápido – HIV- 1/ 2 Bio-Manguinhos (Fundação Oswaldo Cruz/ Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brasil).

A contagem de linfócitos CD4 é realizada por intermédio de citometria de fluxo, utilizando-se anticorpos anti-CD4 marcados com corantes fluorescentes através do sistema BD FACSCalibur TM.

A dosagem das aminotransferases foi realizada no equipamento Targa 3000, que utiliza o método enzimático para determinação das aminotransferases no soro. Os valores de referência adotados, seguindo as instruções do fabricante, foram ALT = 32 UI/mL e AST = 36UI/mL.

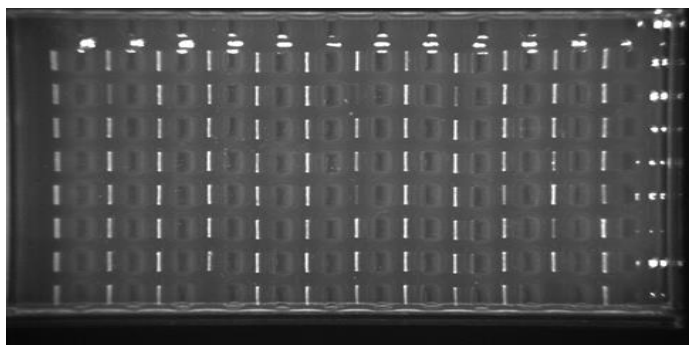
As sorologias para o anti-HBc, anti-HBs, HBsAg e anti-HCV foram realizadas no equipamento ARCHITEC i 2.000 (Abbott), por quimioluminescência, seguindo as instruções do fabricante.

A quantificação do HBV-DNA foi realizada no sistema Cobas ampliprep/Cobas Taqman-CAP/CTM (Roche Molecular Systems Inc., Branchburg, N.J.). Foram consideradas positivas todas as amostras cujos resultados da pesquisa do HBV-DNA foram ≥ 10 UI/ml.

6.10.3 Genotipagem do gene NAT2

A genotipagem dos indivíduos para o gene NAT2 foi realizada via sequenciamento, compreendendo 2 *loci*. Para isso, um volume de 5 ml de sangue venoso foi coletado de cada paciente e armazenado a -20°C. DNA genômico foi isolado a partir de 30µl de creme leucocitário utilizando o Kit de Extração Mini Cent Bio Pur (Biometrix®, Brasil), de acordo com as especificações do fabricante. Após a extração, as amostras de DNA foram armazenadas a -20°C.

Figura 3 – Eletroforese em gel de agarose 1% de DNA genômico de 96 amostras diferentes a partir de sangue total, utilizando o Kit de Extração Mini Cent Bio Pur (Biometrix®, Brasil).



Fonte: acervo da autora.

As reações de amplificação ocorreram por meio de duas reações de cadeia de polimerase (PCRs) independentes, utilizando-se do mix: 36,5µl de água pura, 5µl 10x PCR Buffer, 2 µl MgCl₂ 50 mM, 1µl de dNTP 10mM, 2µl de cada primer a 10 mM, 1 µl de DNA, e ainda 0,5 µl de Taq DNA polimerase 500U (5U/µl), obtendo-se um volume final de 50µl.

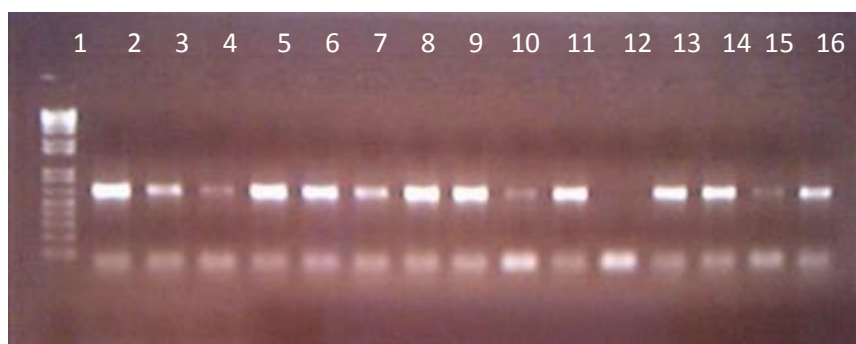
Os polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) 191G>A (rs1801279), 282 C>T (rs1041983) e 341T>C (rs1801280) foram avaliados no *locus* 1 com a utilização dos primers 5'-CCTTACAGGGTTCTGAGACTAC-3' e 5'-GGTGCCTTGCATTTTCTGCT-3' e os seguintes parâmetros de ciclagem: desnaturação (94°C por 3min), 35 ciclos de 94°C por 1min., 50°C por 1min. e 72°C por 1min., seguido de uma extensão final de 72°C por 5min.

Os SNPs 481C>T (rs1799929), 590G>A (rs1799930), 803A>G (rs1208) e 857G>A (rs1799931) foram avaliados no *locus* 2 com a utilização dos primers 5'-CATTGTCGATGCTGGGTCTG-3' e 5'-TCATCCATAAAAATGTCAGCATTT-3' com

os mesmos parâmetros de ciclagem listados acima, à exceção da temperatura da fase de anelamento (55°C).

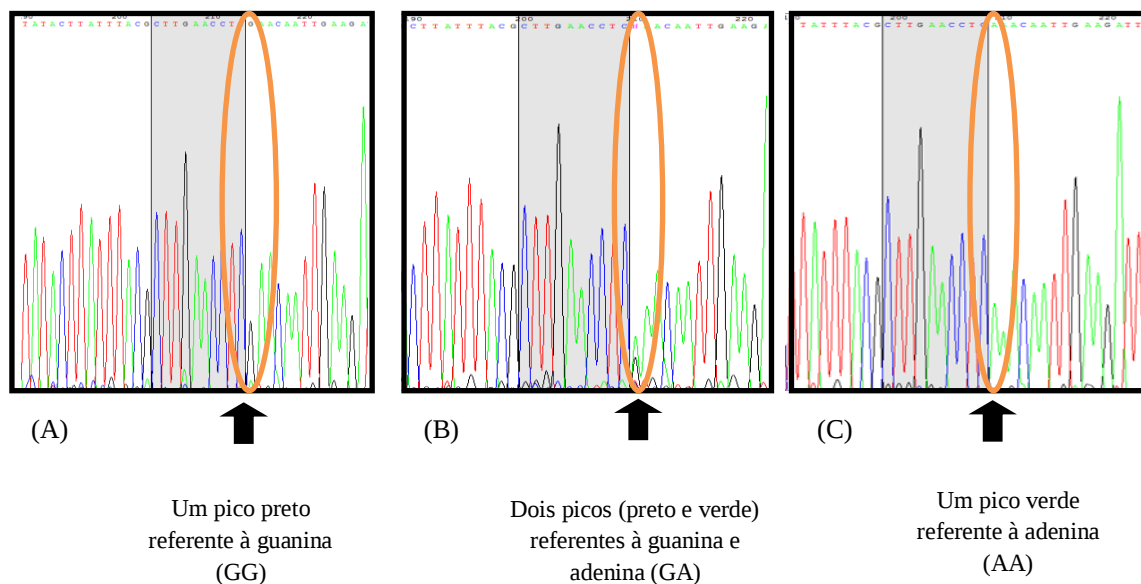
Os produtos de amplificação, amplicons de 667bp e 665bp, respectivamente, foram analisados via eletroforese em gel de agarose 1%, seguidos de coloração de brometo de etídio.

Figura 4 - Gel de agarose 1% com produtos da PCR/NAT2 : (1) Marcador de peso molecular; (2-16) produto de PCR com 667pb contendo a região codificante de NAT2.



Fonte: acervo da autora.

Figura 5: Identificação do SNP G590A por meio da visualização do cromatograma no software ApE. (A) Genótipo ancestral homozigoto. (B) Genótipo heterozigoto. (C) Genótipo variante.



Fonte: a autora.

Sequenciamento direto foi realizado usando o terminador de BigDye ABI PRISM v.3.1 Kit (PE Applied Biosystems). A análise da sequência e genotipagem foram realizadas utilizando o software ApE – A plasmid Editor v2.0.45, tendo a sequência GenBank: AY331807 como referência (<www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY331807>), seguindo o Comitê Internacional de Nomenclatura Gene NAT2 (<<http://nat.mbg.duth.gr>>).

6.11 Análise de Dados

Os dados foram armazenados em um banco de dados próprio criado exclusivamente para esta pesquisa. Objetivando verificar eventuais erros de digitação, os dados foram digitados com dupla entrada (*Validate* do *software* EPI-INFO versão 6.04) e, posteriormente, foram comparados.

Para verificar a significância estatística nas diferenças encontradas de distribuição de frequência das variáveis segundo os principais desfechos deste estudo, a saber, hepatotoxicidade, positividade dos marcadores sorológicos para o HBV e dos polimorfismos (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) e haplótipos do Gene NAT2, e testar o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W), utilizaram-se o teste do chi-quadrado de Pearson e, quando necessário, o teste exato de Fisher. A estimativa para definição e frequência de haplótipos foi baseada no método de máxima verossimilhança usando o *software* Arlequin versão 3.5.

Realizou-se análise de regressão logística bivariada e da magnitude das associações expressa pelo Odds Ratio (OR) como estimativa do risco relativo com intervalo de confiança de 95%. Com o objetivo de ajustar as associações em relação a possíveis fatores de confusão, realizou-se análise de regressão logística multivariada, tendo como critério de entrada das variáveis no modelo uma significância abaixo de 20% ($p < 0,20$) na análise bivariada, e como critério de permanência no modelo final uma significância abaixo de 5% ($p < 0,05$). A técnica utilizada para a modelagem foi a *stepwise*, do tipo *forward*, tendo como ordenação de entrada das variáveis o modelo teórico e a significância estatística da associação na análise bivariada. Na composição do modelo final, foi observada a estimativa de máxima verossimilhança do modelo comparando os modelos, por meio do teste de Wald, com a introdução de uma nova variável. A análise foi feita utilizando o *software* STATA versão 12.0 (Statistical Software for Professionals, StataCorp LP, UK).

7 RESULTADOS

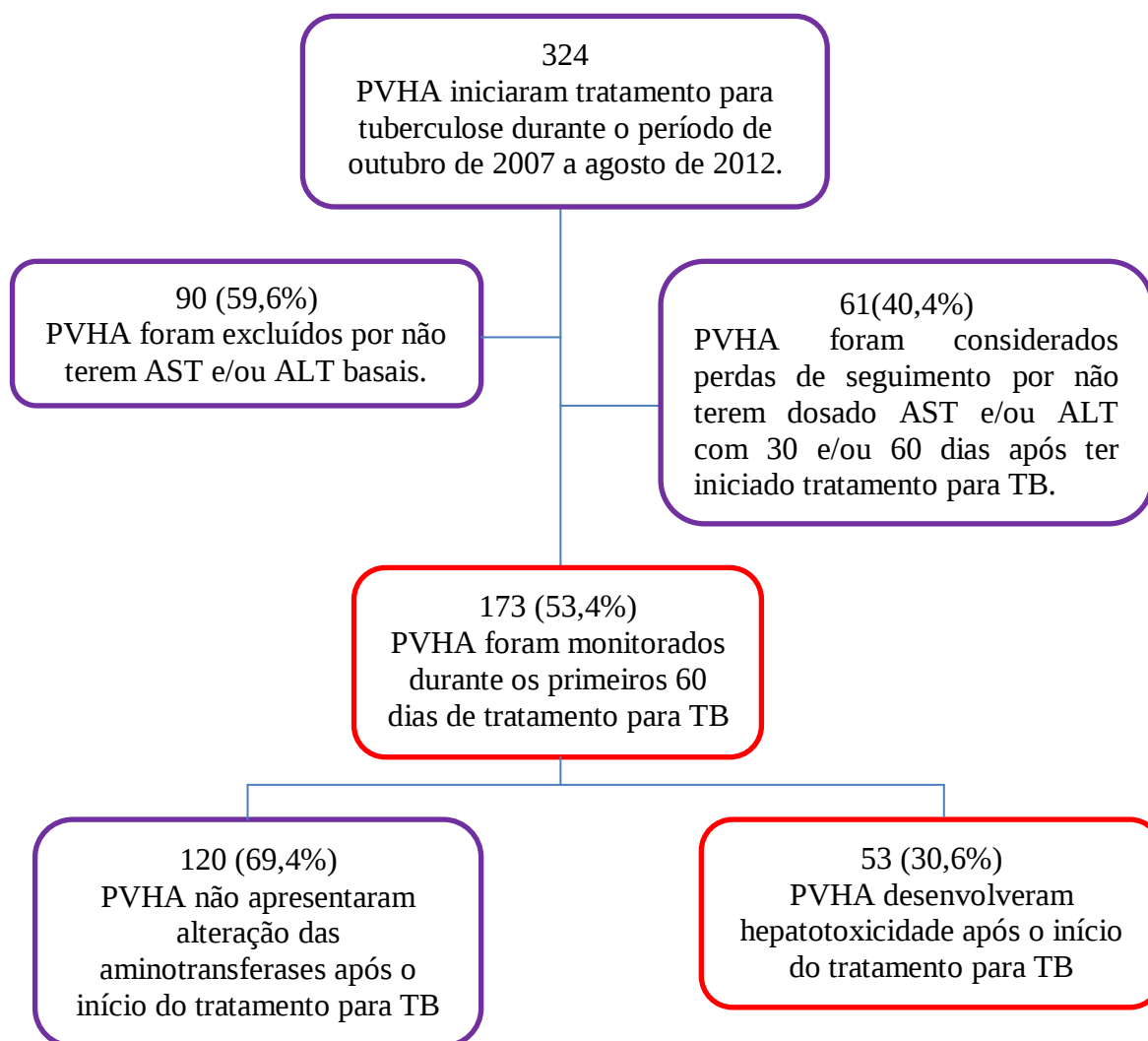
Visando responder aos objetivos da presente tese e melhor apresentar os seus achados, a descrição dos resultados será subdividida em três tópicos correspondentes aos três artigos.

Artigo Original 1: Hepatotoxicidade associada ao tratamento da tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids (apêndice E).

Do total de 324 indivíduos que iniciaram tratamento para TB, 173 (53,4%) preencheram os critérios de inclusão. Dos 151 (46.6%) pacientes que não foram incluídos no estudo, 90 (59.6%) foram excluídos por não terem ALT e/ou AST basais e, 61 (40.4%) foram considerados perdas de seguimento por não terem retornado ao serviço de saúde para aferição dos níveis de AST e/ou ALT com 30 e/ou 60 dias após o início do tratamento para TB (Figura 6). A análise comparativa dos indivíduos estudados com aqueles excluídos demonstrou que os dois grupos eram semelhantes em relação ao sexo, idade e contagem de células CD4. No entanto, o percentual de uso de HAART entre os indivíduos excluídos foi de 60,7%, enquanto, entre os indivíduos estudados, foi de 78,6%.

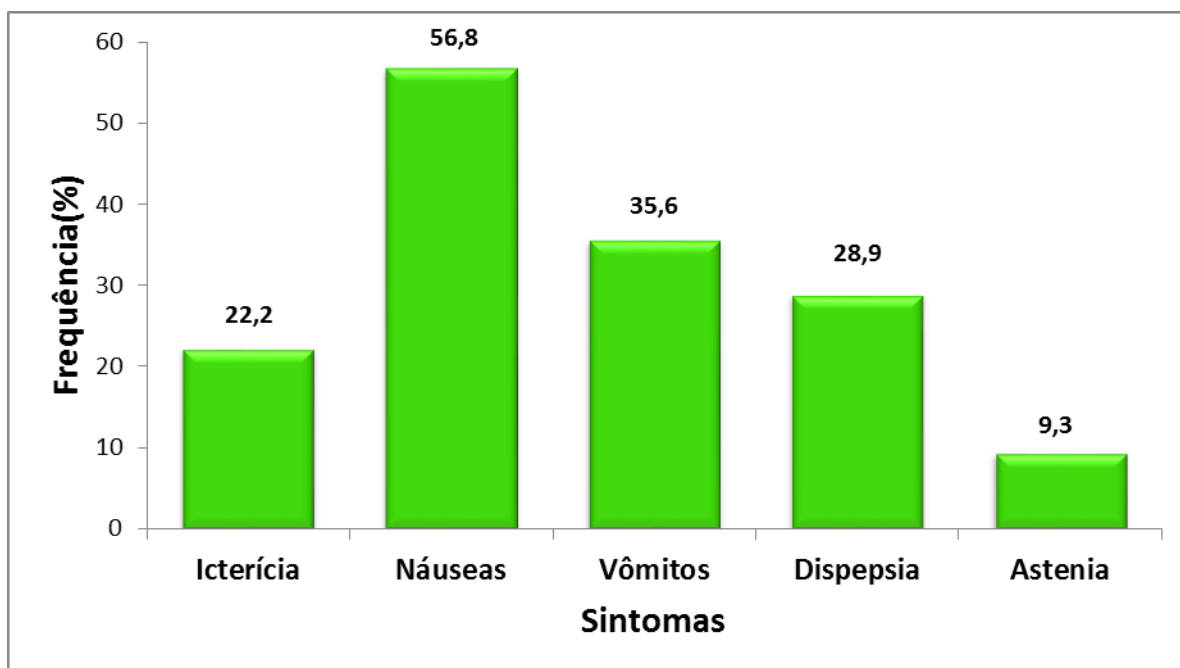
Dos 173 indivíduos estudados, 53 [30,6% (IC95%(23,6 – 37,5)] apresentaram sintomas compatíveis com hepatite (Gráfico 1), elevação das aminotransferases três vezes maior que o valor encontrado antes do início do tratamento para tuberculose e constituíram o grupo-caso. As Tabelas 1, 2 e 4 mostram a distribuição da frequência dos fatores biológicos e de hábitos de vida, fatores clínicos e laboratoriais e variáveis relacionadas com o uso de drogas para o tratamento de outras doenças oportunistas. Essas tabelas também demonstram a odds ratio bruta para as associações entre todas as variáveis estudadas e hepatotoxicidade.

Figura 6 – Fluxograma da Pesquisa



Fonte: a autora.

Gráfico 1 – Frequência de sintomas entre os casos de hepatotoxicidade.



Fonte: a autora.

A população foi caracterizada como sendo predominantemente masculina (67,1%), pouco mais da metade (51,5%) com idade entre 20 e 39 anos, maior proporção de indivíduos eutróficos (60,7%) e indivíduos não-brancos (79,2%). O uso de drogas ilícitas foi reportado por 7,5% dos pacientes e o uso do álcool por 16,2% (Tabela 1).

Verificou-se que o esquema terapêutico para TB mais utilizado (61,3%) foi o de três drogas (RIP). A TARV foi utilizada por 78,6% da população estudada, e a maioria dos indivíduos tinha iniciado a TARV antes do tratamento para tuberculose, com tempo médio de uso de ARV de 4,7 anos (dP 4,3 anos) (Gráfico 2).

Tabela 1 – Análise Univariada da Associação entre Fatores Biológicos e de Hábitos de Vida e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

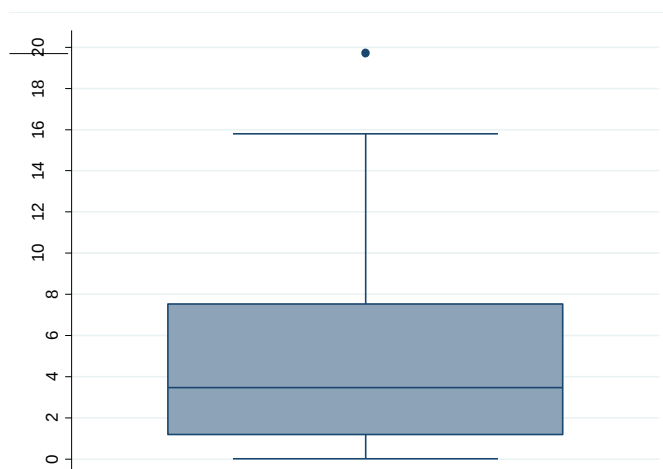
Variáveis	Hepatotoxicidade				Total		OR	IC(95%)	p-valor
	Sim		Não		N	%			
	N	%	N	%	N	%			
Sexo									
Masculino	32	27,6	84	72,4	116	67,1	1	-	0,216
Feminino	21	36,8	36	63,2	57	32,9	1,5	(0,8 – 3,0)	
Idade (anos)									
< 40	30	33,7	59	66,3	89	51,5	1	-	0,368
≥40	23	27,4	61	72,6	84	48,5	0,7	(0,4 – 1,4)	
IMC									
Eutrófico	25	23,8	80	76,2	105	60,7	1	-	0,002*
Desnutrido	22	50,0	22	50,0	44	25,4	3,2	(1,5 – 6,7)	
Sobrepesado/ Obeso	2	11,7	15	88,3	17	9,8	0,4	(0,1 – 2,0)	
Cor da pele									
Branca	14	38,9	22	61,2	36	20,8	1	-	0,230
Não-branca	39	28,5	98	71,5	137	79,2	0,6	(0,3 – 1,4)	
Uso de drogas ilícitas									
Nunca usou	38	29,1	93	70,9	131	75,7	1	-	0,102
Usou no passado	13	44,8	16	55,2	29	16,7	1,9	(0,8 – 4,5)	
Usa atualmente	2	15,4	11	84,6	13	7,5	0,4	(0,1 – 2,1)	0,307
Consumo de Álcool									
Não	45	31,7	97	68,3	142	82,1	1	-	0,745
Sim	8	28,6	20	71,4	28	16,2	0,8	(0,4 – 2,1)	

IMC (Índice de Massa Corporal). OR = odds ratio; IC (95%): intervalo de confiança.

* Associação estatisticamente significativa ($p < 0,20$).

Fonte: a autora

Gráfico 2 – Média de tempo de uso de ARV entre os pacientes que iniciaram TARV antes do tratamento para tuberculose.



Fonte: a autora

O regime antirretroviral contendo dois ITRN e um ITRNN foi o mais comumente usado entre usuários de HAART (60,1%). Marcadores sorológicos para HBV e HCV foram investigados em 166 pacientes. Desses, 61 (36,7%) foram positivos para o anti-HBc e 11 (6,4%) para o anti-HCV (tabela 2).

Tabela 2 – Análise Univariada da Associação entre Fatores Clínicos e Laboratoriais e Hepatototoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

Variáveis	Hepatotoxicidade				Total		OR	IC(95%)	p-valor
	Sim		Não		N	%			
	N	%	N	%	N	%			
Regime TB									
RIP	35	33,1	71	66,9	106	61,3	1	-	-
RIPE	18	27,7	47	72,3	65	37,6	0,8	(0,4 – 1,5)	0,465
Outros	0	00,0	2	100,0	2	1,2	-	-	-
Uso de TARV									
Não usa TARV	11	29,7	19	70,3	37	21,4	1	-	-
Início de TARV antes do tratamento TB	24	28,3	61	71,7	85	49,1	1,3	(0,5 – 3,2)	0,584
Início de TARV durante os dois primeiros meses do tratamento TB	18	35,3	33	64,7	51	29,5	0,9	(0,4 – 2,2)	0,867
Combinação de Classes ARV									
Não usa ARV	11	29,7	26	70,3	37	21,4	1	-	-
2ITRN + 1ITRNN	31	29,8	73	70,2	104	60,1	1,0	(0,4 – 2,3)	0,993
2ITRN + 1IP/r	9	37,5	15	62,5	24	13,9	1,4	(0,5 – 4,2)	0,528
Outras	2	25,0	6	75,0	8	4,6	0,8	(0,1 – 4,5)	0,789
Fenótipo Gene NAT2									
Acetilador rápido	30	25,0	90	75,0	120	69,4	1	-	
Acetilador lento	23	43,4	30	56,6	53	30,6	2,3	(1,2 – 4,5)	0,017*
Anti-HBc									
Não reagente	38	36,2	67	63,8	105	60,3	1	-	
Reagente	14	22,9	47	77,1	61	36,7	0,5	(0,3 – 1,1)	0,078*
Anti-HCV									
Não Reagente	49	31,6	106	68,4	155	89,6	1	-	
Reagente	3	27,3	8	72,3	11	6,4	0,8	(0,2 – 3,2)	0,765
CD4 (Cél/mm³)									
≥ 200	12	18,7	52	81,3	64	41,1	1	-	
< 200	33	35,8	59	64,2	92	58,9	2,4	(1,2 – 5,2)	0,022*

TB (Tuberculose), RIP (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida), RIPE (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida, Etambutol), TARV (Terapia antirretroviral), ARV (Antirretroviral), ITRN (Inibidor da transcriptase reversa de nucleosídeo), ITRNN (Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo), IP/r (Inibidor da protease/ritonavir), NAT2 (arilamina N-acetiltransferase), Anti-HBc (anticorpo total contra o antígeno do núcleo do vírus da hepatite B), Anti-HCV (anticorpo contra o antígeno do vírus da hepatite C), OR (odds ratio), IC(95%): intervalo de confiança.

* Associação estatisticamente significativa ($p < 0,20$).

Fonte: a autora

Tabela 3 – Genótipos do Gene NAT2 classificados de acordo com o Comitê Internacional de Nomenclatura do Gene NAT2 e Perfil Fenotípico Acetilador em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

Genótipos NAT2	Frequência		Total	
	N	%	N	%
Fenótipo acetilador rápido			120	69,4
NAT2*4	102	85,0		
NAT2*11A	1	0,8		
NAT2*12A	4	3,3		
NAT2*12C	6	5,0		
NAT2*13A	7	5,8		
Fenótipo acetilador lento			53	30,6
NAT2*5A	2	3,7		
NAT2*5B	21	39,6		
NAT2*5C	4	7,5		
NAT2*5D	14	26,4		
NAT2*5J	1	1,8		
NAT2*6A	9	16,9		
NAT2*6B	1	1,8		
NAT2*7B	1	1,8		

NAT2 (arilamina N-acetiltransferase).

Houve predomínio de indivíduos fenotipicamente classificados como acetiladores rápidos para o gene NAT2 (69,4%). A prevalência de diferentes subtipos do gene NAT2 encontrados na população do estudo é apresentada na tabela 3. De acordo com o Comitê internacional de nomenclatura do Gene NAT2, não foram encontrados novos subtipos genotípicos do gene NAT2 entre os 7 *loci* estudados.

O uso de drogas para o tratamento de outras doenças oportunistas é descrito na tabela 4. Fluconazol e sulfametoxazol-trimetoprim foram usados por 35,3% e 50,8% dos indivíduos, respectivamente.

Tabela 4 – Análise Univariada da Associação entre o Uso de Drogas para o Tratamento de Outras Doenças Oportunistas e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

Variáveis	Hepatotoxicidade				Total		OR	CI(95%)	p-valor
	Sim		Não						
	N	%	N	%	N	%			
Sulfadiazina									
Não	42	27,8	109	72,2	151	87,3	1	-	
Sim	11	50,0	11	50,0	22	12,7	2,6	(1,1 – 6,4)	0,040*
Azitromicina									
Não	45	30,2	104	69,8	149	86,2	1	-	
Sim	8	33,3	16	66,7	24	13,8	1,2	(0,5 – 2,9)	0,758
Sulfametoxazol + trimetoprima									
Não	23	27,1	62	72,9	85	49,2	1	-	
Sim	30	34,1	58	65,9	88	50,8	1,4	(0,7 – 2,7)	0,317
Anfotericina B									
Não	51	30,5	116	69,5	167	96,5	1	-	
Sim	2	33,3	4	66,7	6	3,5	1,1	(0,2 – 6,4)	0,884
Ganciclovir									
Não	50	29,6	119	70,4	169	97,7	1	-	
Sim	3	75,0	1	25,0	4	2,3	7,2	(0,7 – 70,3)	0,092*
Fluconazol									
Não	24	21,4	88	78,6	112	64,7	1	-	
Sim	29	47,5	32	52,5	61	35,3	3,3	(1,7 – 6,5)	<0,001*

OR (Odds ratio), IC(95%) (Intervalo de confiança)

* Associação estatisticamente significativa ($p < 0,20$).

Fonte: a autora.

O modelo final de regressão logística multivariada para os fatores associados à hepatotoxicidade durante o tratamento de TB é apresentado na tabela 5. Permaneceram no modelo, aumentando significativamente o risco de hepatotoxicidade, o uso do fluconazol, a desnutrição ($IMC < 18,5$) e ser classificado fenotipicamente para o gene NAT2 como acetilador lento.

Tabela 5 – Análise Multivariada da Associação entre Fatores Estudados e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

Variáveis	Odds Ratio	IC (95%)	P-valor
Fenótipo Gene NAT2			
Acetilador rápido	1	-	
Acetilador lento	2,1	(1,0 – 4,3)	0,053**
IMC			
Eutrófico	1	-	
Desnutrido	3,0	(1,4 – 6,6)	0,006*
Sobrepesado/ Obeso	0,6	(0,1 – 2,7)	0,472
Fluconazol			
Não	1	-	
Sim	3,0	(1,5 – 6,2)	0,002*

NAT2 (arilamina N-acetiltransferase); IMC (Índice de Massa Corporal); OR (odds ratio); IC (95%): Intervalo de Confiança.* Associação estatisticamente significante ($p < 0,05$). ** p-valor borderline.

Fonte: a autora

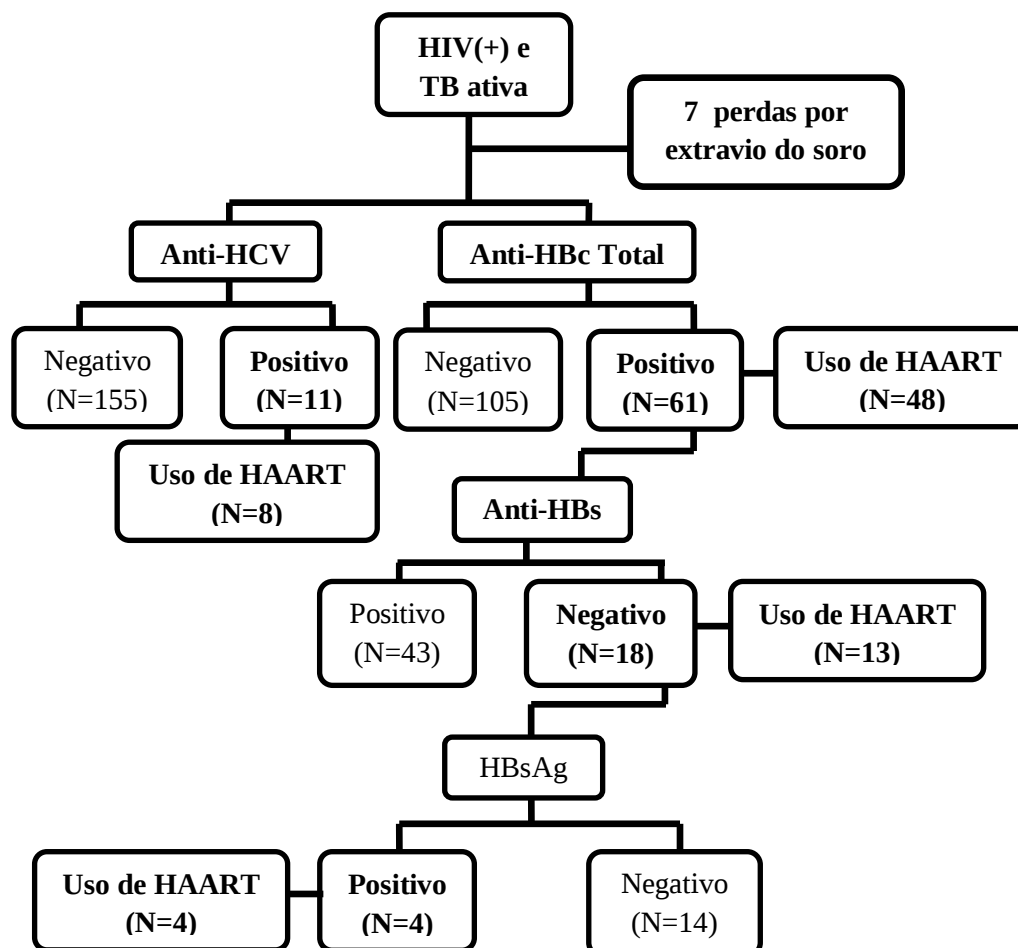
Artigo Original 2: Marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C em pacientes com HIV/Aids e diagnóstico de tuberculose ativa (apêndice F).

Entre os 173 pacientes com HIV/Aids avaliados antes do início do tratamento para tuberculose, 166 (95,9%) foram investigados quanto à presença de marcadores sorológicos HBV e HCV. Os 7 (4,0%) pacientes restantes tiveram os soros extraviados, e não foi possível a investigação destes marcadores.

Dos 166 pacientes investigados, 61 [36,7%, IC95% (29,4% - 44,6%)] apresentaram o anti-HBc positivo, sugerindo contato prévio com o vírus. Destes, 43 [70,5%, IC95% (57,4% - 81,5%)] também apresentaram o anti-HBs positivo, indicando imunidade após infecção pelo HBV. Outros 14 [22,9%, IC95% (13,2% - 35,5%)] apresentaram anti-HBs negativo como também o HBsAg negativo, sendo classificados como anti-HBc “puros”, e 4 [6,5%, IC95% (0,2% - 12,9%)] dos 61 pacientes apresentaram o HBsAg positivo, indicando infecção pelo HBV (Figura 7).

Em relação à pesquisa do vírus da hepatite C, dos 166 pacientes investigados, 11 [6,6%, IC95% (3,4% - 11,5%)] apresentaram o anti-HCV positivo (Figura 7). Cinco [45,5%, IC95% (16,7% - 76,6%)] pacientes apresentaram tanto o anti-HCV como o anti-HBc positivos. Desses 5 pacientes, 4 (80%) apresentaram o anti-HBs positivo, e 1 (20%) apresentou o anti-HBs e o HBsAg negativos, ou seja, o anti-HBc “puro” associado ao anti-HCV.

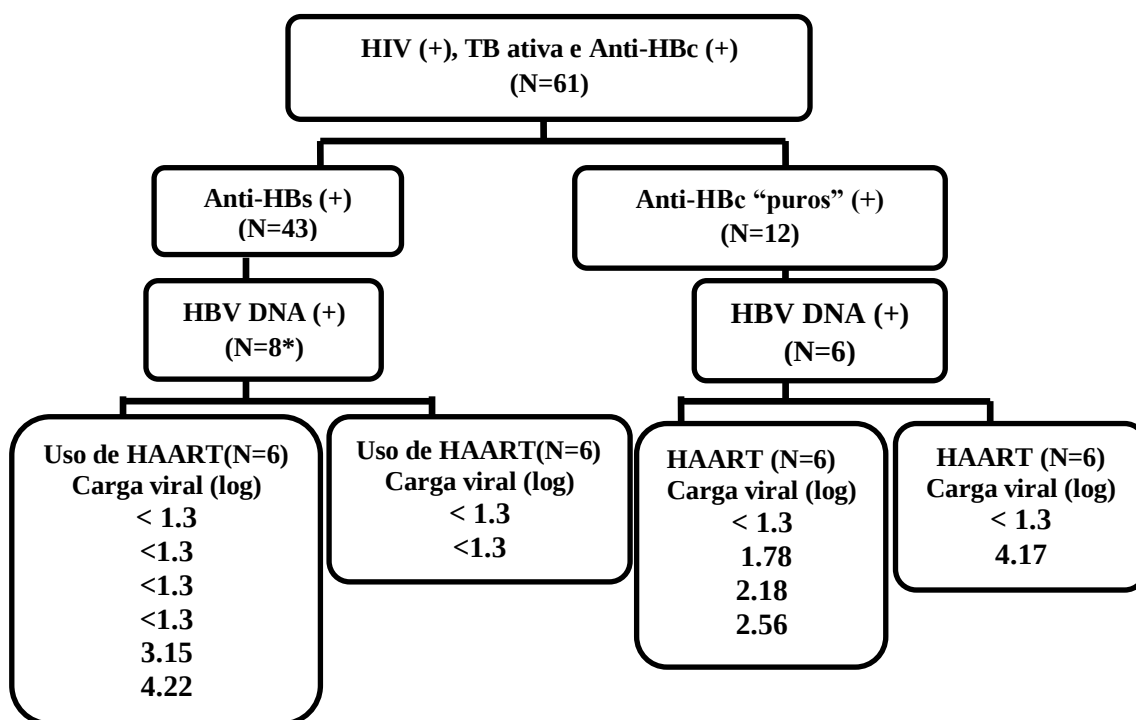
Figura 7 – Resultado da pesquisa dos marcadores sorológicos dos vírus das hepatites B e C em 166 pacientes com HIV/Aids e tuberculose ativa. Recife, 2007 – 2012



Fonte: a autora

A pesquisa do HBV-DNA foi positiva em 14 (22,9%) dos 61 pacientes com anti-HBc positivo, sendo 8 do grupo dos 43 pacientes [18,6%, IC95% (8,4% - 33,4%)] com anti-HBc e anti-HBs positivos e 6 de 12 com anti-HBc “puro” [50%, IC95% (21,1% - 78,9%)]. Dentre os 8 pacientes com HBV-DNA do grupo com anti-HBc e anti-HBs positivos, 1 paciente apresentou sorologia positiva para o anti-HCV (Figura 8). Em 3 dos 4 pacientes (um soro foi extraviado) com HBsAg positivo, a pesquisa do HBV-DNA foi realizada e resultou negativa.

Figura 8 – Resultado da pesquisa do HBV-DNA em pacientes com HIV/Aids, tuberculose ativa e Anti-HBc total reagente. Recife, 2007-2012.



* 1 paciente apresentou sorologia reagente também para o Anti-HCV

Fonte: a autora.

A tabela 6 mostra a distribuição da frequência dos fatores biológicos, sócio-demográficos e de hábitos de vida, além de mostrar as odds ratio brutas (não-ajustadas) entre todas as variáveis estudadas e o HBV. Como o número de ocorrências de infecção pelo HCV foi de 11 pacientes (6,6%), não foi possível calcular a associação com os fatores de risco.

Tabela 6 – Análise Univariada da Associação de Fatores Biológicos, Sócio-demográficos e de Hábitos de Vida com a Ocorrência de Marcadores Sorológicos do Vírus da Hepatite B em Pacientes com HIV/Aids e Tuberculose. Recife, 2007 – 2012

Variáveis	Anti-HBc				Total		OR	IC(95%)	p-valor
	Positivo		Negativo		N	%			
	N	%	N	%					
Sexo									
Feminino	12	22	42	78	54	32	1	-	
Masculino	49	44	63	56	112	68	2.72	(1,3 – 5,7)	0,008*
Idade (anos)									
< 40	24	28	63	72	87	52	1	-	
≥40	37	47	42	53	79	48	2.31	(1,2 – 4,4)	0,011*
IMC									
Eutrófico	39	39	62	61	101	61	1	-	
Desnutrido	14	33	28	67	42	25	0.79	(0,4 – 1,7)	0,552
Sobrepesado/ Obeso	7	41	10	59	17	10	1.11	(0,4 – 3,2)	0,841
Cor da pele									
Branca	9	26	26	74	35	21	1	-	
Não-branca	52	40	79	60	131	79	1.90	(0,8 – 4,4)	0,131*
Renda									
< 1 Salário - mínimo	33	33	68	67	101	61	0.62	(0,3 – 1,2)	0,163*
≥ 1 Salário - mínimo	27	44	35	56	62	38	1	-	
Com quem reside									
Sozinho	16	57	12	43	28	17	2.81	(1,2 – 6,5)	0,014*
Família e/ou Companheiro	44	32	93	68	137	82	1	-	
Uso de drogas ilícitas									
Nunca usou	38	29,1	93	70,9	131	75,7	1	-	
Usou no passado	13	44,8	16	55,2	29	16,7	1,9	(0,8 – 4,5)	0,102
Usa atualmente	2	15,4	11	84,6	13	7,5	0,4	(0,1 – 2,1)	0,307
Consumo de álcool									
Não	49	36	87	64	136	82	1	-	
Sim	11	41	16	59	27	16	1.22	(0,5 – 2,8)	0,643

IMC (Índice de Massa Corporal). OR = odds ratio. IC (95%): Intervalo de Confiança.

* Associação estatisticamente significativa ($p < 0.20$).

Fonte: a autora

A população foi predominantemente masculina (68%), pouco mais da metade (52%) com idade inferior a 40 anos, com maior proporção de pacientes eutróficos (61%) e não-brancos (79%). Ao que se refere às condições sócio-demográficas, 61% relatou renda salarial inferior a 1 salário-mínimo, e 82% residia com a família ou companheiro(a). Em relação aos hábitos, 7,5% referiram o uso de drogas ilícitas, e 16%, de bebidas alcoólicas (Tabela 6).

Verificou-se que o regime terapêutico para TB mais usado (61,3%) foi o de três drogas (RIP – rifampicina, isoniazida e pirazinamida) e que a HAART estava sendo

utilizada por 78,6% da população estudada. Um pouco mais da metade (58,9%) da população apresentou CD4 inferior a 200 células/mm³.

Na análise univariada, verificou-se que o sexo masculino, ter idade igual ou maior que 40 anos, cor da pele não branca, renda salarial inferior a 1 salário-mínimo e residir sozinho apresentou associação significativa com a positividade para o HBV (Tabela 6).

O modelo final de regressão logística multivariada para os fatores associados ao HBV em pacientes com HIV/Aids e TB ativa é apresentado na Tabela 7. As variáveis que permaneceram no modelo, sugerindo maior risco de exposição ao HBV, foram a idade maior ou igual a 40 anos e o sexo masculino.

Tabela 7 – Análise Multivariada da Associação de Fatores Biológicos, Sócio-demográficos e de Hábitos de Vida com a Ocorrência de Marcadores Sorológicos do Vírus da Hepatite B em Pacientes com HIV/Aids e Tuberculose. Recife, 2007 - 2012

Variáveis	Odds Ratio	IC (95%)	P-valor
Sexo			
Feminino	1	-	0.012*
Masculino	2.74	(1.2 – 6.0)	
Idade (anos)			
< 40	1	-	0.020*
≥ 40	2.25	(1.1 – 4.5)	

OR (odds ratio); IC (95%): Intervalo de Confiança .

* Associação estatisticamente significativa ($p < 0.05$).

Fonte: a autora

Artigo original 3: Novas assinaturas de haplótipos do Gene NAT2 (SNPs C282T e G590A) estão fortemente associadas ao desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em pessoas vivendo com HIV/Aids (apêndice G).

A população do presente estudo foi predominantemente masculina (68%), pouco mais da metade (52%) com idade inferior a 40 anos, com maior proporção de pacientes eutróficos (61%), não-brancos (79%) e, quanto ao grau de acetilação, fenotipicamente classificados como acetiladores rápidos (69,4%). O regime terapêutico para TB mais usado (61,3%) foi o de três drogas (RIP – rifampicina, isoniazida e pirazinamida), e a TARV estava sendo utilizada por 78,6% da população estudada. Um pouco mais da metade (58,9%) da população apresentou CD4 inferior a 200 células/mm³ (Tabela 8).

Tabela 8 – Distribuição de Frequências de Variáveis Biológicas, Clínicas e Laboratoriais em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

Variáveis	Hepatotoxicidade				Total	
	Sim		Não			
	N	%	N	%	N	%
Sexo						
Masculino	32	27,6	84	72,4	116	67,1
Feminino	21	36,8	36	63,2	57	32,9
Faixa Etária						
< 40 anos	30	33,7	59	66,3	89	51,5
≥40 anos	23	27,4	61	72,6	84	48,5
IMC						
Eutrófico	25	23,8	80	76,2	105	60,7
Desnutrido	22	50,0	22	50,0	44	25,4
Sobrepesado/ Obeso	2	11,7	15	88,3	17	9,8
Cor da Pele						
Branca	14	38,9	22	61,2	36	20,8
Não Branca	39	28,5	98	71,5	137	79,2
Fenótipo Gene NAT2						
Acetilador Rápido	30	25,0	90	75,0	120	69,4
Acetilador Lento	23	43,4	30	56,6	53	30,6
Esquema TB						
RIP	35	33,1	71	66,9	106	61,3
RIPE	18	27,7	47	72,3	65	37,6
Outro	0	00,0	2	100,0	2	1,2
Uso TARV						
Não fez uso de TARV	11	29,7	19	70,3	37	21,4
Início antes do tratamento TB	24	28,3	61	71,7	85	49,1
Início nos dois primeiros meses	18	35,3	33	64,7	51	29,5
CD4						
≥ 200 cél./mm ³	12	18,7	52	81,3	64	41,1
< 200 cél./mm ³	33	35,8	59	64,2	92	58,9

IMC (Índice de Massa Corporal), NAT2 (arilamina N-acetiltransferase). TB (Tuberculose). TARV (Terapia antirretroviral).

Fonte: a autora.

As frequências alélicas e genóticas dos sete *loci* polimórficos (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) do Gene NAT2 dos indivíduos com infecção pelo HIV e diagnóstico de TB ativa e pacientes saudáveis (população controle) são semelhantes entre si, estando em equilíbrio de Hardy-Weimberg. Foi observado, no *locus* G191A, a ausência do genótipo variante AA tanto na população estudada quanto na população controle. Neste *locus*, o genótipo mais frequente foi o GG (89,6%). A frequência de genótipos CC (43,3%) e CT (46,3%) no *locus* C282T foi semelhante. O *locus* G590A revelou uma frequência genotípica de 58,4% GG, 35,3% GA e 6,3% AA. Apenas um indivíduo, dos 173 indivíduos analisados, apresentou o genótipo variante AA no *locus* G857A (Tabela 9).

Tabela 9 – Distribuição de Frequências Alélicas e Genotípicas dos Sete *Loci* (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A) do Gene NAT2 em PVHA e TB e Pacientes Saudáveis. Recife, 2007 – 2012

SNPs	População			
	HIV/Aids(+) e TB(+)		HIV/Aids(-) e TB(-)	
	N	%	N	%
rs1801279 (G191A)				
GG	155	89,6	66	82,5
GA	18	10,4	14	17,5
AA	0	0,0	0	0,0
G	328	94,8	146	91,3
A	18	5,2	14	8,7
rs1041983 (C282T)				
CC	75	43,3	35	43,7
CT	80	46,3	33	41,3
TT	18	10,4	12	15,0
C	230	66,5	103	64,4
T	116	33,5	57	35,6
rs1801280 (T341C)				
TT	76	43,9	23	28,7
TC	55	31,8	44	55,0
CC	42	24,3	13	16,3
T	207	59,8	90	56,3
C	139	40,2	70	43,7
rs1799929 (C481T)				
CC	65	37,6	28	35,0
CT	78	45,1	43	53,7
TT	30	17,3	9	11,3
C	208	60,1	99	61,8
T	138	39,9	61	38,2
rs1799930 (G590A)				
GG	101	58,4	49	61,3
GA	61	35,3	24	30,0
AA	11	6,3	7	8,7
G	263	76,0	122	76,3
A	83	24,0	38	23,7
rs1208 (A803G)				
AA	66	38,1	23	28,7
AG	72	41,6	48	60,0
GG	35	20,3	9	11,3
A	204	58,9	94	58,7
G	142	41,1	66	41,3
rs1799931 (G857A)				
GG	151	87,3	73	91,3
AG	21	12,2	7	8,7
AA	1	0,5	0	0,0
G	323	93,4	153	95,6
A	23	6,6	7	4,4

Fonte: a autora.

Na análise univariada, verificou-se que a presença do alelo variante dos *loci* C282T e G590A constitui fator de risco isolado (OR = 1,98 e OR =1,93, respectivamente) para o

desenvolvimento de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose em PVHA ($p < 0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise Univariada da Associação entre Sete Polimorfismos de Único Nucleotídeo do Gene NAT2 e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 – 2012

SNPs	Hepatotoxicidade				Total		OR	IC(95%)	p-valor	X²	p-valor
	Sim		Não								
	N	%	N	%	N	%					
rs1801279(G191A)											
GG	45	29,1	110	70,9	155	89,6	1	-			
(AG + AA)	8	44,4	10	55,6	18	10,4	1,95	(0,7 – 5,3)	0,185	1,80	0,179
rs1041983(C282T)											
CC	17	22,7	58	77,3	75	43,4	1	-			
(CT + TT)	36	36,7	62	63,3	98	56,6	1,98	(1,0 – 3,9)	0,048	3,95	0,047
rs1801280(T341C)											
TT	22	28,9	54	71,1	76	43,9	1	-			
(TC + CC)	31	31,9	66	68,1	97	56,1	1,15	(0,6 – 2,2)	0,670	0,18	0,670
rs1799929(C481T)											
CC	22	33,8	43	66,2	65	37,6	1	-			
(CT + TT)	31	28,7	77	71,3	108	62,4	0,78	(0,4 – 1,5)	0,477	0,50	0,477
rs1799930(G590A)											
GG	25	24,7	76	75,3	101	58,4	1	-			
(GA + AA)	28	38,9	44	61,1	72	41,6	1,93	(1,0 – 3,7)	0,048	3,95	0,047
rs1208 (A803G)											
AA	19	28,8	47	71,2	66	38,2	1	-			
(AG + GG)	34	31,8	73	68,2	107	61,8	1,15	(0,6 – 2,2)	0,679	0,17	0,679
rs1799931(G857A)											
GG	45	29,8	106	70,2	151	87,3	1	-			
(GA + AA)	8	36,4	14	63,6	22	12,7	1,34	(0,5 – 3,4)	0,534	0,38	0,533

Fonte: a autora.

Na população estudada, foi possível definir 4 haplótipos (GC, GT, AC, AT) com 9 genótipos variantes (GC/GT, GC/AC, GT/GC, GT/GT, GT/AT, GT/AC, AC/AC, AC/AT e AT/AT) e 1 ancestral (GC/GC). Na comparação geral de risco associado aos haplótipos (homozigoto ancestral GC/GC x grupo variante GC/GT, GC/AC, GT/GC, GT/GT, GT/AT, GT/AC, AC/AC, AC/AT e AT/AT), foi revelada a associação de risco borderline (OR=2,3(IC95% 1,0-5,4), $p=0,052$) entre o grupo variante e o desenvolvimento de hepatotoxicidade (Tabela 11).

Tabela 11 – Comparação Geral entre Combinações de Haplótipos do Gene NAT2 (rs1799930 x rs1041983) e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 a 2012

Variáveis	Hepatotoxicidade				Total		OR	IC(95%)	p-valor
	Sim		Não		N	%			
	N	%	N	%					
Combinações**	45	34,6	85	65,4	130	75,2	2,3	(1,0 – 5,4)	0,052
GC/GC	8	18,6	35	81,4	43	24,8			

* Estatisticamente significativa ($p < 0,05$) ** GC/GT, GC/AC, GT/GC, GT/GT, GT/AT, GT/AC, AC/AC, AC/AT, AT/AT.

Fonte: a autora.

Por sua vez, a comparação individual entre o homozigoto ancestral e cada um dos genótipos de haplótipos contendo alelos variantes revelou que indivíduos com HIV/Aids com assinaturas GT/GT e GT/AC possuem um risco de 4,4 vezes maior em desenvolver hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose com diferença estatisticamente significativa ($p=0,047$ e $p=0,006$, respectivamente) (Tabela 12).

Tabela 12 – Comparação Individual entre o Efeito Genotípico de Haplótipos do Gene NAT2 (rs1799930 x rs1041983) e Hepatotoxicidade em PVHA e TB. Recife, Pernambuco, Brasil, 2007 a 2012

Variáveis	Hepatotoxicidade				Total		OR	IC (95%)	p-valor
	N	Sim %	N	Não %	N	%			
GC/GT	7	35,0	13	65,0	20	31,7	2,4	(0,7 – 7,8)	0,206 ^a
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	68,3			
GC/AC	6	24,0	19	76,0	25	36,7	1,4	(0,4 – 4,6)	0,596
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	63,3			
GT/GC	5	17,3	24	82,7	29	40,3	0,9	(0,3 – 3,1)	0,882
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	59,7			
GT/GT	5	50,0	5	50,0	10	18,8	4,4	(1,1 – 18,8)	0,047 ^{**a}
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	81,2			
GT/AT	3	42,8	4	57,2	7	14,0	3,3	(0,6 – 17,6)	0,169 ^a
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	86,0			
GT/AC	14	50,0	14	50,0	28	39,4	4,4	(1,5 – 12,7)	0,006 [*]
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	60,6			
AC/AC	3	42,8	4	57,2	7	14,0	3,3	(0,6 – 17,6)	0,169 ^a
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	86,0			
AC/AT	2	66,6	1	33,3	3	6,5	8,7	(0,7 – 108,8)	0,115 ^a
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	93,5			
AT/AT	0	0,0	1	100,0	1	2,27	-	-	-
GC/GC	8	18,6	35	29,2	43	97,7			

* Estatisticamente significativo ($p < 0,05$). ^a Teste exato de Fisher.

Fonte: a autora

8 DISCUSSÃO

A taxa de incidência cumulativa de hepatotoxicidade após o início do uso de drogas para o tratamento da TB foi de 30,6%. O uso de fluconazol, a desnutrição e ser classificado fenotipicamente como acetilador lento para o gene NAT2 foram fatores independentes associados à hepatotoxicidade.

A taxa de hepatotoxicidade observada neste estudo foi muito semelhante (30%) à relatada em um estudo desenvolvido na Etiópia (YIMER et al., 2011). Outro estudo, realizado no Brasil, demonstrou uma taxa maior de hepatotoxicidade (43,8%) entre os infectados com o HIV e uma taxa de 30,8% em pacientes soronegativos para o HIV (ZAVERUCHA-DO-VALLE et al., 2014). A comparação dos resultados desta pesquisa com o de outras, contudo, tem limitações, pois as várias definições de hepatotoxicidade encontradas na literatura dificultam comparações entre estudos já publicados. Os estudos acima citados (ZAVERUCHA-DO-VALLE et al., 2014; YIMER et al., 2011), diferentemente do presente estudo, adotaram o critério de classificação do Council for International Organizations of Medical Science (CIOMS), o qual define hepatotoxicidade como sendo a elevação da ALT acima de 2 vezes o limite superior da normalidade (BÉNICHOU, 1990). Entretanto, a escolha do critério de hepatotoxicidade recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil para indivíduos tomando drogas antituberculose, menos sensível e mais específico, tem uma grande utilidade, dado que essa definição orienta a tomada de decisões clínicas na assistência ao doente.

O tratamento da tuberculose em pacientes com infecção pelo HIV segue as mesmas recomendações para a população geral, tanto em relação aos esquemas terapêuticos quanto na duração total do tratamento. Tratar a tuberculose em pessoas com infecção pelo HIV, no entanto, é um problema complexo, pois, dada a reconhecida toxicidade e exigências de adesão dos dois esquemas terapêuticos, o início concomitante de ambos, além de proporcionar o aumento do risco de intolerância medicamentosa e impor dificuldades de identificar qual droga está associada a uma possível toxicidade, aumenta o risco de reações adversas (BRASIL, 2011; ÚRIZ et al., 2007).

A via de metabolização da isoniazida tem embasado a maioria dos estudos recentes que buscam elucidar o mecanismo de patogenicidade das lesões hepáticas induzidas pelo uso de drogas antituberculosas, e o fenótipo acetilador lento do gene NAT2 tem sido documentado como forte fator de risco para a ocorrência destas lesões hepáticas (CAI et

al.,2012; WANG et al., 2011). Nos resultados obtidos neste estudo, o fenótipo acetilador lento do Gene NAT2 foi associado à hepatotoxicidade com um OR de 2,1 e valor de p limítrofe ($p = 0,053$). Devido à plausibilidade biológica da associação, optou-se por manter a variável no modelo final preditivo.

Este tema, todavia, parece ser ainda controverso. De fato, estudos mostram discordância, ou seja, que os acetiladores rápidos seriam mais vulneráveis aos danos hepáticos induzidos pelos fármacos antituberculose devido a uma maior produção de hepatotoxina, consequente à rápida atividade da enzima NAT2, ou nenhuma relação entre o perfil de acetilação e a hepatotoxicidade induzida por essas drogas (MITCHELL et. al., 1975; VUILLEUMIER et. al., 2006). Acredita-se, contudo, que indivíduos classificados fenotipicamente como acetiladores lentos acumulam mais acetil-hidrazina, uma vez que a isoniazida compete com esse metabólito tóxico pela acetilação (SINGLA et al., 2014). Os resultados desta pesquisa somam-se às evidências mais recentes publicadas, em estudos brasileiros e nos de outros países, sobre o aumento do risco de hepatotoxicidade em indivíduos classificados fenotipicamente como acetiladores lentos em uso de tratamento para tuberculose (SINGLA et al., 2014; GUPTA et al., 2013; SANTOS et al., 2013; COSTA et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2011).

Verificou-se que o uso do fluconazol esteve fortemente associado ao desenvolvimento de hepatotoxicidade, quando utilizado nos primeiros 60 dias de tratamento para tuberculose. Um estudo retrospectivo em PVHA, conduzido por Pukenyte et. al. (2007), na França, demonstrou resultados semelhantes a estes. O uso concomitante do fluconazol com drogas tuberculostáticas em PVHA, sobretudo nos primeiros dias de tratamento da tuberculose, aumenta o risco do desenvolvimento de hepatotoxicidade. De fato, o emprego de drogas antifúngicas, incluindo o fluconazol, está associado à hepatotoxicidade, sobretudo nos indivíduos que apresentam outros fatores de risco para agressão hepática (WANG et al., 2010), como foi observado neste estudo pela associação de tuberculostáticos. Os achados sugerem a necessidade de evitar o uso desse fármaco em PVHA que vão iniciar tratamento para tuberculose, visto que é frequente a utilização do fluconazol nessa população como medida profilática de recidiva de doença criptocócica e de candidíase orofaríngea e esofagiana, em especial entre os pacientes que apresentam baixa contagem de células CD4.

A má nutrição energético-proteica entre os indivíduos com infecção pelo HIV foi amplamente estudada, sobretudo antes do uso da HAART, quando a perda de peso e a desnutrição eram frequentes. Na época, a síndrome consumptiva — uma complicação relativamente comum das fases avançadas da infecção pelo HIV — era considerada grave problema nutricional, sendo responsável por 80% da mortalidade dos pacientes com Aids (SCEVOLA et al., 2000; MACALLAN, 1999; CDC, 1987). Mesmo com o advento da HAART, a desnutrição continua a ser registrada em PVHA, porém de forma menos frequente (SIELEUNOU et al., 2009). O perfil nutricional da população estudada foi predominantemente composto por indivíduos eutróficos (60,7%), 25,4% foram classificados como desnutridos e 9,8% deles foram classificados como sobrepesados/obesos. Verificou-se que os indivíduos desnutridos apresentaram três vezes mais chance em desenvolver hepatotoxicidade quando comparado aos indivíduos eutróficos. Este fato pode ser explicado pela depleção dos depósitos de glutathione ocasionado pela má nutrição, que leva lentificação da metabolização hepática das drogas e maior vulnerabilidade às injúrias oxidativas. De fato, baixos índices de massa corporal e hipoalbuminemia, ou seja, desnutrição, estão associados às altas taxas de hepatotoxicidade induzida por drogas tuberculostáticas em relatos da literatura (AH Ali et al., 2013; MAKHLOUF et al., 2008; MAHMOOD et al., 2007).

Um achado inesperado foi o consumo de álcool não apresentar associação com hepatotoxicidade na população estudada. Esse achado pode ser provavelmente explicado pelo fato de PVHA ser orientada para se abster do uso de álcool, quando diagnosticada com a infecção viral ou antes do início da HAART. Na população deste estudo, somente 16,2% relataram consumo de álcool.

Uma característica peculiar desta coorte foi a inclusão de indivíduos em uso de esquemas diferentes para o tratamento da TB. Isso se deveu ao fato de o Ministério da Saúde do Brasil ter incluído, em suas recomendações, o uso da 4ª droga – etambutol – no esquema básico para tratar TB. Essa mudança ocorreu durante o acompanhamento desta coorte de PVHA, e, em decorrência disso, considerou-se necessário analisar se os dois grupos de indivíduos, em uso de esquemas diferentes, apresentavam riscos diferentes de desenvolver hepatotoxicidade. Observou-se que a maioria (106/173) dos pacientes usou três drogas, e um pouco mais de um terço deles (65/173) utilizou o novo regime proposto pelo Ministério da Saúde do Brasil, desde 2009. Não se observou, no entanto, diferença

quanto à hepatotoxicidade e à utilização de três ou quatro drogas, conforme demonstrado na Tabela 2.

O uso da TARV foi observado em 78,6% da população, dos quais 30,8% apresentaram hepatotoxicidade durante os primeiros 60 dias de tratamento para TB. O uso de TARV, porém, não foi associado à hepatotoxicidade. É possível ter havido um viés de seleção em relação a esta variável, o qual, se ocorreu, não deve ter representado impacto para o resultado do estudo. Teoricamente, o uso de TARV estaria associado com um risco maior de hepatotoxicidade, porque poderia potencializar o efeito hepatotóxico dos fármacos anti-TB. O fato da inclusão, no estudo, de mais indivíduos em uso de TARV, quando comparado com os indivíduos que foram excluídos, levaria a superestimar o risco existente, e não a diminuí-lo.

Este estudo tem algumas limitações. Por se tratar de uma coorte de PVHA, seguida em um ambiente de rotina de atendimento médico, não foi atingido um tamanho de amostra com o poder necessário para demonstrar a magnitude da associação entre o perfil fenotípico acetilador lento do Gene NAT2 e o desenvolvimento de hepatotoxicidade em PVHA em decorrência do uso de drogas para o tratamento da tuberculose. A associação encontrada (OR de 2,1 e um p-valor=0,053), contudo, aponta para um risco aumentado entre os indivíduos com perfil fenotípico acetilador lento do Gene NAT2.

No artigo 2, foi demonstrado que a prevalência de marcadores sorológicos HBV e HCV na população foi de, respectivamente, 36,7% e 6,6%. O sexo masculino e a faixa etária maior ou igual a 40 anos foram fatores independentes associados à presença do HBV.

As infecções pelo HIV, HBV e HCV compartilham a mesma rota de transmissão, principalmente sexual e vertical para o HIV e HBV, e parenteral para o HIV e HCV. No presente estudo não foram investigados fatores de risco relacionados ao modo de transmissão da doença, por se tratar de uma população de pacientes com HIV/Aids, cujos fatores de risco já estão bem estabelecidos na literatura (PIOT; QUINN, 2013).

O primeiro estudo sobre prevalência da infecção pelo HBV em pacientes com TB e HIV no Brasil foi conduzido no Rio de Janeiro, o qual registrou taxa de prevalência de 35,8% (BLAL et. al., 2005). Depois desse, outro estudo conduzido em Goiás evidenciou prevalência de HBV em pacientes com HIV/Aids e TB de 36,9% (AIRES et al., 2012). Os

resultados deste estudo foram muito semelhantes aos dois estudos acima citados, demonstrando que, apesar de todas as ações educativas e preventivas propostas pelas autoridades e profissionais de saúde, especificamente nesta parcela vulnerável da população, a prevalência de marcadores de contato com o HBV ainda permanece alta.

O risco de um paciente com HIV/Aids que se contamina pelo HBV se tornar portador crônico é 5 a 6 vezes maior do que os indivíduos soronegativos. Este fato pode ser explicado pela exacerbação da replicação do HBV provocada pela deficiente resposta imunológica decorrente da coinfeção pelo HIV (PUOTI et al., 2004). De fato, a presença da coinfeção pelo HIV altera de modo significativo a história natural da infecção aguda pelo HBV. Pacientes coinfectados tendem a evoluir com menores taxas de soroconversão espontânea do HBeAg/anti-HBe, HBsAg/anti-HBs e altas taxas de replicação viral. Além disso, podem evoluir com infecção oculta pelo HBV, caracterizada por HBsAg negativo e positividade do HBV-DNA (RAIMONDO et al., 2008).

Em pacientes com HIV/Aids, a prevalência da infecção oculta pelo HBV ainda é pouco conhecida, devido à falta de padronização do critério diagnóstico e aos poucos estudos prospectivos realizados (RAIMONDO et al., 2008). Pesquisas recentes reportam ocorrência extremamente divergente de infecção oculta pelo HBV em pacientes com HIV/Aids com variação entre níveis muito baixos (zero) até 89%, dependendo da sensibilidade da PCR utilizado (AIRES et al., 2012; PANIGRAHI et al., 2012; ATTIA et al., 2011; SANTOS et al., 2003). Os resultados desta pesquisa evidenciaram amostras de HBV-DNA detectadas em 18,6% (8/43) dos pacientes com imunidade para o HBV e em metade dos pacientes com anti-HBc “puro”.

Ressalta-se ainda a ausência do HBV-DNA nos 3 pacientes com HBsAg e anti-HBc positivos, ensejando que estas amostras tinham níveis de carga viral indetectáveis, talvez pelo fato de os 3 pacientes fazerem uso de lamivudina. Com efeito, é descrito na literatura que o desaparecimento do HBV-DNA pode ocorrer em pacientes com HIV/Aids em tratamento com lamivudina, empregada como uma das drogas antirretrovirais para o tratamento da Aids (SANTOS et al., 2003).

A idade maior ou igual a 40 anos se mostrou fator de risco independente para a exposição ao HBV em pacientes com HIV/Aids e TB, o que é consistente com o estudo conduzido por Aires e colaboradores (2012). Os mesmos afirmam que a idade pode ser um

marcador de exposição de vida, indicando que, ao longo do tempo, existe um risco cumulativo de infecção pelo HBV relacionado a exposições sexuais e percutâneas.

O sexo masculino também constituiu fator de risco independente para a exposição ao HBV. No estudo de Aires e colaboradores (2012), esta variável deixou de ser estatisticamente significativa com o ajuste da OR. Em outro estudo brasileiro (FREITAS et al., 2014), em uma população com infecção pelo HIV/Aids e HBV apenas, o sexo masculino esteve fortemente associado à exposição ao HBV, concordando com os resultados deste trabalho.

De fato, os resultados desta pesquisa refletem o tipo de comportamento sexual de risco, adotado pela população masculina com faixa etária igual ou maior de 40 anos. Além disso, é importante salientar que estes pacientes com faixa etária mais avançada não foram contemplados pelas campanhas de vacinação contra o HBV instituída pelo Ministério da Saúde do Brasil.

A prevalência do HCV encontrada neste estudo foi baixa (6,6%), se comparada às taxas de prevalência da coinfeção HIV/HCV obtidas de serviços de saúde de outras regiões do Brasil, que se situam entre 9,2% e 54,7% (BRASIL, 2011). Já está bem estabelecido na literatura que a prevalência da coinfeção HIV/HCV é altamente variável e deve-se à variação regional e às características da população estudada, a exemplo, os usuários de drogas injetáveis (WOLFF et al., 2008). Pacientes com HIV/Aids que são usuários de drogas apresentam risco quatro vezes maior de se infectarem com o HCV (FARIAS et al., 2012). Em nosso meio, possivelmente, a transmissão do HIV ocorre, sobretudo, pela via sexual, o que justificaria a ocorrência mais elevada de marcadores do HBV e menor do HCV.

Além do pior prognóstico em decorrência da progressão da doença hepática, a presença do HBV ou do HCV em pacientes com HIV/Aids e TB tem sido apontada em alguns estudos como sendo fator de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade após o início do HAART e do tratamento para TB (TOSTMANN et al., 2008; ANAND et al., 2006; SULKOWSKI et al., 2002; UNGO et al., 1998). A hepatotoxicidade pode levar à interrupção ou abandono do tratamento e, consequentemente, ao aumento da resistência aos tuberculostáticos e/ou antirretrovirais e insuficiência terapêutica (AUDSLEY et al.,

2011; SHERMAN; THOMAS; CHUNG, 2011; SAGOE et al.,2012; PANIGRAHI et al.,2012).

No terceiro artigo, estudaram-se sete polimorfismos de base única (SNPs – single nucleotide polymorphisms) do gene NAT2, que são comumente identificados em sua região codificante, em diferentes populações mundiais (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G e G857A). O Gene NAT2 está localizado no cromossomo 8, na região 8p22 (<<http://nat.mbg.duth.gr>>).

A distribuição e frequência dos alelos que codificam para o gene NAT2 podem variar consideravelmente entre e dentro de diferentes grupos étnicos. O SNP 191A é mais frequente em populações africanas nativas e afro-americanas, entretanto é virtualmente ausente nos orientais. As frequências dos SNPs 282T e 590A são similares na maioria das populações estudadas em todo o mundo. Ao que se refere aos SNPs 341C e 857A, observa-se maior frequência destes entre os ameríndios e orientais. Os SNPs 481T e 803G são raros, e as suas ocorrências têm sido comumente ligadas ao 341C (HUANG, 2014; BEN MAHMOUD et al., 2012; LEIRO-FERNANDEZ et al., 2011; GARCIA-MARTIN, 2008; DANDARA et al., 2003).

A população brasileira foi formada por uma extensa mistura de três raízes ancestrais diferentes: ameríndios, europeus e africanos, o que a torna uma das populações mais heterogêneas do mundo (DURSO et. al., 2014; PARRA et al.,2003). Os primeiros estudos brasileiros que descreveram o perfil genético de NAT2 foram conduzidos nos Estados do Rio de Janeiro e de Goiás, onde se demonstraram graus de variação no perfil genotípico do NAT2 (TEIXEIRA et al.,2007; TEIXEIRA et al., 2011). As frequências alélicas encontradas na coorte em análise foram semelhantes às frequências alélicas encontradas na população carioca e goiana, porém diferente das frequências alélicas encontradas na população paraense e na população baiana (TEIXEIRA et al., 2007; TALBOT et al., 2010; SANTOS et al., 2013). Na população paraense, a principal diferença encontrada foi no alelo variante 590A. O presente estudo verificou uma frequência alélica variante deste SNP de 24%, ao passo que, na população paraense, a frequência observada deste mesmo SNP foi de 2,2% (SANTOS et al., 2013). No que tange ao estudo conduzido na Bahia, foram encontradas diferenças de frequências dos SNPs 857A (15,5%), 803G (21,6%) e 590A (31,4%) (TALBOT et. al.,2010), o que sugere a necessidade de outros estudos que tratem desta problemática nas diferentes regiões do país, para que o perfil

genotípico do gene NAT2 possa ser melhor elucidado. Os demais estudos brasileiros não apresentaram as frequências alélicas e genotípicas e se restringiram apenas a apresentar o perfil fenotípico de acetilação observado (ZAUERUCHA-DO-VALE et al., 2014; COSTA et al., 2012; POSSUELO et al., 2008). Verificou-se que as frequências alélicas e genotípicas da população controle saudável, para todos os SNPs estudados, são semelhantes ao que foi observado na população teste (PVHA). Dessa forma, afirma-se a boa representatividade da coorte para o Estado de Pernambuco.

A presença do alelo variante nos loci C282T e G590A constituiu, de forma independente, fator associado à elevação das aminotransferases após o início do uso de drogas antituberculosas em PVHA (OR=1,98 e OR=1,93, respectivamente). O SNP 590A é um polimorfismo não sinônimo, que implica a substituição do resíduo aminoácido 197 Arg-Gln (arginina-glutamina) com consequente diminuição da capacidade de acetilação devido à alteração do sítio catalítico, o que justifica os achados desta pesquisa (HEIN, 2010). Indivíduos metabolizadores lentos têm diminuição da eficiência enzimática da NAT acetyltransferase_2 e, com isso, permitem maior tempo de droga circulante no organismo. Como consequência, a toxicidade produzida pela droga torna-se também maior (LUIZON et al., 2010). Ao contrário deste, o SNP 282T é um polimorfismo sinônimo, ou seja, a sua presença isolada não promove alteração da proteína, sendo também incapaz de alterar o fenótipo molecular acetilador lento/rápido nos pacientes (FRET LAND et al., 2001), divergindo da associação de risco para hepatotoxicidade associada ao SNP 282T em PVHA.

Para efeito de classificação genotípica, um dos critérios utilizados é a análise de apenas quatro SNPs não sinônimos (G191A, T341C, G590A e G857A), que resultam na substituição do aminoácido e na consequente diminuição da capacidade de acetilação. Indivíduos que apresentam pelo menos dois alelos variantes em qualquer um dos SNPs nas posições acima citadas são classificados fenotipicamente como acetiladores lentos (SABBAGH; DARLU, 2005). Outra classificação é descrita no consenso de nomenclatura para o gene NAT2 (< <http://nat.mbg.duth.gr>>). De acordo com esta nomenclatura, via de regra, indivíduos que possuem alelos variantes nestes dois loci (282T e 590A) pertencem ao grupo NAT2*6A e são classificados fenotipicamente como acetiladores lentos (WALRAVEN et al., 2008).

A presente constatação dos SNPs 282T e 590A como fatores de risco para o desenvolvimento de hepatotoxicidade em PVHA após o uso do tratamento para tuberculose incentivou o desenvolvimento de uma análise de haplótipos funcionais. Nessa análise, considerando a comparação do homozigoto ancestral GC/GC x grupo variante, revelou-se o risco 2,3 vezes maior (IC95%(1,0-5,4); $p=0,052$) para os indivíduos variantes. Teixeira e colaboradores (2007) descreveram resultado semelhante em uma população sem HIV no Brasil, porém não realizou análise de haplótipos funcionais. Até o presente momento, não foram publicados estudos que tratem da comparação do efeito genético de haplótipos do gene NAT2 (282T x 590A) da forma como estão aqui descritos.

Na análise de comparação isolada, entre o genótipo homozigoto ancestral e cada um dos genótipos contendo alelos variantes, foi demonstrado que indivíduos portadores de haplótipos GT/GT e GT/AC apresentam um risco de até 4,4 vezes, para desenvolver hepatotoxicidade ($p < 0,005$) (tabela 5). Acredita-se que, de posse dos resultados apresentados, o locus C282T mereça ser cuidadosamente estudado em outras populações, de tamanhos amostrais maiores do que a população analisada neste estudo, e, em se validando os resultados aqui encontrados, este locus possa incorporar critérios de classificação fenotípica de acetilação via genótipo do gene NAT2. É bem verdade que a análise do efeito genotípico de haplótipos é mais refinada e, consequentemente, mais específica. Isso traz maiores benefícios, principalmente, para os indivíduos portadores de assinaturas genotípicas GT/GT e GT/AC, os quais possuem maior risco para desenvolver reação adversa hepática após o uso de medicamentos para o tratamento da tuberculose.

Uma das limitações deste estudo foi a opção adotada para a construção de haplótipos, em que foram analisados apenas os dois *loci* polimórficos que apresentaram risco isolado na análise univariada, e os demais *loci* foram desconsiderados. Isso, de certa forma, traz um desvio de seleção, dado que existe a possibilidade de os demais polimorfismos (G191A, T341C, C481T, A803G e G857A), que não apresentaram risco isolado para a hepatotoxicidade, apresentarem associação com os SNPs estudados.

9 RECOMENDAÇÕES

Tendo em conta as conclusões desta pesquisa, sugere-se que o uso de fluconazol deve ser evitado durante os primeiros 60 dias de tratamento de TB em PVHA. Além disso, ressaltamos a importância de incluir uma nutricionista na equipe de serviços de referência para PVHA. Isso permitirá a implementação de ações preventivas e o monitoramento nutricional do paciente.

Os resultados aqui encontrados são relevantes para a readequação da assistência aos pacientes com HIV/Aids nos serviços de atendimento especializado, onde a investigação de comorbidades e coinfeções deve ser rotina. O advento da HAART, além de outros benefícios, proporcionou a queda da mortalidade e morbidade relacionadas à infecção pelo HIV, entretanto a condição de conviver por um tempo maior com deficiência imunológica permitiu a emergência de agravos como as coinfeções com as hepatites B e C e a tuberculose.

A identificação de fatores de risco para a ocorrência do HBV em pacientes com HIV/Aids e TB poderá contribuir para melhor planejamento de ações educativas e preventivas, especificamente, nesta população, a exemplo de medidas de prevenção da transmissão do HIV, como o aconselhamento a menor exposição sexual, com o uso de preservativos e redução do número de parceiros, dentre outras, as quais devem ser tomadas o mais precocemente possível.

Ressalta-se ainda a importância da imunização de pacientes com HIV/Aids. A vacinação é uma das ações de saúde mais bem sucedidas e com melhor relação custo-benefício. Particularmente, a vacinação contra o HBV é o método mais efetivo para a prevenção da cirrose e do câncer primário de fígado.

Indivíduos com assinaturas genéticas GT/GT e GT/AC (C282T x G590A) devem ser cuidadosamente monitorados quanto à diminuição da ocorrência de hepatotoxicidade durante o tratamento da tuberculose. Acredita-se que pesquisas sobre este tema possam, em um futuro próximo, contribuir para tornar o tratamento individualizado da tuberculose principalmente em PVHA, por meio da adaptação das drogas e suas dosagens de acordo com o perfil genético baseado em haplótipos funcionais do Gene NAT2. O desenvolvimento de novas tecnologias, com novos testes rápidos baseados nestas

diferenças genéticas aqui encontradas, pode facilitar a identificação dos pacientes que se beneficiariam de drogas com menor potencial hepatotóxico.

10 CONCLUSÃO

A incidência de hepatotoxicidade durante o tratamento para TB em PVHA foi de 30,6%. O uso de fluconazol, a desnutrição e ser classificado fenotipicamente como acetilador lento para o gene NAT2 foram fatores independentes associados à hepatotoxicidade.

A prevalência de marcadores sorológicos HBV e HCV na população foi de, respectivamente, 36,7% e 6,6%. O sexo masculino e a faixa etária maior ou igual a 40 anos foram fatores independentes associados com marcadores de infecção pelo HBV.

Em dois *loci* polimórficos (C282T e G590A) dos sete *loci* estudados, a presença do alelo variante constituiu-se de forma independente, fator associado à hepatotoxicidade após o início do uso de drogas antituberculosas em PVHA (OR=1,98 e OR=1,93, respectivamente).

A análise de haplótipos funcionais considerando a comparação do homozigoto ancestral GC/GC x grupo variante revelou risco 2,3 vezes maior de hepatotoxicidade (IC95%(1,0-5,4); $p=0,052$) para os indivíduos variantes.

A análise de comparação isolada, entre o genótipo homozigoto ancestral e cada um dos genótipos contendo alelos variantes, demonstrou que indivíduos portadores de haplótipos GT/GT e GT/AC apresentam um risco de até 4,4 vezes maior para desenvolver hepatotoxicidade ($p < 0,005$).

REFERÊNCIAS

- AIDS Clinical Trials Group (ACTG). Table of grading severity of adult adverse experiences. Rockville (MD): Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 1992.
- AIRES, R.S. et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. **J Clin Virol**, 54, p.327-31, 2012.
- ALAVI, S.M. et al. Drug induced hepatitis among Iranian patients suffering from tuberculosis. **Pak J Med Sci**, v.27, n.2, p.329-332, 2011.
- ALI, H.A. et al. Anti-Tuberculosis Drug Induced Hepatotoxicity among TB/HIV Co-Infected Patients at Jimma University Hospital, Ethiopia: Nested Case-Control Study. **PLoS ONE**, v.8, n.5, e64622, 2013.
- ALPERT, P.L. et al. A prospective study of tuberculosis and human immunodeficiency virus infection: clinical manifestations and factors associated with survival. **Clin Infect Dis**, v. 24, n.4, p. 661-668, Apr. 1997.
- AN, H.R., WU, X.Q., WANG, Z.Y. et al. NAT2 and CYP2E1 polymorphisms associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese patients. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.39, n.6, p.535-43, 2012.
- ANAND, A.; SETH, A. K.; PAUL, M. et al. Risk factors of hepatotoxicity during antituberculosis treatment. **MJAfi**, v.62, p.45-49, 2006.
- ANTOINE, D.J.; WILLIAMS, D.P.; PARK, B.K. Understanding the role of reactive metabolites in drug-induced hepatotoxicity : state of the science. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v.4, p.1415-27, 2008.
- ANTUNES, J.L.F.; WALDMAN, E.A.; MORAES, M. A tuberculose através do século: ícones canônicos e signos do combate à enfermidade. **Ciênc. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.5, n. 2, p. 367-379, Nov. 2000.
- ARBEX, M. A. et al. Antituberculosis drugs: drug interactions, adverse effects, and use in special situations - part 1: first-line drugs. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v. 36, n. 5, p.626-640, 2010.
- ATTIA, K.A. et al. Prevalence and virological profiles of hepatitis B infection in human immunodeficiency virus patients. **World J Hepatol**, v.4, p. 218-23, 2012.
- AUDSLEY, J. et al. Factors associated with elevated ALT in an international HIV/HBV co-infected cohort on long-term HAART. **PLoS One**, vol. 6, e26482, 2011.
- BÉNICHOU, C. Criteria of Drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. **J Hepatol**, v.11, p.272-276, 1990.

BEN MAHMOUD, L. et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Tunisian patients with tuberculosis. **Pathol Biol**, Paris, v.60, n.5, p.324-30, 2012.

BLAL, C.A. et al. High prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with and without HIV in Rio de Janeiro, Brazil. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.24 p.41-3, 2005.

BLANC, F. X. et. al. Earlier versus start of antiretroviral therapy in HIV-infected adults with tuberculosis. **N Engl J Med**, v. 365, n. 16, p.1471-1481, 2011.

BLUMBERG, H.M. et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America : Treatment of Tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.167, n.4, p. 603-62, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço**. 5. ed. Rio de Janeiro: FUNASA/CRPHF/SBPT, 2002. 236p. Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Programa Nacional de DST/aids. **Critérios de definição de casos de aids em adultos e crianças**. Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. **Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes – versão 2**. Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o tratamento da hepatite Viral Crônica B e coinfeções**. Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. **Boletim epidemiológico – AIDS e DST**. Ano VII. Nº 1. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicação/2010/45974/boletim_dst_aids_2010_pdf_19557.pdf> Acesso em: 2 nov. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções**. Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Boletim epidemiológico – O controle da tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios**. v.45, n.2, 2014. Brasília, DF, 2014. Available at : <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/29/BE-2014--2--tb.pdf>> Accessed 07 september 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Ministério da Saúde, 2014.

BREEN, R.A.M. et al. Adverse events and treatment interruption in tuberculosis patients with and without HIV co-infection. **Thoraxjnl**, v.61, p.791-794, 2006.

BOZOK CETINTAS, V. et al. Determining the relation between N-acetyltransferase-2 acetylator phenotype and tuberculosis drug induced hepatitis by molecular biologic tests. **Tuberk Toraks.**, v. 56, n.1, p.81-86, 2008.

BURZYNSKI, J.N.; SCHLUGER, N.W.; GARAY, S.M. Tuberculosis and the human immunodeficiency virus infection. In: RON, W.N.; GARAY, S.M; BLOOM, B.R. **Tuberculosis**. 2. ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 663-688, 2004.

CAI, Y. et al. Pharmacogenetic study of drug-metabolising enzyme polymorphisms on the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. **PLoS One**, v.7, n.10, e47769, 2012.

CAMERON, B.A. et al. Alterations in immune function are associated with liver enzyme elevation in HIV and HCV co-infection after commencement of combination antiretroviral therapy. **J Clin Immunol**, v.31, p.1079-83, 2011.

CARVALHO FILHO, R.J. de. Hepatotoxicidade Induzida por Tuberculostáticos. in.: FERRAZ,M. L. G.; SCHIAVON, J.L.N. ; SILVA, A.E.B. **Hepatologia**. cap.41. Barueri, SP: Manole, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. Council of State and Territorial Epidemiologists; AIDS Program, Center for Infectious Diseases. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v.36, Suppl.1, p.1S-15S, 1987.

CHALASANI, N.; BJÖRNSSON, E. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury. **Gastroenterology**, v.138, p.2246-2259, 2010.

CHO, H. J. et. al. Genetic polymorphism of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. **Tuberculosis**, v.87, p.551-556, 2007.

COCA, N.S.M. et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: a comparison between patients with and without human immunodeficiency virus seropositivity. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.43, n.6, p.624-628, 2010.

CONDE, M. B. et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis. **J Bras Pneumol.**, v.3n.10, p.1018-48, 2009.

CORBETT, E.L. et al. The growing burden of tuberculosis : Global trends and interactions with the HIV epidemic. **Arch Intern Med**, v. 163, p. 1009-1021, May, 2003.

COSTA, G.N. et al. Genetic interaction between NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2E1, and environmental factors is associated with adverse reactions to anti-tuberculosis drugs. **Mol Diagn Ther**, v.16, n.4, p.241-50, 2012.

DANIEL, T.M. The history of tuberculosis. **Respir Med.**, v.100, n.11, p.1862-70, 2006.

DANDARA, C. et al. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotypes in Africans: the identification of a new allele with nucleotide changes 481C>T and 590G>A. **Pharmacogenetics**, v.13, p.55-58, 2003.

DAVID, S.; HAMILTON, J. P. Drug-induced liver injury. **US Gastroenterol Hepatol Rev**. v.6, p.73-80, 2010.

DEAN, G. L. et al. Treatment of tuberculosis in HIV-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 16, p. 75-83, 2002.

DEEKS, S.G.; LEWIN, S.R.; HAVLIR, D.V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. **Lancet**, v.382, p.1525-33, 2013.

DHEDA, K. et al. Outcome of HIV-associated tuberculosis in the era of highly active antiretroviral therapy. **J Infect Dis**, v. 190, n. 9, p. 1670-1676, Nov. 2004.

DU, H. et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype contributes to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: a meta-analysis. **Mol Biol Rep**, v.40, p.3591-3596, 2013.

DURSO, D.F. et al. Association of genetic variants with self-assessed color categories in Brazilians. **PLoS One**, v.9, n.1, p.e83926, 2014.

EL-SADR, W.M.; TSIOURIS, S.J. HIV-associated tuberculosis: diagnostic and treatment challenges. **Semin Respir Crit Care Med**, v.29, p.525-531, 2008.

FARIAS, N. et al. Co-infection of hepatitis B or C and human immunodeficiency virus: an exploratory study in the State of São Paulo, Brazil, 2007 to 2010. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v.21, p.475-486, 2012.

FOUNTAIN, F.F. et al. Isoniazid Hepatotoxicity Associated with Treatment of Latent Tuberculosis Infection. **Chest**, v.128, n.1, p.116-23, 2005.

FREITAS, S.Z. et al. Prevalence, risk factors and genotypes of hepatitis B infection among HIV-infected patients in the State of MS, Central Brazil. **Braz J Infect Dis**, v.18, p.473-80, 2014.

FRETLAND, A. J. et al. Functional characterization of human N-acetyltransferase 2 (NAT2) single nucleotide polymorphisms. **Pharmacogenetics**, v.11, p.207-215, 2001.

FUKINO, K. et al. Effects of N-acetyltransferase 2 (NAT2), CYP2E1 and Glutathione-S-transferase (GST) genotypes on the serum concentrations of isoniazid and metabolites in tuberculosis patients. **J Toxicol Sci.**,v.33, n.2, p.187-95, 2008.

GARCÍA-MARTÍN, E. Interethnic and intraethnic variability of NAT2 single nucleotide polymorphisms. **Curr Drug Metab**, v.9, n.6, p.487-97, 2008.

GONÇALVES, H. A Tuberculose ao longo dos tempos. **Hist. Cienc. Saude-Manguinhos**, v. 7, n. 2, p. 305-327, 2000.

GUPTA, S.; SINGH, S. Occult hepatitis B virus infection in ART-naive HIV-infected patients seen at a tertiary care centre in north India. **BMC Infect Dis**, v.10, p.53, 2010.

GUPTA, V.H. et al. Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India. **J Gastroenterol Hepatol**, v.28, n.8, p.1368-74, 2013.

HAVLIR, D.V. et al. Timing of Antiretroviral Therapy for HIV-1 Infection and Tuberculosis. **N Engl J Med**, v.365, p.1482-91, 2011.

HEIN, D.W. N-acetyltransferase SNPs: emerging concepts serve as a paradigm for understanding complexities of personalized medicine. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v.5, n.4, p.353-66, 2009.

HIIJAR, M.A. et.al. Retrospecto do controle da tuberculose no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 41, supl.1, p. 50-57, 2007.

HOFFMANN, C.J. et al. Hepatotoxicity in an African antiretroviral therapy cohort: the effect of tuberculosis and hepatitis B. **AIDS**, v.21, n.10, p.1301-1308, 2007.

HOMO sapiens N-acetyltransferase 2 (arylamine N-acetyltransferase) (NAT2) gene. GenBank: AY331807. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY331807>>. Acesso em: 2 nov. 2011.

HUANG, Y.S. et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. **Hepatology**, v.35, p.883-889, 2002.

HUANG, Y.S. et al. Cytochrome P450 2E1 Genotype and the Susceptibility to Antituberculosis Drug-Induced Hepatitis. **Hepatology**, v.37, p.924-930, 2003.

HUANG, Y.S. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury. **J Chin Med Assoc**, v.77, n.4, p.169-73, 2014.

HUMAN NAT2 Alleles (Haplotypes). Department of molecular biology and Genetics. Democritus University of Thrace. Disponível em: < <http://nat.mbg.duth.gr> > . Acesso em: 2 nov. 2011.

JAMAL, L. F.; MOHERDAUI, F. Tuberculosis and HIV infection in Brazil: magnitude and strategies for control. **Rev. saúde pública**, v.41, Supl 1, p.104-110, 2007.

JORGE, Stéfano G. Hepatopatia Induzida por Drogas. [citado em 2007 out 09]. Disponível em: <http://www.hepcentro.com.br/hepatopatia_induzida_por_drogas.htm>. Acesso em: 09 out. 2007.

KARIM, A.S.S. et al. Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. **N Engl J Med.**, v.362, n.8, p.697-706, 2010.

KINZIG-SCHPPERS, M. et al. Should we use N-acetyltransferase type 2 genotyping to personalize isoniazid doses? **Antimicrob Agents Chemother**, v.49, n.5, p.1733-8, 2005.

KRITSKI, A. L. et al. **TUBERCULOSE: Do ambulatório à Enfermaria**. 3.ed, São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

LEE, W. M. Drug-induced hepatotoxicity. **N Engl J Med**.v.349, p.474-485, 2003.

LEE, S.W. et. al. NAT2 and CYP 2E1 polymorphisms and susceptibility to first-line anti-tuberculosis drug-induced hepatitis. **Int J Tuberc Lung Dis.**,v.14, n.5, p.622-626, 2010.

LEIRO-FERNANDEZ, V. et al. N-acetyltransferase 2 polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Caucasians. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.15, p.1403–1408, 2011.

LUIZON, M. R. et. al. Bases da Farmacogenética. **Genética na escola**. v.5, n.1, nov. 2010. Disponível em: <<http://www.sbg.org.br>>. Acesso em: 2 nov. 2011.

MACALLAN, D.C. Nutrition and immune function in human immunodeficiency virus infection. **Proc Nutr Soc**, v.58, p.743-48, 1999.

MACIEL, M. S. et al. A história da tuberculose no Brasil: os muitos tons (de cinza) da miséria. **Rev Bras Clin Med**, v.10, n.3, p.226-30, 2012.

MAHMOOD, k. et al. Hepatotoxicity with antituberculosis drugs: the risk factors. **Pak J Med Sci**, v.23, p.33-38, 2007.

MAKHLOUF, H.A. et al. A prospective study of antituberculous drug-induced hepatotoxicity in an area endemic for liver diseases. **Hepatol Int**, v.2, p.353–360, 2008.

MARZUKI, O.A. et al. Prevalence and risk factors of anti-tuberculosis drug-induced hepatitis in Malaysia. **Singapore Med J**, v.49, n.9, p.688- 693, 2008.

MASGALA, A.; BONOVAS, S.; NIKOLOPOULOS, G. K. Recent advances in the treatment of HIV/HBV and HIV/HCV co-infection. **Mini Rev Med Chem**, v.12, p.890-904, 2012.

MANKHATITHAM, W.; LUEANGNIYOMKUL, A.; MANOSUTHI, W. Hepatotoxicity in patients co-infected with tuberculosis and HIV-1 while receiving non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based antiretroviral therapy and rifampicin-containing anti-tuberculosis regimen. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v.42, n.3, p.651-8, 2011.

MATOS, L.C.; MARTINS, B. Hepatites tóxicas: revisão da literatura. **Medicina Interna-Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna**, v. 12, n.4, 2005.

METZGER, I. F.; SOUZA-COSTA, D. C.; TANUS-SANTOS, J. E. Farmacogenética: Princípios, aplicações e perspectivas. **Medicina**, v.39, n.4, p.515-21, 2006.

MITCHELL, J.R. et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydranize metabolites. **Clin Pharmacol Ther**, v.18, n.1, p.70-79, 1975.

MO, P. et al. Prevalence, drug-induced hepatotoxicity, and mortality among patients multi-infected with HIV, tuberculosis, and hepatitis virus. **Int J Infect Dis**, v.28, p.95-100, 2014.

MONTEIRO, E. Nota sobre Tuberculinas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.42, n.1, p.1-10, 1945.

MUKADI, Y. et al. Spectrum of immunodeficiency in HIV-1-infected patients with pulmonary tuberculosis in Zaire. **Lancet**, v. 342, n. 8864, p. 143-146, Jul. 1993.

MURRAY, J.F. A century of tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.169, n.11, p.1181-6, 2004.

NEVES, J.S. Centenário da descoberta do Bacilo de Koch. **Jornal de Pneumologia**, v.8, n.2, p.69-70, 1982.

OHNO, M. et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.4, n.3, p.256-61, 2000.

OPERSKALSKI, E.A.; KOVACS, A. HIV/HCV co-infection: pathogenesis, clinical complications, treatment, and new therapeutic technologies. **Curr HIV/AIDS Rep**, v.8, p.12-22, 2011.

PANIGRAHI, R. et al. Occult HBV infection among anti-HBc positive HIV-infected patients in apex referral centre, Eastern India. **Ann Hepatol**, v.11, p.870-5, 2012.

PARRA, F.C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.100, n.1, p.177-82, 2003.

PEREIRA, D. G. Importância do Metabolismo no planejamento de fármacos. **Quim Nova**, v. 30, n.1, p.171-177, 2007.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde do Estado. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Boletim informativo DST/AIDS. **Programa Estadual DST/aids**. Ano 9, n. 2, dez. 2009.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde do Estado. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Boletim informativo DST/AIDS. **Programa Estadual DST/aids**. Ano 3, n.1, ago. 2010.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde do Estado. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Boletim eletrônico DST/AIDS. **Programa Estadual DST/aids**. Ano 1, n. 2, Jul, 2014.

PERRONE, C. et al. Should pulmonary tuberculosis be an AIDS-defining diagnosis in patients infected with HIV? **Int J Tuber Lung Dis**, v. 73, n. 1, p. 39-44, 1992.

PESSOA, R. F. et al. Farmacogenética e Farmacogenômica. Evidências de como a genética pode influenciar a eficácia de fármacos e a busca por novos alvos farmacológicos. **Infarma**, v.18, n.11/12, 2006.

PIOT, P.; QUINN, T.C. Response to the AIDS pandemic--a global health model. **N Engl J Med**, v.368, p.2210-8, 2013.

POSSUELO, L.G. et al. Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. **Eur J Clin Pharmacol**, v.64, n.7, p.673-81, 2008.

PUKENYTE, E. et. al. Incidence of and risk factors for severe liver toxicity in HIV-infected patients an anti-tuberculosis treatment. **Inter J Tuberc Lung Dis**, v. 11, p. 78-84, 2007.

PUOTI, M. et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. **AIDS**, v.18, p.2285-93, 2004.

RACHID, Márcia; SCHECHTER, MAURO. **Manual de HIV/AIDS**. 9 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2008.

RAIMONDO, G. et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. **J Hepatol**, v.49, p.652-7, 2008.

ROSAS-TARACO, A.G. et al. Mycobacterium tuberculosis upregulates coreceptors CCR5 and CXCR4 while HIV modulates CD14 favoring concurrent infection. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v.22, n.1, p.45-51, 2006.

ROSEMBERG, J. Tuberculose - aspectos históricos, realidades, seu romantismo e transculturação. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v.7, n.2, 1999.

SABBAGH, A.; DARLU, P. Inferring haplotypes at the NAT2 locus: the computational approach. **BMC Genetics**, v.6, p.30, 2005.

SAGOE, K.W. et al. Prevalence and impact of hepatitis B and C virus co-infections in antiretroviral treatment naïve patients with HIV infection at a major treatment center in Ghana. **J Med Virol**, v.84, p.6-10, 2012.

SANTOS, E.A. et al. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.22, p.92-8,2003.

SANTOS, M.A. P. S. et. al. Risk factors for treatment delay in Pulmonary tuberculosis in Recife, Brazil. **BMC Public Health**, v.5, p.27, 2005.

SANTOS, N.P. et al. N-acetyl transferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. **Int J Tuberc Lung Dis**, v.17, n.4, p.499-504, 2013.

SCEVOLA, D. et al. Reversal of cachexia in pacientes treated with potent antiretroviral. **AIDS Read**, v.10, n.6, p.365-75, 2000.

SHARMA, S. K. et al. Evaluation of clinical and immunogenetic risk factors for the development of hepatotoxicity during antituberculosis treatment. **Am J Respir Crit Care Med**, v.166, p.916-919, 2002.

SHARMA, A.M.; KADHIRAVAN, T. HIV-TB co-infection: Epidemiology, diagnosis & management. **Indian J Med Res**, v.121, p.550-567, 2005.

SHEPARD, C.W. et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. **Epidemiol Rev**, v.28, p.112-25, 2006.

SHERMAN, K.E.; THOMAS, D.L.; CHUNG, R.T. Human immunodeficiency virus and liver disease forum 2010: conference proceedings. **Hepatology**, v.54, p.2245-53, 2011.

SIELEUNOU, I. et al. Determinants of survival in AIDS patients on antiretroviral therapy in a rural centre in the Far-North Province, Cameroon. **Trop Med Int Health**, v.14, n.1, p.36-43, 2009.

SINGLA, N. et al. Association of NAT2, GST and CYP2E1 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. **Tuberculosis**, v.94, p.293-298, 2014.

SLOAN, D.J.; DAVIES, G.R.; KHOO, S.H. Recent advances in tuberculosis: New drugs and treatment regimens. **Curr Respir Med Rev.**, v.9, n.3, p.200–210, 2013.

SOUZA, M. G. et al. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.37, p.391-5, 2004.

STOLF, A. Toxicologia, Toxinologia e Metabolismo. In: CURSO DE VERÃO EM FARMACOLOGIA, 3., 2011, Paraná. **Apostila...** Paraná: UFPR, 2011. Disponível em: <http://insightltda.com.br/images/dinamica/pdf_7fe1310c8e894324299fcfd3b8f760ef.pdf> . Acesso em: 2 nov. 2011.

SULKOWSKI, M. S. et al. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. **Hepatology**, v.35, p.182-9, 2002.

SWAMINATHAN, S.; PADMAPATRIYADARSINI, C.; NARENDRAN, G. HIV-associated tuberculosis: clinical update. **Clin Infect Dis**, v.50, n.10, p.1377-1386, 2010.

TALBOT, J. et al. Interethnic diversity of NAT2 polymorphisms in Brazilian admixed populations. **BMC Genet**, v.11, p.87, 2010.

TEIXEIRA, R.L. et al. Genetic profile of the arylamine N-acetyltransferase 2 coding gene among individuals from two different regions of Brazil. **Mutat Res**, v.624, p.31-40, 2007.

TEIXEIRA, R.L.F. et al. Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. **MEM INST OSWALDO CRUZ**, v.106, n.6, p.716-724, 2011.

TOSTMANN, A. et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. **J Gastroenterol Hepatol**, v.23, n.2 ,p.192-202, 2008.

TRIPATHI, K. D. **Farmacologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

UIP D.E., LEWIS D.S., PEDRO R.J., editores. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo hiv 2007/ 2008. **J Bras Aids**, Spec n.8, p.1-112, 2007.

UNGO, J.R. et al. Antituberculosis Drug-induced Hepatotoxicity: The Role of Hepatitis C Virus and the Human Immunodeficiency Virus. **Am J Respir Crit Care Med**, v.157, p.1871–1876, 1998.

ÚRIZ, J. et al. Tuberculosis in patients with HIV infection. **An Sist Sanit Navar**, v.30, Suppl.2, p.131-142, 2007.

VILELA, Maria Júlia Barros. **Prevalência da infecção pelo HIV e desfecho do tratamento da tuberculose em indivíduos atendidos na rede de saúde do Recife**. 2013. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2013.

VUILLEUMIER, N. et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. **Eur J Clin Pharmacol**, v.62, n.6, p.423-429, 2006.

WALRAVEN, J. M. et al. Structure/function evaluations of single nucleotide polymorphisms in human n-acetyltransferase 2. **Curr Drug Metab**, v.9, p.471-486, 2008.

WANG, J.L. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of the Tolerability and Hepatotoxicity of Antifungals in Empirical and Definitive Therapy for Invasive Fungal Infection. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, n.6, p.2409–2419, 2010.

WANG, J.Y. et al. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. **J Infection**, v.62, p.448– 455, 2011.

WILLIAM, L. Drug-induced hepatotoxicity. **N Engl J Med**, v. 333, p. 1119-1127, 1995.

WOLFF, F.H. et al. Risk factors for hepatitis C virus infection in individuals infected with the HIV. **Dig liver dis**, v.40, p.460-7, 2008.

WONG, W.M. et. al. Antituberculosis Drug-Related Liver Dysfunction in Chronic Hepatitis B Infection. **Hepatology**. v. 31, n.1, p.201–206, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Tuberculosis Control: surveillance, planning, financing. Geneva, Switzerland, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis control: surveillance, planning and financing. Geneva, Switzerland, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Tuberculosis Report 2013. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2014. 10 facts on immunization. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/immunization/en>> Acesso em: 19 out. 2014.

YIMER, G. et al. Anti-tuberculosis therapy-induced hepatotoxicity among Ethiopian HIV-positive and negative patients. **PLoS One**, v. 3, n. 3, p. e1809, 2008.

YIMER, G. et al. Pharmacogenetic & pharmacokinetic biomarker for efavirenz based ARV and rifampicin based anti-TB drug induced liver injury in TB-HIV infected patients. **PLoS One**, v.6, n.12, p.e27810, 2011.

YIMER, G. et al. Evaluation of patterns of liver toxicity in patients on antiretroviral and anti-tuberculosis drugs: a prospective four arm observational study in ethiopian patients. **PLoS One**, v.9, n.4, p.e94271, 2014.

XIMENES, R.A. et al. Methodology of a nationwide cross-sectional survey of prevalence and epidemiological patterns of hepatitis A, B and C infection in Brazil. **Cad Saude Publica**, v.26, p.1693-704, 2010.

ZAVERUCHA-DO-VALLE, C. et al. The role of cigarette smoking and liver enzymes polymorphisms in anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. **Tuberculosis** (Edinb), v.94, n.3, p.299-305, 2014.

ZWERLING, A. et al. The BCG World Atlas: A Database of Global BCG Vaccination Policies and Practices. **PLoS Med.**, v.8, n.3, p.e1001012, 2011.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome da Pesquisa: Estudo clínico-epidemiológico da co-infecção HIV/Tuberculose em Recife.

Coordenadora Principal do Projeto: Profa. Dra. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Endereço: Av. 17 de agosto, 1820 – apto. 301 – Casa Forte, Recife-PE. CEP: 52061-540.

Assistente de Coordenação do Projeto: Dra. Magda Maruza Melo de Barros Oliveira

Endereço: Estrada Real do Poço, nº 373, Poço da Panela. Recife/PE. CEP: 52.061.200

Prezado Sr (a).

Estamos fazendo um estudo para conhecer melhor o que acontece com a tuberculose quando essa doença está associada à infecção pelo vírus da aids. Um dos objetivos dessa pesquisa é saber entre os pacientes que começam o tratamento para tuberculose, no Recife, quantos estão também infectados pelo vírus da aids. (HIV). Da mesma forma, verificar entre os pacientes com o vírus da aids, quantos desenvolvem a tuberculose. Para diminuir a proporção destas pessoas que têm as duas infecções é preciso também saber quais delas têm um melhor resultado do remédio que tomam para evitar a tuberculose e dos remédios que tomam para curar a tuberculose.

Para isso é preciso fazer algumas perguntas sobre as condições e hábitos de vida, assim como sobre alguns aspectos dos sintomas apresentados, resultados de exames e remédios que tomaram ou que estão tomando. Muitas vezes os pacientes que estão infectados pelo vírus da aids apresentam a tuberculose de forma diferente daqueles que não têm o vírus. Isto causa dificuldade em se encontrar o bacilo da tuberculose através dos exames costumeiros, como por exemplo, o exame de escarro. Assim, outra razão para fazer esse estudo é tentar melhorar o diagnóstico da tuberculose em pacientes com o vírus da aids. A tuberculose é uma doença que já tem vacina e remédio há muito tempo, mas que muita gente continua adoecendo.

Esse trabalho poderá ajudar muitas pessoas que estão com tuberculose e não sabem que estão com o vírus da aids. Se encontrarmos alguém que tem tuberculose e infecção pelo HIV, o tratamento será iniciado o mais rápido possível, para que a pessoa seja curada e não passe o germe para outras pessoas.

Além disso, o Sr (a) pode saber o resultado de todos os seus exames no hospital ou posto de saúde onde está sendo acompanhado. Esses resultados só serão entregues para o Senhor (a) e as pessoas que estão lhe tratando. Além disso, a sua participação nesta pesquisa não causará nenhum problema, porque não será feito nenhum exame a mais dos que aqueles que deveriam ser realizados para esclarecer sua doença.

Se o Sr (a) concordar, a gente pede que assine este papel dizendo que entendeu as explicações e que está concordando.

Se o Sr (a) não quiser participar, isso não vai mudar o seu atendimento no Serviço, e os exames que o seu médico solicitou serão realizados do mesmo jeito.

Eu, _____ RG nº _____
abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar.

1 – A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa.

2 – A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem que isso traga prejuízo à continuação dos meus cuidados e tratamento.

3 – A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade.

4 – O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade de continuar participando.

Tenho ciência do exposto acima e concordo em participar deste estudo.

Recife, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do paciente ou responsável: _____.

1ª testemunha: _____.

2ª testemunha: _____.

Coordenador: _____.

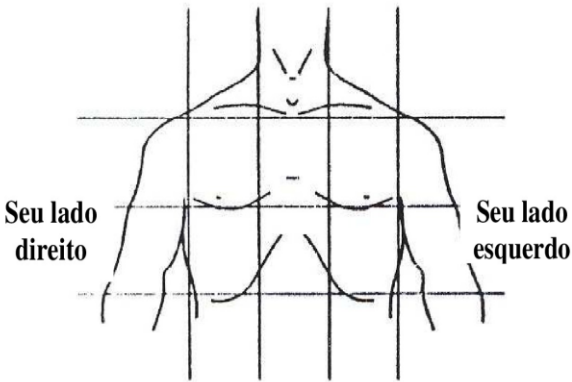
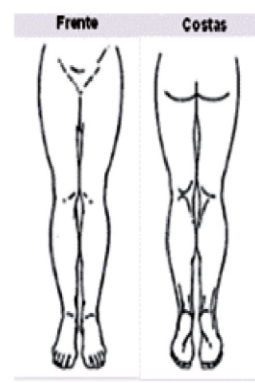
ACOMPANHAMENTO DE COORTE DE PACIENTES COM HIV / AIDS EM TRÊS SERVIÇOS DE SAÚDE DO RECIFE									
INFORMAÇÕES INICIAIS									
Nome do Hospital			Nome do entrevistador				Horário de início e fim da entrevista		
							Início: Fim:		
I - IDENTIFICAÇÃO									
1 - Número do prontuário		2 - Nome				3 - Data da Entrevista		4 - Sexo	
						/			
5 - Número de identificação na pesquisa			6 - Data de Nascimento		7 - Idade		8 - Nr. do Same		
			/						
9 - Nome da Mãe									
10 - Raça (cor da pele auto referida)			11 - Estado Civil		12 - Com quem você reside		13 - Você tem companheiro (a) fixo(a) ?		
1 Branca			1 Solteiro (a)		1 Sozinho		1 - Sim		
2 Preta			2 Casado (a)		2 Com família		2 - Não		
3 Amarela			3 Separado (a)		3 Com companheiro (a)				
4 Parda			4 Viúvo (a)		4 Em abrigo (casa de apoio)				
5 Indígena			5 Divorciado		5 Na rua				
II - PROCEDÊNCIA									
14 - Qual a cidade que você mora			15 - Endereço: Rua						
16 - Nr.			17 - Apto			18 - Bl			
19 - Bairro			20 - Estado			21 - Cep			
22 - Tel:			23 - Cel:			24 - Tel. Vizinho / Orelhão			
25 - Dê um ponto de referência para chegar na sua casa:									
III CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA DO CHEFE DA FAMÍLIA									
26 - Você é o chefe/responsável pela família			27 - O chefe da família sabe ler e escrever			28 - Qual foi a última série que o chefe da família estudou e passou de ano?			
1 - Sim (vai para questão 34)			1 - Sim			1. 1 a 9 Série			
2 - Não			2 - Não			2. 10 a 12 Série			
			8 - Não sabe informar			3. 13 a 19 Série			
29 - Na semana passada, o chefe da família trabalhou em alguma atividade em que recebeu dinheiro ?									
1 - Sim									
2 - Não									
8 - Não sabe informar									
30 - Qual a ocupação do chefe da família ?			31 - O Chefe da família possui outro tipo de rendimento ?			32 - O chefe da família recebeu no mês passado algum desses rendimentos abaixo			
			1 - Sim			1 - Auxílio doença			
			2 - Não (se sim vá para questão 33)...			2 - Aposentadoria por invalidez			
			8 - Não sabe informar			3 - Aposentadoria por tempo de serviço			
						4 - Loas			
						5 - Aluguel 6			
						- Outros			
						7 - Não			
						8 - Não sabe informar			
33 - Quanto de dinheiro o chefe da família recebeu no mês passado ?									
R\$									

IV CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA INDIVÍDUO			
34 - Você sabe ler e escrever 1 - Sim ☐ 2 - Não ☐		35 - Qual foi a última série que você estudou e passou de ano ? 1. 1 a 9 Série ☐ 2. 10 a 12 Série ☐ 3. 13 a 19 Série ☐	
37 - Qual é a sua ocupação ? 		38 - Você possui outro tipo de rendimento ? 1 - Sim 2 - Não (se sim vá para questão 40) 8 - Não sabe informar ☐	
		39 - Você recebeu no mês passado algum desses rendimentos abaixo ? 1 - Auxílio doença 2 - Aposentadoria por invalidez 3 - Aposentadoria por tempo de serviço 4 - Loas 5 - Aluguel 6 - Outros 7 - Não ☐	
40 - Quanto de dinheiro o você recebeu no mês passado ? R\$. ,			
V HÁBITOS DE VIDA			
(hábitos / dieta)			
Você se alimenta com algum dos alimentos abaixo todos os dias?			
41 - Leite 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 43) ☐		42 - Quantos copos de leite o você toma por dia? (01 copo de 250ml = 300mg de cálcio) 1 - Um copo 2 - Dois copos 3 - Três copos ☐	
43.1 - Quantas porções de iogurte o você toma por dia? (200 ml que equivale a 300mg de cálcio) 1 - Uma porção 2 - Duas porções 3 - Três ou mais porções ☐		44 - Coalhada 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 45) ☐	
45 - Queijo 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 46) ☐		45.1 - Quantas porções de queijo o você come por dia? (01 porção de queijo = 30g (fatia grossa) equivalente a 300mg de cálcio) 1 - Uma porção 2 - Duas porções ☐	
		46 - Verduras 1 - Sim ☐ 2 - Não ☐	47 - Frutas 1 - Sim ☐ 2 - Não ☐
(hábitos / atividade física)			
Pense em todas as atividades físicas vigorosas (pessada) que você realizou nos últimos 7 dias. Atividades físicas vigorosas são atividades que exigem esforço físico intenso e faz você respirar muito mais intensamente que o normal. Pense apenas naquelas atividades que você realizou por pelo menos dez minutos de cada vez.			
48 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você realizou atividades físicas vigorosas tais como levantar objetos pesados, cavar, fazer ginástica ou andar de bicicleta em velocidade ? dias por semana nenhuma atividade física vigorosa (vá para a questão 50)		49 - Quanto tempo você passava fazendo atividades físicas vigorosas num desses dias ? horas por dia minutos por dia não sei/não tenho certeza	
Pense em todas as atividades físicas moderadas que você realizou nos últimos 7 dias. Atividades físicas moderadas são atividades que exigem esforço físico moderado e fazem você respirar um pouco mais intensamente que o normal. Pense apenas naquelas atividades que você realizou por pelo menos dez minutos de cada vez.			
50 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você realizou atividades físicas moderadas tais como andar de bicicleta em velocidade normal, carregar pesos leves, jogar tênis em dupla? Não inclua caminhada. dias por semana não realizei nenhuma atividade física moderada (vá para a questão 52)		51 - Quanto tempo você costumava passar fazendo atividades físicas moderadas num desses dias ? horas por dia minutos por dia não sei/ não tenho certeza	

Pense no tempo que você passou caminhando nos últimos 7 dias. Isto inclui no trabalho e em casa, caminhando para se deslocar de um lugar para outro e qualquer outra caminhada que pudesse ter feito somente por brincadeira, esporte, exercício ou lazer.			
52 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você caminhou durante pelo menos 10 minutos de uma vez ? dias por semana não caminhei (vá para a questão 54)		53 - Quanto tempo você costumava passar caminhando num desses dias ? horas por dia minutos por dia Não sei/não tenho certeza	
A última pergunta é sobre o tempo que você passou sentado em dias de semana nos últimos 7 dias. Inclua tempo passado no trabalho, em casa, realizando tarefas relacionadas a um curso e durante o tempo de lazer. Isso pode incluir o tempo passado sentado a uma escrivaninha, visitando amigos, lendo ou sentado ou deitado vendo televisão.			
54 - Durante os últimos 7 dias, quanto tempo você passou sentado num dia de semana ? horas por dia minutos por dia Não sei/não tenho certeza			
(hábitos / ingestão de bebida alcoólica)			
55 - Na sua vida inteira, você já tomou pelo menos 8 drinks (Por drink, eu quero dizer meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.) de qualquer tipo de bebida alcoólica)? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 62)		56 - Já houve algum período na sua vida em que em um ano você tomou pelo menos 8 drinks contendo álcool ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 62)	
		57 - Durante os últimos 30 dias, você bebeu pelo menos uma dose de alguma bebida alcoólica? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 62)	
58 - Durante os últimos 3 meses, com que frequência você geralmente tomou cerveja, vinho, pinga ou qualquer outro tipo de bebida alcoólica? 1 - Todos os dias 2 - Quase todos os dias 3 - 3 a 4 dias por semana 4 - 1 a 2 dias por semana		59 - Nos dias em que você bebeu nos últimos 3 meses quantos drinks você geralmente tomou num único dia? Por drink, eu quero dizer: meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.). 9 - Não se aplica	
60 - Você está atualmente em tratamento para um problema com o álcool ? 1 - Sim 2 - Não		61 - A classificação quanto ao uso de bebida alcoólica (preenchido pelos coordenadores): 1 - Abstinência 2 - Bebedor leve (para homens, o produto da questão 58 pela 59 menor que 21 e para mulheres menor de 14) 3 - Bebedor pesado (para homens, o produto da questão 58 pela 59, maior ou igual a 21 e para mulheres maior ou igual a 14) 4 - Dependente do álcool (Caso tenha respondido sim, na questão 60).	
(hábitos / tabagismo)			
62 - Você fuma cigarros atualmente ? 1 - Sim 2 - Nunca fumei (vai para questão 67) 3 - Fumou mas parou (vai para questão 64) 4 - Não informado		63 - Quantos cigarros você fuma ? 1 - 1 a 10 cigarros (até meio maço) por dia 2 - 11 a 20 cigarros (meio a um maço) por dia 3 - mais de 20 cigarros (mais de um maço) 4 - de um a dez cigarros por semana 5 - não sei	
		64 - Com que idade começou a fumar? anos não sabe informar	
65 - Há quanto tempo parou de fumar ? 1. Meses 2. Anos 3. Não sabe informar 4. Nunca parou		66 - Até agora, quantos cigarros você acha que fumou durante a sua vida inteira? 1 - entre 1 e 100 cigarros (até 5 maços) 2 - mais de 100 cigarros (mais de 5 maços) 3 - não sei	
		67 - Você usa outros derivados do tabaco ? 1 - Sim 2 - Não (pula a questão 69) 3 - Usou mas parou	
		68 - Qual dos abaixo listados? 1 - cachimbo 2 - charuto 3 - fumo de rolo mascado 4 - cigarro de palha 5 - cigarilha 6 - rapé	
(hábitos uso de drogas ilícitas)			
69 - Você já experimentou?			
69.1 - MACONHA 1 - Nunca usei 2 - Fumei alguma vez na vida 3 - Não fumei no último ano 4 - Fumei no último ano		69.2 - COCAÍNA 1 - Nunca usei 2 - Usei alguma vez na vida 3 - Não usei no último ano 4 - Usei no último ano	
		69.3 - CRACK 1 - Nunca usei (pipei) 2 - Usei alguma vez na vida 3 - Não usei no último ano 4 - Usei no último ano	
		69.4 - COLA 1 - Nunca usei 2 - Usei alguma vez na vida 3 - Não usei no último ano 4 - Usei no último ano	

VI - INFECÇÃO PELO HIV/aids				
70 - Há quanto tempo o você ficou sabendo que está com HIV/aids ?		71 - Você está apresentando algum destes problemas ?		
1. Dias 2. Meses 3. Anos		71.1 - Diarréia por 30 dias ou mais? 1 - Sim 2 - Não	71.2 - Caspa na face e couro cabeludo e/ou problemas de pele ? 1 - Sim 2 - Não	71.3 - Sapinho na boca ou cândida ? 1 - Sim 2 - Não
		71.4 - Gânglios (lândrias) em pelo menos dois locais do corpo há mais de um mês o 1 - Sim 2 - Não		
72 - Você toma algum remédio (coquetel) para tratar o HIV/aids? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 105) 8 - Não sabe informar (vai para questão 105)		73 - Esse é o primeiro esquema do coquetel que você usa? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	74 - De duas semanas para cá você deixou de tomar algum dos comprimidos (remédios) do coquetel? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	75 - Se sim, quantos comprimidos você deixou de tomar?
76 - Você já parou o tratamento por sua conta alguma vez? 1 - Sim 2 - Não		77 - Você percebeu alguma mudança na aparência do seu corpo após o início do tratamento para o HIV? 1 - Sim (próximas) 2 - Não (vai para questão 105) 8 - Não sabe informar (vai para questão 105)	78 - Você acha que os seu braços estão afinando? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 81)	79 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos
80 - O quanto esta mudança é percebida? 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			81 - Você acha que as suas pernas estão afinando? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 84)	82 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos
83 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			84 - Você acha que as veias dos seu braços estão mais salientes? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 87)	85 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos
86 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			87 - Você acha que as veias das suas pernas estão mais salientes? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 90) 8 - Não sabe informar (vai para questão 90)	88 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos
89 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			90 - Você acha que o seu rosto ficou mais magro 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 93)	91 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos
92 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			93 - Você acha que suas nádegas estão diminuindo? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 96)	94 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos

95 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança	96 - Você acha o tamanho da sua barriga (cintura) aumentou 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 99) 8 - Não sabe informar (vai para questão 99)	97 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos	
98 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança	99 - Você acha que seu pescoço está mais grosso 1 - Sim 2 - Não (v/para questão 102)	100 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos	
101 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança	102 - Você acha que suas mamas aumentaram de tamanho 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 105)	103 - Há quanto tempo? 1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos	
104 - O quanto esta mudança é percebida 1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança			
VII - SINTOMAS / TUBERCULOSE			
105 - Você está tendo tosse? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 109) 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	106 - Há quanto tempo você está tossindo? 1 - Dias 2 - Semanas 3 - Meses 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	107 - Sua tosse tem catarro? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	108 - Seu catarro tem sangue? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica
109 - Você está tendo febre? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 111) 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	110 - Há quanto tempo Você está tendo febre? 1 - Dias 2 - Semanas 3 - Meses 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	111 - Você sua enquanto está dormindo a ponto de molhar suas roupas? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	112 - Você está perdendo peso? 1 - Sim 2 - Não (v/para questão 115) 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica
113 - Há quanto tempo Você está perdendo peso? 1 - Dias 2 - Semanas 3 - Meses 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	114 - Quantos quilos Você perdeu? , Kg 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	115 - Você está sentindo falta de ar? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 117) 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	
116 - Há quanto tempo Você está sentindo falta de ar? 1 - Dias 2 - Semanas 3 - Meses 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	117 - Você está sentindo fraqueza? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 119) 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	118 - Há quanto tempo Você está sentindo fraqueza? 1 - Dias 2 - Semanas 3 - Meses 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica	

VIII - SINTOMAS / DOR TORÁCICA		
119 - Você algumas vezes sente dor ou desconforto no peito ? 1 - Sim ☐ 2 - Não (vai para questão 121) ☐	120 - Onde você sente esta dor ou desconforto ? Por favor marque um X nos lugares apropriados Aponte os locais apropriados 	
121 - Quando você caminha em velocidade normal em um lugar plano, isto provoca dor ? 1 - Sim 2 - Não 3 - Incapaz ☐		
122 - Quando você caminha numa subida ou quando anda com pressa, isso provoca a dor ? 1 - Sim 2 - Não 3 - Incapaz ☐		
123 - Quando você sente alguma dor ou desconforto no peito ao caminhar o que você faz ? 1 - Páro 2 - Diminuo o ritmo 3 - Continuo no mesmo ritmo ☐ 9 - Não se aplica	124 - A dor ou desconforto no peito desaparece se você ficar parado ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Não se aplica ☐	125 - Quanto tempo leva para sumir ou desaparecer a dor ? 1 - 10 minutos ou menos 2 - Mais de 10 minutos 9 - Não se aplica ☐
126 - Você tem dor ou desconforto na(s) perna(s) quando anda ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 132) 3 - Eu sou incapaz de andar ☐	127 - Essa dor alguma vez começa quando você está em pé parado ou sentado ? 1 - Sim 2 - Não ☐	131 - Onde você sente essa dor ou desconforto ? Marque com um "X" o(s) lugar(es) no diagrama abaixo. 
128 - Você tem essa dor ao subir uma ladeira ou quando anda rápido ? 1 - Sim 2 - Não ☐	129 - Você tem essa dor quando anda no seu ritmo normal, no plano ? 1 - Sim 2 - Não ☐	
130 - O que acontece com a dor quando você pára ? 1 - Geralmente continua por mais que 10 minutos 2 - Geralmente desaparecem em 10 minutos ou menos ☐		
IX - ANTECEDENTES PESSOAIS		
132 - Você conhece alguém com tuberculose ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 135) 8 - Não sabe informar ☐	133 - Quando esta pessoa esteve doente ? 1. Dias 2. Meses ☐ 3. Anos 8. Não sabe informar ☐ 9. Não se aplica ☐	134 - Você e a pessoa com tuberculose dormiam na mesma casa ? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica ☐
135 - Você já realizou teste para tuberculose no braço (teste de Mantoux) ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 137) 8 - Não sabe informar ☐	136 - Se sim, você sabe informar o resultado ? 1 - Positivo 2 - Negativo 8 - Não sabe informar ☐	137 - O seu médico alguma vez passou remédio para PREVENIR a tuberculose ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 139) 8 - Não sabe informar (vai para questão 139) ☐
138 - Você tomou o remédio durante todo o tempo que o médico disse para tomar ? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica ☐	139 - Você já se TRATOU para tuberculose alguma vez na sua vida ? 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 142) 8 - Não sabe informar (vai para questão 142) ☐	140 - Há quanto tempo você teve a doença ? 1. Dias 2. Meses ☐ 3. Anos 8. Não sabe informar ☐ 9. Não se aplica ☐

141 - Você tomou os remédios para tratar a tuberculose durante o período que o médico disse para o sr (a) tomar ? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐ 9 – Não se aplica ☐	142 - Você foi informado por profissional de saúde que tem diabetes mellitus (açúcar no sangue) ? 1 – Sim ☐ 2 – Não (vai para questão 147) ☐ 8 – Não sabe informar (vai para questão 147) ☐	143 - Há quanto tempo você soube que tem diabetes mellitus ? 1. Dias ☐ 2. Meses ☐ 3. Anos ☐ 8. Não sabe informar ☐ 9. Não se aplica ☐
144 - Você soube que tem diabetes antes de saber que estava com HIV/aids ? 1 – Sim (vai para questão 87) ☐ 2 – Não ☐	145 - Você soube que tem diabetes após o tratamento para HIV/aids? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 3 – Não se trata para HIV/aids ☐	146 - Você faz uso de alguma medicação para diabetes? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
147 - Você está tomando alguns destes remédios?		
147.1 - Insulina 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	147.2 - Metformina 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	147.3 - Atenolol 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
147.4 - Propranolol 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	147.5 - Hidroclorotiazida 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	147.6 - Estatina (Pravastatina; atorvastatina; sinvastatina) 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
147.7 - Ainticonvulsivante nos últimos 30 dias (Fenobarbital / Hidantal / Carbanazepina / Ácido Valproico) 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐		
148 - Você faz uso de comprimido ou xarope de polivitamínicos diariamente? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐	149 - Você faz reposição de Cálcio (carbonato de cálcio) diariamente? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	
150 - Você tomou algumas dessas medicações nos últimos 6 meses?		
150.1 – Hormônio feminino ou anticoncepcional (pílula ou injetável) ou reposição hormonal ? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	150.2 - Anabolizante – testosterona (Decadurabolin®) ou oxandrolona 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	150.3 - Corticóide – também conhecido como: prednisona, dexametasona, cortisol, Diprosam®, Meticorten® por mais de 90 dias contínuos nos últimos seis meses? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
151 - No último ano você tomou alguma medicação para osteoporose por mais de 15 dias? (Alendronato, risedronato, ibandronato?) 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	152 - Nos últimos seis meses o você sofreu alguma fratura (quebrou algum osso do corpo)? 1 – Sim ☐ 2 – Não (vai para questão 154) ☐ 8 – Não sabe informar (vai para questão 154) ☐	153 - Como aconteceu essa fratura? 1 - queda da própria altura; 2 - . trauma (acidente de carro, moto, bicicleta, atropelamento, queda de altura); ☐ 3 - nenhum trauma ou pancada
154 - Você soube por algum profissional de saúde que tem alguma dessas doenças?		
154.1 - Câncer ou linfoma 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	154.2 - Doença crônica do fígado ou cirrose 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐	154.3 - Síndrome de Cushing 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
154.4 - Lipodistrofia familiar ou hereditária 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐		154.5 - Você tem insuficiência renal crônica 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐
155 - Você foi informado por algum profissional de saúde que tem pressão alta? 1 – Sim ☐ 2 – Não (vai para questão 159) ☐ 8 – Não sabe informar (vai para questão 159) ☐	156 - Você soube que tinha pressão alta antes de saber que estava com HIV/aids? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐ 9 – Não se aplica ☐	157 - Você soube que tem pressão alta depois do tratamento para o HIV/aids? 1 – Sim ☐ 2 – Não ☐ 8 – Não sabe informar ☐ 9 – Não se aplica ☐

158 - Você faz uso de alguma medicação para pressão alta? 1 – Sim 2 – Não 3 – Já fez mas parou	159 - Você foi informado por profissional de saúde que tem gordura (colesterol ou triglicerídeos) aumentada no sangue? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 165) 8 – Não sabe informar (vai para questão 165)	160 - Qual o tipo de gordura você foi informado(a) que está aumentada? 1 – Colesterol 2 – Triglicerídeos 3 – Colesterol e Triglicerídeos 8 – Não sabe informar
161 - Você soube que tem gordura aumentada no sangue antes do diagnóstico do HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	162 - Você soube que tem gordura aumentada no sangue após o tratamento para HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	163 - Você faz uso de alguma medicação para baixar o colesterol no sangue? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar
164 - Você faz uso de alguma medicação para baixar o triglicerídeo no sangue? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	165 - Você já teve infarto do coração ? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 169) 8 – Não sabe informar (vai para questão 169)	166 - Se sim, há quanto tempo você teve infarto do coração ? 1 – Dias 2 – Meses 3 – Anos 8 – Não sabe informar 9 – Não se aplica
167 - Você teve infarto do coração antes de saber que estava com HIV/aids? 1 – Sim (vai para a questão 103) 2 – Não 8 – Não sabe informar	168 - O senhor(a) teve infarto do miocárdio após o tratamento para HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	169 - Você já teve angina do peito? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 171) 8 – Não sabe informar (vai para questão 171)
170 - Se sim, há quanto tempo você teve angina do peito? 1 – Dias 2 – Meses 3 – Anos 8 – Não sabe informar 9 – Não se aplica	171 - Você já fez alguma cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent)? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 175) 8 – Não sabe informar (vai para questão 175)	172 - Você fez cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent) antes do diagnóstico do HIV? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar
173 - Você fez cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent) após o tratamento de HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	174 - Quanto tempo antes de saber que estava com HIV/aids você fez a cirurgia de ponte de safena /angioplastia? 1 – Dias 2 – Meses 3 – Anos 8 – Não sabe informar 9 – Não se aplica	
175 - Você já teve derrame cerebral? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 179) 8 – Não sabe (vai para questão 179)	176 - Se sim, há quanto tempo o senhor teve derrame cerebral ? 1 – Dias 2 – Meses 3 – Anos 8 – Não sabe informar 9 – Não se aplica	177 - Você teve o derrame cerebral antes de saber que estava com HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar
178 - Você teve o derrame cerebral após o tratamento para HIV/aids? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	179 - Você esteve internado nos últimos 90 dias? 1 – Sim 2 – Não	180 - Na sua vida adulta qual foi o menor peso que o senhor teve? , Kg 8 – Não sabe informar
QUESTÕES ESPECÍFICAS PARA AS MULHERES		
181 - Quantas vezes a senhora menstruou (regras) nos últimos três meses? 1 - Uma 2 - Duas 3 - Três 4 - Nenhuma	182 - A senhora está grávida? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar	183 - A senhora se encontra na menopausa? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 185) 8 – Não sabe informar
184 - Há quanto tempo? 1 – Dias 2 – Meses 3 – Anos 8 – Não sabe informar 9 – Não se aplica		
X - ANTECEDENTES FAMILIARES		
185 - Seu pai ou mãe ou irmãos de sangue tiveram ou têm?		
185.1 - Pressão alta? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	185.2 - Diabetes mellitus (açúcar no sangue)? 1 – Sim 2 – Não 8 – Não sabe informar	185.3 - Ataque cardíaco (infarto/ princípio de infarto / angina)? 1 – Sim 2 – Não (vai para questão 187) 8 – Não sabe informar

186 - Quem teve o ataque cardíaco?			
186.1 - Mãe e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim 2 - Não	186.2 - Irmã e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim 2 - Não	186.3 - Pai e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim 2 - Não	186.4 - Irmão e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim 2 - Não
187 - Seus pais ou irmãos de sangue morreram de repente com doença do coração? (em menos de 01 horas) 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar		188 - Seus pais ou irmãos de sangue tiveram ou têm osteoporose? 1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar	
XI- DADOS ANTROPOMÉTRICOS			
189 - Peso: [] [] [] Kg	190 - Altura: [] [] [] cm	191 - IMC: [] [] , []	
192 - Circunferência abdominal:: [] [] [] , [] cm	193 - Quadril: [] [] [] , [] cm	194 - Circunferência braquial [] [] [] , []	
195 - Prega cutânea tricipital: [] [] , [] cm	196 - Pressão Arterial Inicial [] [] [] X [] [] []	197 - Pressão Arterial final: [] [] [] X [] [] []	

17 – Qual a data do primeiro teste anti-HIV reagente? 1. ____/____/____ 8. Sem registro	18. Iniciou o tratamento de tuberculose nos últimos quatro meses? 1. Sim 2. Não																																																																																																																																
III – DADOS DO TRATAMENTO ANTI-RETROVIRAL																																																																																																																																	
19 - Existe registro de tratamento anti-retroviral? 1. Sim 2. Não (Siga para questão 22)	20 - Qual a combinação de classes do esquema atual? 1. 2 ITRN+ITRNN 2. 2 ITRN+IP 3. 2 ITRN+IP/r 4. ITRN+ITRNN+IP 5. ITRN+ITRNN+IP/r 6. ITRN+IP/r+IP 7. Outras 9. Não se aplica																																																																																																																																
OBS: Se a resposta à questão 19 for não, o paciente está temporariamente fora da coorte de lipodistrofia. Será incluído nesta coorte após 6 meses de início de TARV.																																																																																																																																	
21. - Histórico de anti-retrovirais:																																																																																																																																	
21.a - Histórico de drogas anti-retrovirais:																																																																																																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 20%;">Droga</th> <th style="width: 20%;">Data</th> <th style="width: 20%;">Droga</th> <th style="width: 20%;">Data</th> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> </tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> </table>	Droga	Data	Droga	Data		Início Término		Início Término		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 20%;">Droga</th> <th style="width: 20%;">Data</th> <th style="width: 20%;">Droga</th> <th style="width: 20%;">Data</th> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> </tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> </table>	Droga	Data	Droga	Data		Início Término		Início Término		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /				
Droga	Data	Droga	Data																																																																																																																														
	Início Término		Início Término																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
Droga	Data	Droga	Data																																																																																																																														
	Início Término		Início Término																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
21.b - Histórico de esquema anti-retrovirais:																																																																																																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 20%;">Esquema</th> <th style="width: 20%;">Data</th> <th style="width: 20%;">Esquema</th> <th style="width: 20%;">Data</th> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> </tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> </table>	Esquema	Data	Esquema	Data		Início Término		Início Término		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 20%;">Esquema</th> <th style="width: 20%;">Data</th> <th style="width: 20%;">Esquema</th> <th style="width: 20%;">Data</th> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Início Término</td> </tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> <tr><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td><td> </td><td style="text-align: center;">/ /</td></tr> </table>	Esquema	Data	Esquema	Data		Início Término		Início Término		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /		/ /
Esquema	Data	Esquema	Data																																																																																																																														
	Início Término		Início Término																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
Esquema	Data	Esquema	Data																																																																																																																														
	Início Término		Início Término																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
	/ /		/ /																																																																																																																														
Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeos (ITRN) 1. Abacavir - ABC - Ziagen 2. Didanosina - ddI - Videx 3. Estavudina -D4T - Zerit 4. Emtricitabine - FTC - Emtriva 5. Lamivudina - 3TC - Epivir 6. Tenofovir - TDF - Viread 7. Zalcitabina - DDC – Hivid 8. Zidovudina+Lamivudina AZT+3TC - Biovir 9. Zidovudina AZT – Retrovir	Inibidor da Transcriptase Reversa NãoAnálogo de Nucleosídeos (ITRNN) 10. Efavirenz – EFZ – Stocrin 11. Nevirapina - NVP – Viramune Inibidor da Protease (IP) 12. Amprenavir/Ritonavir – APV/r - Agenerase 13. Atazanavir – ATV – Reyataz 14. Atazanavir /Ritonavir – ATV/r 15. Darunavir – DRV - Prezista																																																																																																																																

IV – HISTÓRICO DE CD4 E CARGA VIRAL					
22. Histórico da contagem de linfócitos CD4 e Carga viral					
Dia/mês/ano	Linfócitos CD4 (células/mm ³)	Carga Viral (cópiaRNA/ml)	Dia/mês/ano	Linfócitos CD4 (células/mm ³)	Carga Viral (cópiaRNA/ml)
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		
/ /			/ /		

23. Valor atual do CD4 (dos últimos 4 meses)
 1. CD4: cel/mm³ data: ____/____/____
 8. Sem registro

24. Valor do CD4 anterior ao início do esquema ARV atual
 1. CD4: cel/mm³ data: ____/____/____
 8. Sem registro

25. Valor atual da CV (dos últimos 4 meses)
 1. cópias/ml data: ____/____/____
 8. Sem registro

26. Valor da CV anterior ao início do esquema ARV atual
 1. cópias/ml data: ____/____/____
 8. Sem registro

V – RESULTADOS DE EXAMES LABORATÓRIAS						
27. Acompanhamento laboratorial geral						
EXAME	Valor	Data	Valor	Data	Valor	Data
Hto		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Hb		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
TGO		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
TGP		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Sódio		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Potássio		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Cloreto		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Bicarbonato		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
FA		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
BD		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
CT		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
HDL		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
LDL		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Triglicerídeos		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Glicemia de jejum		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Lactato		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Insulina de jejum		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
HbA1c		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
PTH		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /

TSH		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Albumina		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
25OH VIT.D		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
PCR ultrasensível		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Homocisteína		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
CTX		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /

VI – RESULTADOS DE RX							
28. Radiografia de tórax	Data	Resultado					
1. Inicial	/ /						
2. Na entrada do paciente na coorte de tratamento da tuberculose	/ /						
3. Após 2 meses do RX de entrada na coorte de tratamento da tuberculose	/ /						
1. Normal 2. Acometimento pulmonar unilateral 3. Acometimento pulmonar bilateral 4. Acometimento pleural unilateral 5. Acometimento pleural bilateral 6. Fibrose pulmonar 7. Consolidação segmentar ou lobar	8. Infiltrado focal 9. Infiltrado difuso 10. Infiltrado Miliar 11. Cavidade simples 12. Múltiplas cavidades 13. Nódulos 14. Granulomas (nódulos calcificados)	15. Bronquiectasias 16. Linfonodomegalia 17. Derrame pleural 18. Espessamento pleural 19. Pneumotórax 20. Fibrose cicatricial 21. Aumento de área cardíaca					

VII – RESULTADOS DE PPD	
29. Resultado do PPD 1. Pesquisa 2. Não pesquisa 8. Sem Registro 9. Não se aplica	
29.1 – PPD 1 _____mm data ____/____/____ 	29.2 – PPD 2 _____mm data ____/____/____
29.3 – PPD 3 1. _____mm data ____/____/____ 	29.4 – PPD 4 _____mm data ____/____/____
29.5 – Qual o tempo de leitura do PPD 1. 72 horas 8 Sem registro 2. 96 horas 9. Não se aplica 	
PPD 1: Para pacientes que estão entrando na pesquisa ou que tenham registro documental de resultado de PPD realizado nos últimos 6 meses. PPD 2: Para pacientes que já utilizavam anti-retroviral no início do estudo e tiveram o PPD 1 não reator. O PPD 2 deverá ser realizado após 1 ano do PPD 1. PPD 3: Para pacientes que iniciaram anti-retroviral após a realização do PPD 1 e foram não reatores. O PPD 3 deverá ser realizado após 6 meses de iniciada a terapia anti-retroviral. PPD 4: Para pacientes que iniciaram anti-retroviral após a realização do PPD 1 e do PPD 2 e foram não reatores. O PPD 4 deverá ser realizado após 1 ano de iniciada a terapia anti-retroviral.	
30. Foram solicitados exames para investigação de tuberculose doença? 1. Sim 2. Não (Siga para questão 34) 9. Não se aplica 	

31. Mapa de exames laboratoriais para tuberculose							
Exame	Espécime	Resultado	Data	Exame	Espécime	Resultado	Data
Baciloscopia			/ /	PCR (Roche)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR (Rosseti)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR (Sangue)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR in - house			/ /
Cultura inicial			/ /	Histológico			/ /
Cultura após falência			/ /				
Codificação para o espécime:							
1 - Escarro espontâneo		2 - Escarro induzido		3 - Lavado broncoalveolar		4 - Linfonodo	
7 - Pericárdio		8 - Peritônio		9 - Outros		5 - Pleura	
						6 - LCR	
Codificação para os resultados da baciloscopia, cultura, PCR e histológico:							
1 - Positiva		2 - Negativa		3 - Não realizada			
32. Foi realizado teste de sensibilidade para as drogas da tuberculose?		33. Qual o resultado do teste de sensibilidade?		34. Fez tomografia?		35. Se sim, qual a região tomografada?	
1. Sim ☐ 2. Não ☐		1. NT (Não Testado) 2. S (Sensível) 3. R (Resistente) 1. Isoniazida ☐ 2. Rifampicina ☐ 3. Pirazinamida ☐ 4. Etambutol ☐ 5. Etionamida ☐ 6. Estreptomina ☐		1. Sim ☐ 2. Não ☐ 9. Não se aplica ☐		Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica 1. Tórax ☐ 2. Abdome ☐ 3. Crânio ☐ 4. Coluna ☐ 5. Não se aplica ☐ 6. Outras ☐	
36. Qual o resultado da tomografia?				37. Iniciou tratamento para tuberculose?			
1. Data ____/____/____ ☐ 8. Sem registro ☐ 9. Não se aplica ☐				1. Sim Data: ____/____/____ ☐ 2. Não (Siga para a questão 52) ☐ 9. Não se aplica ☐			
Codificação para a resultado da Tomografia do tórax:							
1. Normal 2. Acometimento pulmonar unilateral 3. Acometimento pulmonar bilateral 4. Acometimento pleural unilateral 5. Acometimento pleural bilateral 6. Fibrose pulmonar 7. Fibrose pleural 8. Imagem de árvore em brotamento		9. Granulomas (nódulos calcificados) 10. Consolidação segmentar ou lobar com broncograma 11. Bronquiectasias 12. Linfonodomegalia hilar unilateral de densidade heterogênea 13. Linfonodomegalia hilar bilateral de densidade heterogênea		14. Linfonodomegalia mediastinal de densidade heterogênea 15. Pneumotórax 16. Pneumomediastino 17. Derrame pleural 18. Micronódulos em região perivascular e parasseptal 19. Infiltrado micronodular difuso e aleatório. Nódulos > 6 mm e pequenas cavidades 20. Nódulos > 6 mm e pequenas cavidades Outros:			
Codificação para a tomografia do tórax							
21. Nódulo hepático único 22. Nódulos hepáticos 23. Linfonodomegalia		24. Espessamento de alça do intestino delgado 25. Espessamento de alça do intestino grosso 26. Nódulos peritoneais		27. Ascite 28. Hepatomegalia 29. Esplenomegalia Outros:			
37. Iniciou tratamento para tuberculose?							
1. Sim Data: ____/____/____ ☐ 2. Não (Siga para a questão 52) ☐ 9. Não se aplica ☐							
38. Mapa de drogas para tratar tuberculose							
Droga	Início	Interrupção	Substituição	Reinício	Causa	Fim	
INH	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
RMP	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
PZA	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
EMB	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	

SM	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /
ETH	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /
	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /
	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /

Codificação causa de interrupção/substituição do tratamento para tuberculose:

1. Abandono 2. Falência 3. Óbito 4. Reação adversa 5. Síndrome de Resposta Inflamatória (reação paradoxal)
6. Mudança de diagnóstico 7. Transferência 8. Outro _____

39. Caso o tratamento tenha sido interrompido por reação adversa, identifique qual ou quais as reações:
Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica

1. Hepatotoxicidade	☐
2. Intolerância gástrica	☐
3. Neuropatia periférica	☐
4. Exantema	☐
5. Artralgia	☐
6. Distúrbios hematológicos	☐
7. Outros _____	☐

40. Há registro de utilização de uma das drogas abaixo, por ocasião do tratamento da tuberculose?
Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica

1. Sufadiazina	☐
2. Sulfametoxazol/Trimetoprim	☐
3. Fluconazol	☐
4. Azitromicina	☐
5. Anfotericina B	☐
6. Ganciclovir	☐

41. Qual a localização da tuberculose?

1. Pulmonar	☐
2. Extrapulmonar	
3. Pulmonar e extrapulmonar	
4. Disseminada	

42. Qual o regime de acompanhamento do paciente por ocasião do início do tratamento para tuberculose?

1. Regime ambulatorial	☐
2. Regime de internamento	

43. O paciente fez uso de antibióticos para tratar sintomas respiratórios nos últimos 15 dias que antecederam o tratamento para tuberculose?

1. Sim	☐
2. Não	

44. Se sim, o paciente melhorou com este tratamento (baseado no registro de melhora pelo médico assistente)?

1. Sim	☐
2. Não	
9. Não se aplica	

45. O paciente fez uso de drogas anti-retrovirais antes ou durante o tratamento para tuberculose?

1. Sim	☐
2. Não (Siga para a questão 48)	

46. Se sim, em que momento do tratamento para tuberculose foi iniciada TARV?

1. Antes do início do tratamento para tuberculose;	☐
2. Nos primeiros 2 meses do tratamento para tuberculose;	
3. Nos últimos 4 meses do tratamento para tuberculose;	

47. Quais os resultados do teste da isoniazida na urina?
Para cada uma das alternativas registre
1. positiva 2. negativa 3. não realizada

1. Primeiro mês	☐
2. Segundo mês	☐
3. Terceiro mês	☐
4. Quarto mês	☐
5. Quinto mês	☐
6. Sexto mês	☐

48. O paciente concluiu o tratamento para tuberculose?

1. Sim	☐
2. Não	

49. Se sim, qual a data de conclusão do tratamento para tuberculose?

/ /

50. O paciente apresentou melhora clínica com o tratamento da tuberculose (baseado no registro de melhora pelo médico assistente)?

1. Sim	☐
2. Não	

51. Desfecho final do tratamento para tuberculose?		52. Foi iniciada quimioprofilaxia para tuberculose?	
Desfecho	Data	Data: ____/____/____	
Cura com confirmação laboratorial	/ /	1. Sim	
Cura sem confirmação laboratorial	/ /	2. Não (Siga para a questão 57)	
Abandono	/ /	9. Não se aplica	
Óbito	/ /		
Falência	/ /		
53. Mapa de quimioprofilaxia			
Droga	Início	Interrupção	Substituição
INH	/ /	/ /	/ /
Codificação para interrupção da quimioprofilaxia para tuberculose:			
1. Abandono 2. Óbito 3. Reação adversa 4. Mudança para a coorte de tratamento 5. Transferência 6. Outro			
53.1. Codificação para reação adversa			
para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica			
1. Hepatotoxicidade		2. Intolerância gástrica	
3. Neuropatia periférica		4. Exantema	
5. Artralgia		6. Distúrbios hematológicos	
7. Outros _____			
54. O paciente fez uso de drogas anti-retrovirais antes ou durante a quimioprofilaxia para tuberculose?		55. Se sim, em que momento da quimioprofilaxia para tuberculose foram iniciados os anti-retrovirais?	
1. Sim		1. Antes do início da quimioprofilaxia para tuberculose;	
2. Não (Siga para questão 56)		2. Durante a quimioprofilaxia para tuberculose;	
		56. Quais os resultados do teste da isoniazida na urina?	
		Para cada uma das alternativas registre 1. positiva 2. negativa 3. não realizada	
		1. Primeiro mês	2. Segundo mês
		3. Terceiro mês	4. Quarto mês
		5. Quinto mês	6. Sexto mês
VIII – COORTE DISTÚRBIOS METABÓLICOS			
Considera-se diagnóstico de síndrome metabólica quando estiverem presentes três ou mais dos cinco fatores a seguir:			
* Circunferência da cintura (≥102 cm em homens e ≥ 88 cm em mulheres)			
* Hipertrigliceridemia (≥150 mg/dl)			
* Nível de colesterol HDL baixo (< 40 mg/dl em homens e < 50 mg/dl em mulheres)			
* Hipertensão arterial (pressão sistólica ≥ 130 e/ou pressão diastólica ≥ 85 mmHg e/ou em tratamento farmacológico)			
* Glicemia de jejum (≥ 100mg/dl)			
Modelo objetivo clínico laboratorial de definição de lipodistrofia no HIV.			
Idade (anos)		Tempo de diagnóstico de HIV	
1. ≤ 40	0	≤ 4 anos	0
2. > 40	1,139	> 4 anos	1,139
HDL (mmol/L)	x -1,593	Anion gap	x 0,0701
Modelo objetivo de definição de lipodistrofia no HIV.			
LDL (mmol/L)		Estágio da doença (CDC)	
≤ 3	0	A	0
> 3	0,625	B	0,181
Sexo		C	0,731
Masculino	0	Triglicerídeos	x 0,204
Feminino	1,297	RCQ	x 2,114
Lactato (mmol/L)	x 0,291	Constante	-5,104
HDL : High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein; RCQ: Relação cintura-quadril; x: sinal matemático de multiplicação; CDC Center of Disease Control.			
Execução e Interpretação:			
Após a soma das pontuações de cada uma das variáveis e subtração do valor constante, obtém-se uma pontuação final. Se esta for maior ou igual a zero, é considerado diagnóstico de lipodistrofia. Valores menores que zero são considerados ausência de lipodistrofia			

Modelo objetivo clínico de definição de lipodistrofia no HIV.						
Idade (anos)			Tempo de diagnóstico de HIV			
1. ≤ 40		0	≤ 4 anos		0	
2. > 40		1,11	> 4 anos		1,22	
Mudança do CD4 desde o nadir		0,0129	Estágio da doença (CDC)			
Cintura (cm)		0,0261	A		0	
Constante		-4,25	B		0,12	
Total			C		0,82	
57. QUADRO PARA NOTIFICAÇÃO DE FRATURAS						
VÉRTEBRA	GRAU I		GRAU II		GRAU III	
	VISITA 1	VISITA FINAL	VISITA 1	VISITA FINAL	VISITA 1	VISITA FINAL
T4						
T5						
T6						
T7						
T8						
T9						
T10						
T11						
T12						
L1						
L2						
L3						
L4						
L5						
58. Apresentou fratura em coluna na 1ª avaliação?			59. Qual o grau da fratura?			
1. Sim Data ____/____/____			1. Grau I			
2. Não			2. Grau II			
8. Sem informação			3. Grau III			
9. Não se aplica			8. Sem informação			
			9. Não se aplica			
60. Apresentou fratura em coluna na 2ª avaliação?			61. Qual o grau da fratura?			
1. Sim Data ____/____/____			1. Grau I			
2. Não			2. Grau II			
8. Sem informação			3. Grau III			
9. Não se aplica			8. Sem informação			
			9. Não se aplica			
62. Apresentou fratura em fêmur?			63. Apresentou fratura em outros locais			
1. Sim Data ____/____/____			1. Sim Data ____/____/____			
2. Não			2. Não			
9. Não se aplica			9. Não se aplica			

64. Resultado da densitometria óssea							
Data ____/____/____							
DMO	1 - Data	g/cm ²	Score T	2 - Data	g/cm ²	Score T	PMO
Colo do fêmur	/ /			/ /			
Trocanter	/ /			/ /			
Fêmur total	/ /			/ /			
L1 a L4	/ /			/ /			
65. Apresentou osteopenia na 1ª avaliação?		66. Apresentou osteopenia na 2ª avaliação?		67. Apresentou osteoporose na 1ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica			
68. Apresentou osteoporose na 2ª avaliação?		69. Apresentou perda de massa óssea na 1ª avaliação?		70. Apresentou perda de massa óssea na 2ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica			
71. Apresentou dislipidemia na 1ª avaliação?		72. Apresentou dislipidemia na 2ª avaliação?		73. Apresentou dislipidemia na 3ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica			
74. Apresentou síndrome metabólica na 1ª avaliação?		75. Apresentou síndrome metabólica na 2ª avaliação?		76. Apresentou síndrome metabólica na 3ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 9. Não se aplica			
77. Onda de pulso na 1ª avaliação?		78. Teve alteração de onda de pulso na 2ª avaliação?		79. Desenvolveu Diabetes mellitus na 1ª avaliação?			
Data ____/____/____ Valor 1. Normal 2. Alterada 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ Resultado 1. Normal 2. Alterada 2. Não 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica			
80. Desenvolveu Diabetes mellitus na 2ª avaliação?		81. Desenvolveu Diabetes mellitus na 3ª avaliação?		82. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 1ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica			
83. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia?		83.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia?		84. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 2ª avaliação?			
1. Lipoatrofia 2. Lipohipertrofia 3. Lipodistrofia Mista 8. Sem informação 9. Não se aplica		1. Leve 2. Moderado 3. Grave 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica			
85. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia?		85.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia?		86. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 3ª avaliação?			
1. Lipoatrofia 2. Lipohipertrofia 3. Lipodistrofia Mista 8. Sem informação 9. Não se aplica		1. Leve 2. Moderado 3. Grave 9. Não se aplica		1. Sim Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica			

87. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia? 1. Lipoatrofia ☐ 2. Lipohipertrofia ☐ 3. Lipodistrofia Mista ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	87.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia? 1. Leve ☐ 2. Moderado ☐ 3. Grave ☐ 9. Não se aplica ☐	88. Apresentou alteração do C-telopeptídeo (CTX) na 1ª avaliação? 1. Sim ☐ Data ____/____/____ 2. Não ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐
89. Apresentou alteração do C-telopeptídeo (CTX) na 2ª avaliação? 1. Sim ☐ Data ____/____/____ 2. Não ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	90. Dosagem da vitamina D 1. Normal ☐ 2. Alterada ☐ 8. Sem informação ☐ Valor 9. Não se aplica ☐	
IX – COORTE CARDIOVASCULAR		
91. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	92. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	93. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐
94. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	95. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	96. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐
97. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	98. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐	99. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos ____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) 88. Sem informação ☐ 99. Não se aplica ☐
100. Presença de dor isquêmica na 1ª avaliação? Data ____/____/____ ☐ 1. Angina definitiva ☐ 2. Angina possível ☐ 3. Sem angina ☐	101. Presença de dor isquêmica na 2ª avaliação? Data ____/____/____ ☐ 1. Angina definitiva ☐ 2. Angina possível ☐ 3. Sem angina ☐	102. Presença de dor isquêmica na 3ª avaliação? Data ____/____/____ ☐ 1. Angina definitiva ☐ 2. Angina possível ☐ 3. Sem angina ☐
103. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 1ª avaliação? Valor x ☐ Data ____/____/____ 1. Normotenso ☐ 2. Pré-hipertenso ☐ 3. Pressão elevada ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	104. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão 1. Estágio I ☐ 2. Estágio II ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	
105. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 2ª avaliação? Valor x ☐ Data ____/____/____ 1. Normotenso ☐ 2. Pré-hipertenso ☐ 3. Pressão elevada ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	106. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão 1. Estágio I ☐ 2. Estágio II ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	

107. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 3ª avaliação? Valor x Data ____/____/____ 1. Normotenso 2. Pré-hipertenso 3. Hipertensão (pressão elevada) 8. Sem informação 9. Não se aplica		108. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão 1. Estágio I 2. Estágio II 8. Sem informação 9. Não se aplica	
109. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 1ª avaliação? Valor Data ____/____/____ 1. Normal 2. Elevada 8. Sem informação 9. Não se aplica		110a. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 2ª avaliação? Valor Data ____/____/____ 1. Normal 2. Elevada 8. Sem informação 9. Não se aplica	
110b. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 3ª avaliação? Valor Data ____/____/____ 1. Normal 2. Elevada 8. Sem informação 9. Não se aplica		110c. Situação do tratamento no momento do 1º exame? 1. Sem tratamento 2. Primeiro esquema ARV com IP 3. Primeiro esquema ARV sem IP 9. Não se aplica	
X – RESULTADOS DO USG DE CARÓTIDAS			
DOPPLER DE CARÓTIDAS 1º EXAME (Espessamento de carótida)			
111. Realizou USG de Carótida? 1. Sim 2. Não DATA ____/____/____ Espessura carótida direita mm Espessura carótida esquerda mm Espessura total mm		112. ESPESSURA AUMENTADA 1. Sim 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	113. PRESENÇA DE PLACA 1. Sim 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica
		114. Nr. De placas 8. Sem informação 9. Não se aplica	
115. Local Placa 1. Parede anterior ACC direita 2. Parede anterior ACC esquerda 3. Parede posterior ACC direita 4. Parede posterior ACC esquerda 5. Parede anterior bulbo carotídeo direito 6. Parede anterior bulbo carotídeo esquerdo 7. Parede posterior bulbo carotídeo direito		8. Parede posterior bulbo carotídeo esquerdo 9. Parede anterior ACInterna direita 10. Parede anterior ACInterna esquerda 11. Parede posterior ACInterna direita 12. Parede posterior ACInterna esquerda 99. Não se aplica	116. Grau de estenose (%) (Na presença de placa) Carótida Direita Esquerda 888. Sem informação 999. Não se aplica
117. Ambas as alterações (espessamento e placas) 1. Sim 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica		118. Realizou todas as 12 medidas em carótidas direita e esquerda ? 1. Sim 2. Não realizou as seguintes medidas	
119. Conclusão do 1º Exame 1. Normal 2. Espessura aumentada 3. Placa 4. Espessura aumentada + placa 9. Não se aplica		Caso Não 2.1. Bulbo direito anterior 2.2. Bulbo direito posterior 2.3. Bulbo esquerdo anterior 2.4. Bulbo esquerdo posterior 2.5. ACI direita anterior 2.6. ACI direita posterior 2.7. ACI esquerda anterior 2.8. ACI esquerda posterior	

120. USG Carótidas				
	Esquerda		Direita	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Diam. Luz ACC				
ACC1				
ACC2				
ACC3				
BULBO				
ACI1				
ACI2				
Média Espessura				
Média Máxima				
USG DE CARÓTIDAS 2º EXAME (Espessamento de carótida)				
121a . Situação do tratamento no momento do 2º exame?		121b. Realizou USG de Carótida?		
1. Sem tratamento ☐ 2. Primeiro esquema ARV com IP ☐ 3. Primeiro esquema ARV sem IP ☐ 9. Não se aplica		1. Sim ☐ 2. Não ☐ DATA ____/____/____ Espessura carótida direita , mm Espessura carótida esquerda , mm Espessura total , mm		
122. ESPESSURA AUMENTADA		123. PRESENÇA DE PLACA		124. Nr. De placas
☐ 1. Sim 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica		☐ 1. Sim 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica		 8. Sem informação 9. Não se aplica
125. Local Placa		126. Grau de estenose (%) (Na presença de placa)		
1. Parede anterior ACC direita 2. Parede anterior ACC esquerda 3. Parede posterior ACC direita 4. Parede posterior ACC esquerda 5. Parede anterior bulbo carotídeo direito 6. Parede anterior bulbo carotídeo esquerdo 7. Parede posterior bulbo carotídeo direito		8. Parede posterior bulbo carotídeo esquerdo 9. Parede anterior ACInterna direita 10. Parede anterior ACInterna esquerda 11. Parede posterior ACInterna direita 12. Parede posterior ACInterna esquerda 99. Não se aplica		Carótida Direita Esquerda 888. Sem informação 999. Não se aplica
127. Ambas as alterações (espessamento e placas)		128. Realizou todas as 12 medidas em carótidas direita e esquerda ?		
☐ 1. Sim 2. Não		☐ 1. Sim 2. Não realizou as seguintes medidas		
129. Conclusão do 2º Exame		Caso Não		
☐ 1. Normal 2. Espessura aumentada 3. Placa 4. Espessura aumentada + placa 9. Não se aplica		2.1. Bulbo direito anterior 2.5. ACI direita anterior 2.2. Bulbo direito posterior 2.6. ACI direita posterior 2.3. Parede posterior bulbo carotídeo direito 2.7. Parede posterior ACInterna direita 2.4. Bulbo esquerdo posterior 2.8. ACI esquerda posterior		

130. USG Carótidas				
	Esquerda		Direita	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
ACC1				
ACC2				
ACC3				
BULBO				
ACI1				
ACI2				
Diam. Luz ACC				

131. Acompanhamento Ultra-Som de carótida		
131.1 – Situação no 1º Exame USG 1. Sem esquema ARV ☐ 2. Primeiro esquema ARV ☐ 9. Não se aplica	131.2 Situação no 2º Exame USG 1. Sem esquema ARV ☐ 2. Primeiro esquema ARV ☐ 3. Troca de primeiro esquema 8. Não realizou 9. Não se aplica	131.3 Situação ao final da coorte (1 ano) 1. Manteve-se sem tratamento ☐ 2. Manteve-se em primeiro esquema ☐ 3. Mudou de condição (sem esquema e iniciou tratamento) 4. Mudou de condição (estava em primeiro esquema e mudou de tratamento) 5. Não realizou 2º exame 9. Não se aplica

132. Em relação ao espessamento da camada média íntima da carótida nas duas avaliações: 1. Não ocorreu ☐ 2. Ocorreu no segundo exame 3. Aumentou (estava espessada e houve aumento) 4. Estabilização (estava espessada e não houve aumento) 5. Redução (estava espessada e houve redução)	133. Em relação às placas de ateroma na camada média íntima da carótida nas duas avaliações: 1. Não ocorreu ☐ 2. Surgiu no segundo exame 3. Aumentou (em número) 4. Estabilizou (presente nos dois exames) 5. Reduziu (em número)	134. Fez uso de droga hipolipemiante entre o 1º e 2º USG? 1. Sim ☐ 2. Não 8. Ignorado
--	--	--

XI – DESFECHO DO ERGOMÉTRICO	
TESTE ERGOMÉTRICO 1º TESTE (Avaliação de isquemia por teste ergométrico) 135. Teste ergométrico (1º) realizado 1. Sim Data ____/____/____ ☐ 2. Não	
136. EM REPOUSO	

1. FC (frequência cardíaca) bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): mmHg PAD (pressão arterial diastólica): mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal ☐ 3.2. Alterado Supradesnivelamento mm Infradesnivelamento mm	4. ECG(eletrocardiograma): 4.1. Ritmo 4.2. Eixo 4.3. Arritmia 4.3.1. Sim 4.3.2. Não
---	---

137. Durante esforço máximo 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>Supradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr><tr><td>Infradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr></table> 4. Tempo de esforço máximo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> min <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> seg 5. Inclinação da esteira <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> % 6. VO ₂ <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> ml/kg min													Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm			Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm											138. Pós esforço com 1 minuto 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>Supradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr><tr><td>Infradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr></table>													Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm			Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm		
Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
139. Pós esforço com 6 minutos 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>Supradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr><tr><td>Infradesnivelamento</td><td><table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm</td></tr></table>													Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm			Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm			140. Sintomas 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table>																												
Supradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
Infradesnivelamento	<table border="1"><tr><td></td><td></td></tr></table> mm																																																
141. Dor torácica típica 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			142. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			143. Surgimento da dor 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			144. Dispnéia 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																								
145. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			146. Surgimento da dispnéia 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			147. Claudicação 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			148. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																								
149. Surgimento da claudicação 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós-esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			150. Exame físico: Roncos e sibilos 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			151. Exame físico: Crepitações 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			152. Exame físico: Crepitações 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós-esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																								
153. Arritmias no Repouso 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table>					154. Arritmias no pré-esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table>					155a. Arritmias no esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 2.2. Frequência <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 2.2.1. Pouco freqüente 2.2.2. Freqüente 2.2.3. Raras 2.2.4. Ocasionais								155b. Arritmias no pós-esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 2.2. Evolução da arritmia <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 2.2.1. Não apresentou arritmia 2.2.2. Arritmia semelhante 2.2.3. Arritmia mais freqüente 2.2.4. Arritmia menos frequente																															

1. ES supra-ventriculares 2. ES ventriculares 3. EV ventriculares e supra-ventriculares 4. Batimentos de fusão 5. Períodos de Taquicardia supra ventricular 6. Períodos de Taquicardia ventricular 7. Ritmo juncional 8. Fibrilação atrial 9. P-R curto 10. Síndrome de Wolf-Park.-White 11. BAV de 1º Grau	12. BAV de 2º Grau tipo I 13. BAV de 2º Grau tipo II 14. BAV Total 15. Bloqueio sino-atrial 16. Dissociação AV 17. Bloqueio de Ramo Direito 18. Bloqueio de Ramo Esquerdo 19. Bloqueio divisional antero-sup E 20. Bloqueio divisional post-inferior 21. Comando de MP 22. MP-inibido
156. Critério de interrupção 1. Cansaço físico/fadiga muscular 2. Dor nos membros inferiores 3. Dispnéia 5. Dor torácica – progressiva ou intensa 6. Arritmias 7. Alterações do segmento ST 8. Alterações da frequência cardíaca 9. Sem informação 10. Não se aplica	157. Conclusão final teste ergométrico 1. Normal 2. Alterado 2.1. Sintoma 2.2. Exame físico 2.3. PA 2.4. Arritmia 2.5. ST
158. Escore de Duke 	Risco de DAC 1. Baixo risco ≤ 5 2. Risco intermediário +4 a -10 3. Alto risco ≤ -11 9. Não se aplica
Formula: tempo (minutos) -5x (infradesnível de ST em mm) -4x (dor torácica: 0=sem dor, 1=dor não limitante, 2= dor limitante)	
TESTE ERGOMÉTRICO 2º TESTE (Avaliação de isquemia por teste ergométrico) 159. Teste ergométrico (1º) realizado 1. Sim Data ____/____/____ 2. Não	
160. EM REPOUSO	
1. FC (frequência cardíaca) bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): mmHg PAD (pressão arterial diastólica): mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal 3.2. Alterado Supradesnívelamento mm Infradesnívelamento mm	4. ECG(eletrocardiograma): 4.1. Ritmo 4.2. Eixo 4.3. Arritmia 4.3.1. Sim 4.3.2. Não

161. Durante esforço máximo 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm 4. Tempo de esforço máximo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> min seg 5. Inclinação da esteira <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td></tr></table> % 6. VO ₂ <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td></tr></table> ml/kg min																																																																						162. Pós esforço com 1 minuto 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm																																																							
163. Pós esforço com 6 minutos 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 3.2. Alterado Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> mm																																																								164. Sintomas 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table>																																																																					
165. Dor torácica típica 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			166. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			167. Surgimento da dor 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			168. Dispnéia 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																																				
169. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			170. Surgimento da dispnéia 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			171. Claudicação 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			172. Limitante 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																																				
173. Surgimento da claudicação 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			142. Exame físico: Roncos e sibilos 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			175. Exame físico: Crepitações 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica			176. Exame físico: Crepitações 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																																				
177. Arritmias no Repouso 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table>					178. Arritmias no pré-esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table>					179a. Arritmias no esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 2.2. Frequência <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 2.2.1. Pouco frequente 2.2.2. Frequente 2.2.3. Raras 2.2.4. Ocasionais								179b. Arritmias no pós-esforço 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td></tr></table> 2.2. Evolução da arritmia <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table> 2.2.1. Não apresentou arritmia 2.2.2. Arritmia semelhante 2.2.3. Arritmia mais frequente 2.2.4. Arritmia menos frequente																																																																																																											

23. ES supra-ventriculares 24. ES ventriculares 25. EV ventriculares e supra-ventriculares 26. Batimentos de fusão 27. Períodos de Taquicardia supra ventricular 28. Períodos de Taquicardia ventricular 29. Ritmo juncional 30. Fibrilação atrial 31. P-R curto 32. Síndrome de Wolf-Park.-White 33. BAV de 1º Grau	34. BAV de 2º Grau tipo I 35. BAV de 2º Grau tipo II 36. BAV Total 37. Bloqueio sino-atrial 38. Dissociação AV 39. Bloqueio de Ramo Direito 40. Bloqueio de Ramo Esquerdo 41. Bloqueio divisional antero-sup E 42. Bloqueio divisional post-inferior 43. Comando de MP 44. MP-inibido
180. Critério de interrupção 1. Cansaço físico/fadiga muscular ☐ 2. Dor nos membros inferiores 3. Dispnéia 5. Dor torácica – progressiva ou intensa 6. Arritmias 7. Alterações do segmento ST 8. Alterações da frequência cardíaca 9. Sem informação 10. Não se aplica	181. Conclusão final teste ergométrico 1. Normal ☐ 2. Alterado 2.1. Sintoma ☐ 2.2. Exame físico 2.3. PA 2.4. Arritmia 2.5. ST
182. Escore de DukeEs ☐ ☐	
XII – OUTRAS AVALIAÇÕES DE ISQUEMIA	
Outras avaliações de isquemia:	
183. CINTILOGRAFIA MIOCÁRDICA 1. Sim Data ____/____/____ ☐ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	184. Resultado da Cintilografia Miocárdica 1. Normal ☐ 2. Hipoperfusão transitória 3. Hipoperfusão persistente
185. Resultado da Cintilografia Miocárdica quanto à extensão da alteração 1. Pequena ☐ 2. Moderada 3. Extensa 9. Não se aplica	186. Resultado da Cintilografia Miocárdica quanto á intensidade da alteração 1. Discreta ☐ 2. Moderada 3. Acentuada 9. Não se aplica
187. Fração de ejeção após o esforço ☐ ☐ % 99. Não se aplica	188. Escore de perfusão (QPS): SSS ☐ ☐ 99. Não se aplica
	189. Escore de perfusão (QPS): SRS ☐ ☐ 99. Não se aplica
	190. Escore de perfusão (QPS): SDS ☐ ☐ 99. Não se aplica
191. Percentual da área do VE acometido: ☐ ☐ % 99. Não se aplica	192. Dilatação isquêmica transitória: (TID) ☐ ☐ 99. Não se aplica
	193. Número de segmentos acometidos: ☐ ☐ 99. Não se aplica
	194. Número de territórios vasculares acometidos: Vasos ☐ ☐ 99. Não se aplica
195. Conclusão da Cintilografia Miocárdica 1. Normal ☐ 2. Alterada discreta em área de pequena extensão 3. Alteração moderada/importante em áreas de moderada/grande extensão 8. Sem informação 9. Não se aplica	196. Cateterismo Cardíaco 1. Sim Data ____/____/____ ☐ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica
	197. Resultado do cateterismo cardíaco 1. Doença de 1 vaso ☐ 2. Doença de 2 vasos 3. Doença de 3 vasos 4. Sem lesões obstrutivas 8. Sem informação 9. Não se aplica
198. Doenças em pontes (safena ou mamárias) 1. Sim ☐ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	199. Doença proximal da descendente anterior 1. Sim ☐ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica
	200. Fração de Ejeção: ☐ ☐ %

XIII – EVENTOS OU MORTE POR DOENÇA CARDIOVASCULAR	
Eventos ou Morte por Doença Cardiovascular	
201. Apresentou eventos cardíaco-vasculares ? 1. Sim ☐ 2. Não ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	202. Se sim qual (is)? 1. Isquemia silenciosa ☐ DATA ____/____/____ 2. Angina ☐ DATA ____/____/____ 2. Doença arterial coronariana ☐ DATA ____/____/____ 3. IAM ☐ DATA ____/____/____ 4. Morte súbita ☐ DATA ____/____/____ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐
203. Apresentou acidente vascular cerebral (AVC) trombo-embólico ? 1. Sim Data ____/____/____ ☐ 2. Não ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐	204. Evoluiu com óbito por doença arterial coronariana (DAC) ou AVC tromboembólico 1. Sim Data ____/____/____ ☐ 2. Não ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐
XIV – SAÍDA DA COORTE	
Saída da coorte	
205. DATA DE SAÍDA DA COORTE Data da saída da coorte ____/____/____	206. Motivo: 1. Óbito ☐ 2. Transferência de Serviço ☐ 2. Perda ☐ 8. Sem informação ☐ 9. Não se aplica ☐

FICHA DE MONITORAMENTO - COORTE TUBERCULOSE					
IDENTIFICAÇÃO					
1- Número do prontuário	2- Nome			3- Data de Nascimento ____/____/____	
4- Nome da Mãe			5 - Número de identificação na pesquisa 		
6- Coorte para tuberculose Tratamento ☐ Quimioprofilaxia ☐	7- Data de início ____/____/____	8- Data de conclusão ____/____/____	9- Esquema em uso (coorte tratamento)		
MONITORAMENTO DA COORTE MÊS A MÊS					
10- Data de retorno					
10.1 – 1º mês ____/____/____	10.2 – 2º mês ____/____/____	10.3 – 3º mês ____/____/____	10.4 – 4º mês ____/____/____	10.5 – 5º mês ____/____/____	10.6 – 6º mês ____/____/____
11- Peso					
11.1 – 1º mês	11.2 – 2º mês	11.3 – 3º mês	11.4 – 4º mês	11.5 – 5º mês	11.6 – 6º mês
12 - Tomou o(s) remédio(s) para tratar/evitar a tuberculose ontem?					
12.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	12.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	12.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	12.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	12.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	12.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
SINTOMAS					
13 – Febre					
13.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	13.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	13.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	13.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	13.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	13.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
14 – Tosse					
14.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	14.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	14.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	14.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	14.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	14.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
15 – Perda de Peso					
15.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	15.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	15.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	15.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	15.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	15.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
16 – Falta de Ar					
16.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	16.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	16.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	16.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	16.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	16.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐

17 – Dor Torácica					
17.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	17.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	17.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	17.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	17.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	17.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
18 – Náusea					
18.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	18.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	18.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	18.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	18.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	18.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
19 – Vômito					
19.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	19.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	19.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	19.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	19.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	19.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
20 – Prurido					
20.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	20.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	20.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	20.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	20.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	20.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
21 – Icterícia					
21.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	21.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	21.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	21.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	21.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	21.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
22 – Manchas vermelhas na pele					
22.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	22.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	22.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	22.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	22.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	22.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
23 – Dor nos membros inferiores					
23.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	23.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	23.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	23.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	23.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	23.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐
24 – Dormência nos membros inferiores					
24.1 – 1º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	24.2 – 2º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	24.3 – 3º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	24.4 – 4º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	24.5 – 5º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐	24.6 – 6º mês Sim ☐ Não ☐ Não sei ☐

25 –					
Gânglio					
25.1 – 1º mês	25.2 – 2º mês	25.3 – 3º mês	25.4 – 4º mês	25.5 – 5º mês	25.6 – 6º mês
Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐
Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐
Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐
26 – Outros					
26.1 – 1º mês	26.2 – 2º mês	26.3 – 3º mês	26.4 – 4º mês	26.5 – 5º mês	26.6 – 6º mês
Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐	Sim ☐
Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐	Não ☐
Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐	Não sei ☐

APÊNDICE E – Artigo 1**Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS**

PLOS ONE

Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PONE-D-15-10312
Article Type:	Research Article
Full Title:	Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS
Short Title:	Hepatotoxicity in people coinfecting HIV/TB
Corresponding Author:	Caroline Araújo-Mariz Universidade Federal de Pernambuco Recife, Pernambuco BRAZIL
Keywords:	Tuberculosis treatment; hepatotoxicity; Gene NAT2; HIV/AIDS
Abstract:	Hepatotoxicity is frequently reported as an adverse reaction during the treatment of tuberculosis(TB). The aim of this study was to determine the incidence and identify the predictive factors for the development of hepatotoxicity after initiating treatment for tuberculosis in people living with HIV/Aids(PLWHA). This was a prospective cohort study with PLWHA who were monitored during the first 60 days of TB treatment, in Pernambuco, Brazil. Hepatotoxicity was considered as elevated levels of the aminotransferases enzymes, three times higher than before initiating TB treatment, associated with symptoms of hepatitis. We conducted multivariate logistic regression analysis and used the odds ratio(OR) as estimates of relative risk with a confidence interval of 95%. Hepatotoxicity was observed in 53 patients (30.6%) of 173 individuals who initiated TB treatment. The final multivariate logistic regression model showed that the use of fluconazole, malnutrition and being classified as a phenotypically slow acetylator increased the risk of hepatotoxicity significantly. The incidence of hepatotoxicity during treatment for TB in PLWHA was high. Those classified as phenotypically slow acetylators and those malnourished should be targeted for specific care to reduce hepatotoxicity risk during the treatment of TB. Fluconazole should be avoided during TB treatment in PLWHA.
Order of Authors:	Caroline Araújo-Mariz Edmundo Pessoa Lopes Bartolomeu Acioli-Santos Magda Maruza Ulisses Ramos Montarroyos Ricardo Arraes de Alencar Ximenes Heloísa Ramos Lacerda Demócrito Barros Miranda-Filho Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Title: Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS

Running title: Hepatotoxicity in people coinfectd with HIV/TB

Carolline Araújo-Mariz^{1*}, Edmundo P Lopes¹, Bartolomeu Acioli-Santos², Magda Maruza³, Ulisses Ramos Montarroyos⁴, Ricardo A A Ximenes^{1,5}, Heloísa Ramos Lacerda¹, Demócrito B Miranda-Filho⁵, Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque⁶.

1. Department of Tropical Medicine. Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.
2. Virology Laboratory. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife, Brazil.
3. Hospital Correia Picanço. Secretaria de Saúde de Pernambuco, Recife, Brazil.
4. Institute for Biological Sciences. University of Pernambuco, Recife, Brazil.
5. Faculty of Medical Sciences. University of Pernambuco, Recife, Brazil.
6. Department of Collective Health. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail: carollinedearaujo@gmail.com (CAM)

Abstract

Hepatotoxicity is frequently reported as an adverse reaction during the treatment of tuberculosis (TB). The aim of this study was to determine the incidence of and identify predictive factors for developing hepatotoxicity after initiating treatment for TB in people living with HIV/AIDS (PLWHA). This was a prospective cohort study with PLWHA who were monitored during the first 60 days of TB treatment, in Pernambuco, Brazil. Hepatotoxicity was considered as elevated aminotransferase levels, three times higher than before initiating TB treatment, associated with symptoms of hepatitis. We conducted a multivariate logistic regression analysis and used the odds ratio (OR) as estimates of relative risk with a confidence interval of 95%. Hepatotoxicity was observed in 53 (30.6%) of the 173 patients who initiated TB treatment. The final multivariate logistic regression model demonstrated that the use of fluconazole, malnutrition and being classified as a phenotypically slow acetylator increased the risk of hepatotoxicity significantly. The incidence of hepatotoxicity during treatment for TB in PLWHA was high. Those classified as phenotypically slow acetylators and as malnourished should be targeted for specific care to reduce the risk of hepatotoxicity during treatment for TB. The use of fluconazole should be avoided during TB treatment in PLWHA.

Keywords: Tuberculosis treatment; hepatotoxicity; Arylamine N-Acetyltransferase (NAT2); HIV/AIDS.

1. Introduction

The treatment of tuberculosis (TB) in PLWHA has been a constant challenge for medicine. The occurrence of adverse reactions and the possibility of drug interactions may interfere negatively with the therapeutic regimen, leading, in most cases, to discontinuation [1].

Hepatotoxicity is a serious adverse reaction frequently observed during treatment for TB [2], and the incidence rate may vary between 2-28% [3]. Some studies have indicated that the occurrence of hepatotoxicity during the use of anti-tuberculosis drugs is similar in both HIV co-infected and HIV-uninfected individuals [4,5]. However, Hoffman et al. [6] encountered a higher incidence of hepatotoxicity among PLWHA.

In general, the risk of hepatotoxicity is influenced by genetic and acquired factors [7,3]. There is no consensus on the risk factors for developing hepatotoxicity during TB treatment. Some studies have considered advanced age (> 50 years), female gender, alcohol use, low body weight, alcoholism, chronic hepatitis B and/or C, HIV infection and extra-pulmonary TB, as the main predisposing factors for hepatotoxicity [3,8-11]. Other studies have suggested the involvement of genetic risk factors for hepatotoxicity during the use of anti-TB drugs: slow acetylator phenotype of the Arylamine N-Acetyltransferase (NAT2) gene, the heterozygous c1/c2 and the homozygous c1/c1 for cytochrome (CYP) 2E1, the absence of human leukocyte antigen (HLA)-DQA1*0102 and the presence of HLA-DQB1*0201 [12-14].

In Brazil, few studies have been conducted in order to verify the relationship of the slow acetylator phenotype of the NAT2 gene and the occurrence of hepatotoxicity during TB treatment [7, 15-17]. To the best of our knowledge, no studies have been conducted exclusively with PLWHA in any of the Brazilian states, including that of Pernambuco, which records the highest incidence rate of TB in the whole of the Brazilian Northeastern

region (49.3/100,000 inhabitants). In Pernambuco, a TB-HIV co-infection rate of 11.6% has been identified, which is well above that recorded for both the whole country (9.8%) and for the Northeast Region (8.1%) [18]. It is worth noting that these data may be underestimated due to the underreporting of TB/HIV co-infection, already described in Brazil [19].

As the incidence and predictors of drug-induced hepatotoxicity may vary between populations, partly due to host genetics and environmental factors, characterization of such parameters within the population is very useful.

Furthermore, it is difficult to draw comparisons between the published studies due to the various definitions encountered in the literature for hepatotoxicity during TB treatment. This may be corroborated with the findings of Coca et. al. [2] in a case-control study conducted to compare the occurrence of hepatotoxicity during TB treatment in patients with and without HIV co-infection. The authors used three definitions of hepatotoxicity simultaneously and found that small changes in the definition bring about significant impacts on results [2]. In the present study, we have chosen to use the definition adopted by the Brazilian Ministry of Health for hepatotoxicity, as applied to the country's public health system [20]. As most studies on hepatotoxicity during TB treatment in PLWHA have been conducted in Africa [21,22] and Asia [23,24], there is a need for specific reports regarding the Brazilian population infected with HIV. This prospective cohort study has aimed to determine the incidence of and identify predictive factors for developing hepatotoxicity after the initiation of TB treatment for PLWHA.

2. Methods

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Pernambuco (CEP/ CCS / UFPE 254/05), and all study participants provided written informed consent.

2.1 Design, site and study population

This was a prospective cohort study with PLWHA of both sexes, aged ≥ 18 years, treated at the Hospital Correia Picanço (HCP), in a specialized service for the care of PLWHA, and is responsible for approximately half this population in the state of Pernambuco.

A sample size was estimated for this study considering the NAT2 gene polymorphism as exposure to the development of hepatotoxicity. For this, we refer to the Teixeira et al study (2011), which resulted in a frequency equal to 69.2% of the "slow acetylator" NAT2 phenotype in patients who develop hepatotoxicity and an estimated odds ratio of 2.86 (95% CI: 1.06 to 7.68). Based on these parameters, with a confidence level of 95% and power of 80%, the estimated sample was 150 patients.

From all individuals who initiated TB treatment we included in this study those who provided blood samples for measuring the aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) enzymes before initiating TB treatment. The individuals who did not return for further assessment of transaminase levels were considered lost to follow up. Those who agreed to participate in the study signed an Informed Consent Form (ICF), based on the ethical aspects of Resolution No. 466/12 of the National Health Council.

2.2 Cohort follow-up

Individuals were included in the study just before initiating TB treatment, during compulsory notification to the Information System for Notifiable Diseases - TB (TB

Sinan), which is a prerequisite for initiating TB treatment in Brazil, and were monitored during the first 60 days of treatment.

Patients were interviewed by previously trained health professionals, through the application of a structured questionnaire. In addition, information was extracted from medical records using a data collection form. Both instruments were specifically constructed to collect data for this research.

All studied individuals underwent blood collection at baseline and on the monthly visits to the health service, during the first 60 days of TB treatment, irrespective of whether or not they presented symptoms of hepatitis through the measurement of liver enzymes. Individuals were also interviewed in order to monitor hepatitis symptoms and any adverse effects of TB treatment at the first and second follow-up visits.

2.3 Defining the study variables

The event of interest was hepatotoxicity, defined as elevated aminotransferase levels, identified as being three times higher than before initiating TB treatment, with associated symptoms of hepatitis. These symptoms were considered as the occurrence of jaundice, nausea, vomiting, dyspepsia and asthenia [20]. The reference values adopted were AST-36UI/mL and ALT-32UI/mL.

We analyzed the factors potentially associated with the development of hepatotoxicity: biological and lifestyle variables: gender, age, skin color, body mass index (BMI) which was categorized as malnourished ($BMI < 18.5 \text{ kg / m}^2$), eutrophic ($18.5 \leq BMI \leq 24.9 \text{ kg/m}^2$) and overweight/obese ($BMI \geq 25.0 \text{ kg / m}^2$), alcohol and illicit drug use.

To classify the patterns of alcohol consumption, information was gathered regarding the intake and frequency of alcoholic beverages over the previous three months.

The frequency of alcohol use was coded into categories ranging from “never” (for abstainers) to “every day”, also including the number of units, and classifying individuals

as “abstainer” (has never drunk or drinks less than eight units per year); “light drinker” (drinks on a monthly basis or up to one to two days a week, not exceeding 10 units); “heavy drinker” (drinks on a daily basis or 3-4 days a week, exceeding five units daily), and “alcohol dependent” (in treatment). For the purpose of the regression analysis, the variable “alcohol consumption” was categorized into two levels: “Yes” (light drinker, heavy drinker and alcohol dependent) and “No” (abstainers).

Illicit drug use was categorized as “Current use” for individuals who reported having used marijuana, cocaine, crack and/or glue during the previous year, “Past use” for individuals who reported that they had used these drugs during their lifetime, and “Never used” for individuals who had never used these drugs.

2.4 Clinical and laboratory variables

These variables were drug regimen for TB treatment, the use of highly active antiretroviral therapy (HAART) - (Yes/No), classes of combination antiretroviral therapy (ART), Arylamine N-Acetyltransferase (NAT2) Phenotype Gene, Serology anti-HBc (hepatitis B core antibody and antigen) and anti-HCV (hepatitis C virus antibody) , and CD4 count.

The treatments for TB, according to the Brazilian Ministry of Health, were categorized as the RIP Regimen (consisting of three drugs: rifampicin, isoniazid and pyrazinamide), the new recommended RIPE regimen (consisting of four drugs: rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol) and others [20].

The use of antiretroviral drugs at the time of initiating TB treatment was confirmed through medical records and categorized as: not using HAART, initiated HAART before TB treatment and initiated HAART during the first two months of TB treatment.

The use of drugs (sulfadiazine, azithromycin, sulfamethoxazole and trimethoprim, amphotericin B, fluconazole, and ganciclovir) for the treatment of other opportunistic infections during the first 60 days of TB treatment was also investigated and categorized as

“Yes” for individuals who used one or more of the drugs, and “No” for individuals who used none of the drugs.

Serology for anti-HBc and anti-HCV were categorized as reactive and non-reactive. For the analysis, we considered a CD4 count measured up to six months before initiating TB treatment, and the variable was categorized as <200 cells/mm³ and ≥ 200 cells/mm³.

We considered individuals as seropositive for HIV, when they tested positive by two sequential tests, according to the recommendations of the Ministry of Health in Brazil.

We considered individuals with active TB as those who initiated TB treatment due to clinical diagnosis or after bacteriological confirmation of TB diagnosis. All cases were reported to Sinan-TB.

2.5 Laboratory procedures

The serological test used for detecting HIV infection was the Rapid-check HIV1 & 2 (NDI-Núcleo de Doenças Infecciosas, Vitória, ES, Brasil) or the rapid test – HIV- 1/ 2 Bio-Manguinhos (Fundação Oswaldo Cruz/ Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) followed by a confirmatory test (western blot (WB) , immunoblot (IB) or rapid immunoblot).

The CD4⁺ T lymphocyte count was performed by flow cytometry using anti-CD4 antibodies labeled with fluorescent dyes through the BD FACS Calibur™ system.

Serological testing for total anti-HBc and anti-HCV was performed with the ARCHITEC i 2.000 (Abbott) analyzer, which employs the chemiluminescence method, following manufacturer's instructions.

2.6 Genotyping the NAT2 gene

NAT2 genotypes were defined by direct sequencing, comprising two *loci*. Genomic DNA isolation was performed using the Bio Pur Cent Mini Extraction Kit (Biometrix®, Brazil) according to manufacturer's specifications. After extraction, DNA samples were stored at

-20°C until use. PCRs were performed with two independent reactions, as follows: 36,5µl H₂O, 5µl 10x PCR buffer, 2 µl MgCl₂ 50 mM, 1µl 10mM dNTP, 2µl of each 10 mM primer, 1µl DNA, and also 0.5 µl Taq pol (5U/microl) to 50 µl final volume. SNPs G191A (rs1801279), C282T (rs1041983) and T341C (rs1801280) were evaluated using primers 5'-CCTTACAGGGTTCTGAGACTAC-3' and 5'-GGTGCCTTGCATTTTCTGCT-3' and the following cycling parameters: initial denaturation (94°C/3 min), 35 cycles (94°C/1 min, 50°C/1 minute., and 72°C/1 min), and final extension at 72°C/5 minutes. On the other hand, SNPs C481T (rs1799929), G590A (rs1799930), A803G (rs1208) and G857A (rs1799931) were evaluated using primers 5'-CATTGTCGATGCTGGGTCTG-3' and 5'-TCATCCATAAAAATGTCAGCATTT-3' with the same cycling parameters listed above, except for the annealing temperature (55°C).

The 667bp and 665bp amplicons were first analyzed by electrophoresis (1% agarose). Direct sequencing was performed using ABI PRISM BigDye Terminator v.3.1 Sequencing Kit (PE Applied Biosystems) followed by genotyping using ApE-A- plasmid-Editor v2.0.45 and AY331807 GenBank sequence as reference (www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY331807), according to the International NAT2 Gene Nomenclature Committee (<http://nat.mbg.duth.gr>).

2.7 Phenotypic inference based on genomic data of the NAT2 gene

Among the 7 SNPs commonly found in the human population, for phenotypic classification, we analyzed four SNPs that result in amino acid substitution and the consequent decrease in the capacity of acetylation. Individuals who presented at least two variant alleles in any of the SNPs at positions 191, 341, 590 and 857 were classified as slow acetylators [25].

2.8 Statistical Analysis

Data were stored in a database created for this research. All data were double entered (validated in EPI-INFO 6.04), and were subsequently compared to identify possible typing errors.

To check the statistical significance of differences in the frequency distribution of variables according to hepatotoxicity, we used the chi-square test and, when necessary, the Fisher exact test. We carried out bivariate logistic regression analysis and the magnitude of the associations was expressed by the odds ratio (OR) as an estimate of relative risk, with a confidence interval of 95% regression. To adjust the associations regarding possible confounding factors, we conducted a multivariate logistic regression analysis taking the statistical significance level of 20% ($p < 0.20$) in the bivariate analysis as the criterion for entering variables into the model. The criterion for the variables that remained in the final model was the association with hepatotoxicity with a statistical significance of 5% ($p < 0.05$). The analysis was performed using STATA 12.0 (Statistical Software for Professionals, StataCorp LP, UK).

3. Results

Of the 324 individuals who initiated treatment for TB during the study period, 173 (53.4%) met the inclusion criteria. Of the 151 (46.6%) patients who were not included in the study, 90 (59.6%) were excluded for not presenting baseline ALT and/or AST measurements and, 61 (40.4%) were considered lost to follow up since they failed to return to the service in order to measure AST and/or ALT levels within 30 and/or 60 days after initiating treatment for TB (Fig. 1).

Fig. 1. Flowchart of the study population.

The study population was compared with the group of individuals who were lost to follow up in relation to sex, age, CD4 cell count and use of HAART. They were similar to all this factors excepted in the use of HAART. The proportion of those using HAART who were lost to follow up was 60.7%, while amongst the studied individuals it was 78.6%.

Of the 173 patients studied, 53 (30.6%, 95% CI: 23.6 to 37.5) presented symptoms consistent with hepatitis (Fig. 2) and elevated aminotransferase levels, three times higher than that recorded before initiating TB treatment, and constituted the cases of hepatotoxicity.

Fig. 2. Frequency of symptoms among cases of hepatotoxicity.

Table 1, 2 and 4 demonstrate the frequency distribution of biological factors and lifestyle habits, clinical and laboratory factors and variables related with the use of drugs for the treatment of other opportunistic diseases. These tables also demonstrate the crude association between all the variables studied and hepatotoxicity.

The population was characterized as being predominantly male (67.1%), just over half (51.5%) were aged between 20 and 39 years, with a greater proportion of eutrophic (60.7%) and non-white (79.2%) individuals. The use of illicit drugs was reported by 7.5% of the patients and the use of alcohol by 16.2% (Table 1).

Table 1 – Association between biological factors and lifestyle habits and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, Pernambuco State, Brazil, 2007 – 2012

Variables	Hepatotoxicity				Total		OR	CI (95%)	p-value
	Yes		No		N	%			
	N	%	N	%					
Sex									
Male	32	27.6	84	72.4	116	67.1	1	-	
Female	21	36.8	36	63.2	57	32.9	1.5	(0.8 – 3.0)	0.216
Age (years)									
< 40	30	33.7	59	66.3	89	51.5	1	-	
≥40	23	27.4	61	72.6	84	48.5	0.7	(0.4 – 1.4)	0.368
BMI									
Eutrophic	25	23.8	80	76.2	105	60.7	1	-	
Malnourished	22	50.0	22	50.0	44	25.4	3.2	(1.5 – 6.7)	0.002
Overweight/ Obese	2	11.7	15	88.3	17	9.8	0.4	(0.1 – 2.0)	0.279
Skin color									
White	14	38.9	22	61.2	36	20.8	1	-	
Non-white	39	28.5	98	71.5	137	79.2	0.6	(0.3 – 1.4)	0.230
Illicit drug use									
Never used	38	29.1	93	70.9	131	75.7	1	-	
Past use	13	44.8	16	55.2	29	16.7	1.9	(0.8 – 4.5)	0.102
Current use	2	15.4	11	84.6	13	7.5	0.4	(0.1 – 2.1)	0.307
Alcohol consumption									
No	45	31.7	97	68.3	142	82.1	1	-	
Yes	8	28.6	20	71.4	28	16.2	0.8	(0.4 – 2.1)	0.745

BMI(Body mass index) OR = odds ratio; CI (95%): confidence interval.

It was verified that the most commonly used therapeutic regimen for TB (61.3%) was that of three drugs (RIP), and HAART was used by 78.6% of the studied population, the majority of whom had initiated HAART before treatment for TB. For the remaining 49.1% who were already using HAART, the average time of use of ARV was 4.7 years (SD 4.3 years) (Fig. 3).

Fig. 3. Average time of HAART use for those who started ARV treatment before TB treatment.

The antiretroviral regimen containing two NRTIs (nucleoside reverse transcriptase inhibitor) and one NNRTI (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor) was the most commonly used amongst HAART users (60.1%). Serology tests for anti-HBc and anti-HCV were performed on 166 (95.9%) individuals. Of these, 61 subjects (36.7%) were seropositive for anti-HBc and 11 (6.4%) for anti-HCV (Table 2).

Table 2 – Association between clinical and laboratory factors and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, Pernambuco State, Brazil, 2007 – 2012

Variables	Hepatotoxicity				Total		OR	CI(95%)	p-value
	Yes		No						
	N	%	N	%	N	%			
TB Regimen									
RIP	35	33.1	71	66.9	106	61.3	1	-	-
RIPE	18	27.7	47	72.3	65	37.6	0.8	(0.4 – 1.5)	0.465
Others	0	00.0	2	100.0	2	1.2	-	-	-
HAART use									
Not using HAART	11	29.7	19	70.3	37	21.4	1	-	-
Initiated HAART before TB treatment	24	28.3	61	71.7	85	49.1	1.3	(0.5 – 3.2)	0.584
Initiated HAART during the first two months of TB treatment	18	35.3	33	64.7	51	29.5	0.9	(0.4 – 2.2)	0.867
Classes of combination ARV									
Not using ARV	11	29.7	26	70.3	37	21.4	1	-	-
2NRTI + 1NNRTI	31	29.8	73	70.2	104	60.1	1.0	(0.4 – 2.3)	0.993
2NRTI + 1PI/r	9	37.5	15	62.5	24	13.9	1.4	(0.5 – 4.2)	0.528
Others	2	25.0	6	75.0	8	4.6	0.8	(0.1 – 4.5)	0.789
NAT2 Phenotype Gene									
Fast acetylator	30	25.0	90	75.0	120	69.4	1	-	-
Slow acetylator	23	43.4	30	56.6	53	30.6	2.3	(1.2 – 4.5)	0.017
Anti-HBc									
Non-reactive	38	36.2	67	63.8	105	60.3	1	-	-
Reactive	14	22.9	47	77.1	61	36.7	0.5	(0.3 – 1.1)	0.078
Anti-HCV									
Non-reactive	49	31.6	106	68.4	155	89.6	1	-	-
Reactive	3	27.3	8	72.3	11	6.4	0.8	(0.2 – 3.2)	0.765
CD4 count (cels/mm³)									
≥ 200	12	18.7	52	81.3	64	41.1	1	-	-
< 200	33	35.8	59	64.2	92	58.9	2.4	(1.2 – 5.2)	0.022

TB (Tuberculosis), RIP (Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide), RIPE (Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, ethambutol), HAART (Highly active antirretroviral therapy) ARV (Antiretroviral therapy), NRTI (nucleoside reverse transcriptase inhibitor), NNRTI (Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor), PI/r (Protease inhibitor/ritonavir), NAT2 (Arylamine N-Acetyltransferase), Anti-HBc (hepatitis B core antibody and antigen) and Anti-HCV(hepatitis C virus antibody).

OR (odds ratio); CI (95%): confidence interval.

There was a predominance of individuals phenotypically classified as fast acetylators for NAT2 (69.4%). The prevalence of different NAT2 subtypes encountered is presented in Table 3. According to the International NAT2 Gene Nomenclature Committee, no new genotypic subtypes were encountered for the 7 *loci* studied in the NAT2 gene.

Table 3 – NAT2 genotypes and acetylation profile in PLWHA/TB patients according to the International NAT2 Gene Nomenclature Committee. Recife, Pernambuco State, Brazil, 2007 – 2012

NAT2 Genotype	Frequency		Total	
	N	%	N	%
Fast acetylator phenotype			120	69.4
NAT2*4	102	85.0		
NAT2*11A	1	0.8		
NAT2*12A	4	3.3		
NAT2*12C	6	5.0		
NAT2*13A	7	5.8		
Slow acetylator phenotype			53	30.6
NAT2*5A	2	3.7		
NAT2*5B	21	39.6		
NAT2*5C	4	7.5		
NAT2*5D	14	26.4		
NAT2*5J	1	1.8		
NAT2*6A	9	16.9		
NAT2*6B	1	1.8		
NAT2*7B	1	1.8		

NAT2 (Arylamine N-Acetyltransferase).

The use of drugs for treating other opportunistic diseases is described in Table 4. Fluconazole and trimethoprim-sulfamethoxazole were used by 35.3% and 50.8% of subjects, respectively.

Table 4 – Association between the use of drugs for the treatment of other opportunistic diseases and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, Pernambuco State, Brazil, 2007 – 2012

Variables	Hepatotoxicity				Total		OR	CI(95%)	p-value
	Yes		No						
	N	%	N	%	N	%			
Sulfadiazine									
No	42	27.8	109	72.2	151	87.3	1	-	0.040
Yes	11	50.0	11	50.0	22	12.7	2.6	(1.1 – 6.4)	
Azithromycin									
No	45	30.2	104	69.8	149	86.2	1	-	0.758
Yes	8	33.3	16	66.7	24	13.8	1.2	(0.5 – 2.9)	
Sulfamethoxazole and trimethoprim									
No	23	27.1	62	72.9	85	49.2	1	-	0.317
Yes	30	34.1	58	65.9	88	50.8	1.4	(0.7 – 2.7)	
Amphotericin B									
No	51	30.5	116	69.5	167	96.5	1	-	0.884
Yes	2	33.3	4	66.7	6	3.5	1.1	(0.2 – 6.4)	
Ganciclovir									
No	50	29.6	119	70.4	169	97.7	1	-	0.092
Yes	3	75.0	1	25.0	4	2.3	7.2	(0.7 – 70.3)	
Fluconazole									
No	24	21.4	88	78.6	112	64.7	1	-	<0.001
Yes	29	47.5	32	52.5	61	35.3	3.3	(1.7 – 6.5)	

The final multivariate logistic regression model for the factors associated with hepatotoxicity during the first 60 days of TB treatment is presented in Table 5. The variables that remained in the model, increasing the chance of hepatotoxicity were the use of fluconazole, malnutrition (BMI <18.5) and being phenotypically classified as NAT2 slow acetylators.

Table 5 – Multivariate model of the association between the factors studied and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, Pernambuco State, Brazil, 2007 – 2012

Variables	Odds Ratio	CI (95%)	P-value
NAT2 Phenotype Gene			
Fast acetylator	1	-	
Slow acetylator	2.1	(1.0 – 4.3)	0.053
BMI			
Eutrophic	1	-	
Malnourished	3.0	(1.4 – 6.6)	0.006
Overweight/ Obese	0.6	(0.1 – 2.7)	0.472
Fluconazole			
No	1	-	
Yes	3.0	(1.5 – 6.2)	0.002

NAT2 (Arylamine N-Acetyltransferase), BMI (Body mass index).

OR (odds ratio); CI (95%): confidence interval.

4. Discussion

The cumulative incidence rate of hepatotoxicity in PLWHA following the use of drugs for TB treatment was 30.6% in the studied population. The use of fluconazole, malnutrition and a NAT2 slow acetylator phenotypic profile were factors independently associated with hepatotoxicity.

This rate of hepatotoxicity observed in our study was very similar (30%) to the rate reported in a study developed in Ethiopia [21]. Another study, conducted in Brazil, demonstrated a higher rate of hepatotoxicity (43.8%) amongst those infected with HIV and a rate of 30.8% in seronegative HIV patients [26]. However, the comparison of our results with other studies presents limitations, since, as mentioned above, the existence of several hepatotoxicity definitions found in the literature hinders comparisons between published studies. The studies cited above [8,14], unlike the present study, adopted the classification criteria of the Council for International Organizations of Medical Science (CIOMS) which defines hepatotoxicity as elevated ALT levels twice the upper limit of normal [27]. However, the choice of the criterion of hepatotoxicity recommended by the Ministry of Health of Brazil for individuals taking antituberculosis drugs is very useful, given that this definition provides guidelines for clinical decision-making in the management of sick individuals.

In PLWHA, TB treatment follows the same recommendations for the general population, both in relation to therapeutic regimens and to the total duration of treatment. Nevertheless, the treatment of TB in PLWHA is a complex problem because it involves the question of identifying the toxicity of the two therapeutic regimens, the requirements of medication adherence and the inherent problems regarding the association between the two diseases. Thus, the simultaneous initiation of both treatments, for HIV infection and for TB, besides

presenting an increased risk of drug intolerance and imposing the difficulty of identifying which drug is linked to a possible toxicity, increases the risk of adverse reactions [20,28].

In our study population, individuals phenotypically classified as slow acetylators presented a higher chance of developing hepatotoxicity than those classified as fast acetylators with an OR=2.1 and a borderline p-value ($p = 0.053$). We kept NAT2 phenotype in the final multivariate model because it has a borderline statistical significance and there is a biological plausibility that slow acetylators are associated with hepatotoxicity. However, this remains controversial. Mitchell et al. [29] argued that fast acetylators would be more vulnerable to liver damage induced by antituberculosis drugs due to an increased production of hepatotoxin, because of fast NAT2 enzyme activity, and Vuilleumier et. al. [30] encountered no relationship between the profiles of acetylation and hepatotoxicity induced by these drugs. We believe that individuals phenotypically classified as slow acetylator are more susceptible to developing hepatotoxicity, because they accumulate more acetylhydrazine, which competes directly with toxic metabolites of isoniazid by acetylation [12]. Moreover, a recent meta-analysis [31] has demonstrated an association between the NAT2 gene slow acetylator phenotype and the development of hepatotoxicity, which is agreement with our findings. Our results are consistent with the latest published evidence in Brazilian studies and the international literature on the increased risk of hepatotoxicity in individuals phenotypically classified as slow acetylators during treatment for tuberculosis [7, 12, 15-17, 32].

We have verified that the use of fluconazole was strongly associated with the development of hepatotoxicity when taken during the first 60 days of treatment for tuberculosis. A retrospective study in PLWHA conducted by Pukenyte et al. [33], in France, demonstrated similar results. This evidence suggests that the concomitant use of fluconazole with antituberculosis drugs for PLWHA increases the risk of developing hepatotoxicity. The use

of antifungal drugs, including fluconazole, was reported as being associated with hepatotoxicity especially in those with other risk factors for liver injury [34], as observed in our study. Our findings indicate the need to contraindicate the use of this drug in PLWHA who are due to initiate treatment for TB, as the use of fluconazole is often prescribed to this population as a prophylactic measure for the recurrence of cryptococcal disease and esophageal and oropharyngeal candidiasis, especially among patients with low CD4 cell counts.

Protein-energy malnutrition among PLWHA has been extensively studied, especially before the introduction of HAART, when weight loss and malnutrition were frequent. At the time, wasting syndrome was a relatively common complication in the advanced stages of HIV infection and responsible for 80% of mortality in AIDS patients [35-37]. With the advent of HAART, while malnutrition is still reported in PLWHA, it is less frequent [38]. The nutritional profile of the study population was predominantly composed of eutrophic individuals (60.7%), while 25.4% were classified as malnourished and 9.8% as overweight/obese. It was demonstrated that malnourished individuals were three times more likely to develop hepatotoxicity when compared to eutrophic individuals. This fact may be explained by the depletion of glutathione deposits caused by the presence of malnutrition, which leads to the slowing down of the hepatic metabolism of drugs and a greater vulnerability to oxidative injury. Moreover, the literature reports that a low body mass index and hypoalbuminemia, i.e., malnutrition, are associated with high rates of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs [8,39,40].

One unexpected finding was that the consumption of alcohol was not associated with hepatotoxicity in the studied population. It is probable that people living with HIV/AIDS were recommended to refrain from the use of alcohol either when the viral infection was

first diagnosed or before initiating HAART. In the studied population, only 16.2% reported alcohol consumption.

A peculiar feature of this cohort was the inclusion of individuals using different schemes for TB treatment. This was because the Ministry of Health of Brazil included in its recommendations, the use of the 4th drug, ethambutol, to the basic scheme for treating TB. This change came into force during the follow-up period of this cohort and we therefore decided to analyze whether the two groups of individuals using these different schemes presented different risks for developing hepatotoxicity. In this study, the majority (106/173) of patients were using three drugs, but some (65/173) had used the new scheme as proposed by the Brazilian Ministry of Health, since 2009. Nevertheless, the association between hepatotoxicity and the use of three or four drugs was not observed, as presented in Table 2.

The great majority of the study population (78.6%) used HAART, of whom 30.8% presented hepatotoxicity during the first 60 days of TB treatment. In theory, the use of HAART is associated with a higher risk of hepatotoxicity because it potentiates the hepatotoxicity effect of the anti-TB drugs. Thus, the fact that the study included more individuals on HAART when compared to individuals who were lost to follow up, would have led to an overestimation of the existing risk, and not a reduction. In fact, the use of HAART was not associated with hepatotoxicity, which makes the selection bias less likely. In our study, all patients who had taken antiretroviral treatment with NNRTI used Efavirenz, with the exception of two patients who took Nevirapine. One of these patients presented with hepatotoxicity. We chose to analyse the combination of ARV classes due to wide variation of antiretroviral drugs used by the population studied. Certainly, if we had analysed the association of each drug with the outcome the study power would be limited.

Our study has the limitations of an observational study with PLWHA attending a routine medical care setting. We did not achieve a sample size with the necessary power to demonstrate a statistically significant association between the NAT2 slow acetylator profile and the development of hepatotoxicity in PLWHA undergoing treatment for TB. However, the association encountered (OR= 2.1; p value= 0.053) indicates an increased chance of hepatotoxicity among individuals with an NAT2 slow acetylator profile.

Another limitation was that recall bias should have occurred in the responses regarding the alcohol consumption and use of illicit drugs. However, this bias should have been minimized since the questions were constructed in such a manner to better prepare participants to answer them.

Finally, we studied the exposures related to drugs registered by the attending physician. We do not investigate the concomitant use of medicinal herb in this population.

Bacteriological confirmation of tuberculosis in PLWHA is not frequent because they are paucibacillary and the sputum smear microscopy has low sensitivity in this population. In addition, culture results are time-consuming and attending physicians often initiate TB treatment without bacteriological confirmation. This absent bacteriological confirmation should have low impact because this is a common situation. In our study, only one case of empirical treatment for TB had changed its diagnosis and the case was excluded.

Our findings are relevant for the improved support of PLWHA in the specialized health services for HIV/AIDS where polypharmacy is very frequent. The identification of risk factors for hepatotoxicity in PLWHA undergoing treatment for tuberculosis may contribute to a greater control in the management of drugs used by this population, especially those cases referred for the use of antifungal drugs.

Given our findings, we suggest that the use of fluconazole should be contraindicated during the first 60 days of TB treatment in PLWHA. Furthermore, we emphasize the

importance of including a nutritionist on the staff of referral services for PLWHA, which would enable the implementation of preventive actions and patient nutritional monitoring. We also believe that in the near future, the treatment of tuberculosis should become individualized, by adapting drugs and dosages according to the NAT2 phenotypic profile of each patient.

Acknowledgements

We are grateful to the Brazilian Ministry of Health/Programa DST/AIDS/UNESCO (Projeto CSV 182/06) for their financial support and to the Ministry of Science and Technology CNPq/MSSCTIE-DECIT (Processo n° 10567/2006-0). The authors were partially supported by CNPq (Productivity Grant 308311/2009-4 for R.A.A.X and Productivity Grant 301779/2009-0 for M.F.P.M.A and Study Grant 310911/2009-5 for H.R.L).

Competing interests

The authors declare that there are no competing interests.

References

1. Havlir DV, Kendall MA, Ive P, Kumwenda J, Swindells S, Qasba SS, Luetkemeyer AF, Hogg E, Rooney J F, Wu X, Hosseinipour MC, Lalloo U, Veloso VG, Some FF, Kumarasamy N, Padayatchi N, Santos BR, Reid S, Hakim J, Mohapi L, Mugenyi P, Sanchez J, Lama JR, Pape JW, Sanchez A, Asmelash A, Moko E, Sawe F, Andersen J, Sanne I, for the AIDS Clinical Trials Group Study A5221: Timing of Antiretroviral Therapy for HIV-1 Infection and Tuberculosis. *N Engl J Med* 2011, 365:1482-91.
2. Coca NSM, Oliveira MS, Voietta I, Antunes CMF, Lambertucci JR: Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: a comparison between patients with and without human immunodeficiency virus seropositivity. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010, 43(6):624-628.
3. Tostmann A1, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WC, van der Ven AJ, Dekhuijzen R: Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol* 2008, 23(2):192-202.
4. El-Sadr WM, Tsiouris SJ: HIV-associated tuberculosis: diagnostic and treatment challenges. *Semin Respir Crit Care Med* 2008, 29:525-531.
5. Breen RAM, Miller RF, Gorsuch T, Smith CJ, Schwenk A, Holmes W, Ballinger J, Swaden L, Johnson MA, Cropley I, Lipman MCI: Adverse events and treatment interruption in tuberculosis patients with and without HIV co-infection. *Thorax* 2006, 61:791-794.
6. Hoffmann CJ, Charalambous S, Thio CL, Martin DJ, Pemba L, Fielding K L, Churchyard GJ, Chaisson RE, Grant AD: Hepatotoxicity in an African antiretroviral therapy cohort: the effect of tuberculosis and hepatitis B. *AIDS* 2007, 21(10): 1301-1308.
7. Teixeira RLF, Morato RG, Cabello PH, Muniz LMK, Moreira ASR, Kritski AL, Mello FCQ, Suffys PN, Miranda AB, Santos AR: Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *MEM INST OSWALDO CRUZ* 2011, 106(6): 716-724.
8. Makhoulf HA, Helmy A, Fawzy E, El-Attar M, Rashed HAG: A prospective study of antituberculous drug-induced hepatotoxicity in an area endemic for liver diseases. *Hepatol Int* 2008, 2: 353–360.

9. Marzuki OA, Fauzi ARM, Ayoub S, Kamarul IM: Prevalence and risk factors of anti-tuberculosis drug-induced hepatitis in Malaysia. *Singapore Med J* 2008, 49(9): 688- 693.
10. Anand AC, Seth AK, Paul M, Puri P: Risk Factors of Hepatotoxicity During Anti-tuberculosis Treatment. *MJAFI* 2006, 62: 45-49.
11. Ungo JR, Jones D, Ashkin D, Hollender ES, Bernstein D, Albanese AP, Pitchenik AE: Antituberculosis Drug-induced Hepatotoxicity: The Role of Hepatitis C Virus and the Human Immunodeficiency Virus. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157: 1871–1876.
12. Singla N, Gupta D, Birbian N, Singh J: Association of NAT2, GST and CYP2E1 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Tuberculosis* 2014, 94: 293-298.
13. Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, Chang FY, Lee SD: Cytochrome P450 2E1 Genotype and the Susceptibility to Antituberculosis Drug-Induced Hepatitis. *Hepatology* 2003, 37: 924-930.
14. Sharma SK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Mehra NK: Evaluation of clinical and immunogenetic risk factors for the development of hepatotoxicity during antituberculosis treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 166: 916-919.
15. Santos NP, Callegari-Jacques SM, Ribeiro Dos Santos AK, Silva CA, Vallinoto AC, Fernandes DC, de Carvalho DC, Santos SE, Hutz MH: N-acetyl transferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 2013, 17(4): 499-504.
16. Costa GN, Magno LA, Santana CV, Konstantinovas C, Saito ST, Machado M, Di Pietro G, Bastos-Rodrigues L, Miranda DM, De Marco LA, Romano-Silva MA, Rios-Santos F: Genetic interaction between NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2E1, and environmental factors is associated with adverse reactions to anti-tuberculosis drugs. *Mol Diagn Ther* 2012, 16(4):241-50.
17. Possuelo LG, Castelan JA, de Brito TC, Ribeiro AW, Cafrune PI, Picon PD, Santos AR, Teixeira RL, Gregianini TS, Hutz MH, Rossetti ML, Zaha A: Association of slow N-

acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *Eur J Clin Pharmacol* 2008, 64(7):673-81.

18. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Boletim epidemiológico – O controle da tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios. Vol.45. Nº 02 - 2014. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Available at : <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/29/BE-2014--2--tb.pdf>. Accessed 07 september 2014.

19. Carvalho CN, Dourado I, Bierrenbach AL: Underreporting of the tuberculosis and AIDS comorbidity: an application of the linkage method. *Rev Saude Publica* 2011, 45(3):548-55.

20. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Ministério da Saúde, 2011.

21. Yimer G, Ueda N, Habtewold A, Amogne W, Suda A, Riedel KD, Burhenne J, Aderaye G, Lindquist L, Makonnen E, Aklillu E: Pharmacogenetic & pharmacokinetic biomarker for efavirenz based ARV and rifampicin based anti-TB drug induced liver injury in TB-HIV infected patients. *PLoS One* 2011, 6 (12):e27810.

22. Yimer G, Gry M, Amogne W, Makonnen E, Habtewold A, Petros Z, Aderaye G, Schuppe-Koistinen I, Lindquist L, Aklillu E: Evaluation of patterns of liver toxicity in patients on antiretroviral and anti-tuberculosis drugs: a prospective four arm observational study in ethiopian patients. *PLoS One* 2014, 9(4):e94271.

23. Mo P, Zhu Q, Teter C, Yang R, Deng L, Yan Y, Chen J, Zeng J, Gui XE: Prevalence, drug-induced hepatotoxicity, and mortality among patients multi-infected with HIV, tuberculosis, and hepatitis virus. *Int J Infect Dis* 2014, 28:95-100.

24. Mankhatitham W, Lueangniyomkul A, Manosuthi W: Hepatotoxicity in patients co-infected with tuberculosis and HIV-1 while receiving non-nucleoside reverse transcriptase

inhibitor-based antiretroviral therapy and rifampicin-containing anti-tuberculosis regimen. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011, 42(3):651-8.

25. Sabbagh A and Darlu P: Inferring haplotypes at the NAT2 locus: the computational approach. *BMC Genetics* 2005, 6:30.

26. Zaverucha-do-Valle C, Monteiro SP, El-Jaick KB, Rosadas LA, Costa MJ, Quintana MS, de Castro L: The role of cigarette smoking and liver enzymes polymorphisms in anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *Tuberculosis (Edinb)* 2014, 94 (3):299-305.

27. Benichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990, 11: 272-276.

28. Úriz J, Repáraz J, Castiello J, Sola J: Tuberculosis in patients with HIV infection. *An Sist Sanit Navar* 2007, 30(Suppl 2): 131-142.

29. Mitchell JR, Thorgeirsson UP, Black M, Timbrell JA, Snodgrass WR, Potter WZ, Jollow HR, Keiser HR: Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* 1975, 18(1):70-79.

30. Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, Degoumois F, Dayer P, Mermillod B, Nicod L, Desmeules J, Hochstrasser D: CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol* 2006, 62(6):423-429.

31. Cai Y, Yi J, Zhou C, Shen X: Pharmacogenetic study of drug-metabolising enzyme polymorphisms on the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *PLoS One* 2012, 7(10):e47769.

32. Gupta VH, Amarapurkar DN, Singh M, Sasi P, Joshi JM, Baijal R, Ramegowda PH, Amarapurkar AD, Joshi K, Wangikar PP: Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India. *J Gastroenterol Hepatol* 2013, 28(8):1368-74.

33. Pukenyte E, Lescure FX, Rey D, Rabaud C, Hoen B, Chavanet P, Laiskonis AP, Schmit JL, May T, Mouton Y, Yazdanpanah Y: Incidence of and risk factors for severe liver toxicity in HIV-infected patients on anti-tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007, 11(1):78-84.

34. Wang JL, Chang CH, Young-Xu Y, Chan KA: Systematic Review and Meta-Analysis of the Tolerability and Hepatotoxicity of Antifungals in Empirical and Definitive Therapy for Invasive Fungal Infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2010, 54 (6): 2409–2419.
35. Scevola D, Matteo DA, Uberti F, Minoia G, Poletti F, Faga A: Reversal of cachexia in patients treated with potent antiretroviral. *AIDS Read* 2000, 10(6):365-75.
36. Macallan DC. Nutrition and immune function in human immunodeficiency virus infection. *Proc Nutr Soc* 1999, 58:743-48.
37. Centers for Disease Control. Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. Council of State and Territorial Epidemiologists; AIDS Program, Center for Infectious Diseases. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1987, 36(Suppl 1): 1S-15S.
38. Sieleunou I, Souleymanou M, Schönenberger AM, Menten J, Boelaert M. Determinants of survival in AIDS patients on antiretroviral therapy in a rural centre in the Far-North Province, Cameroon. *Trop Med Int Health* 2009,14:36-43.
39. Mahmood k, Hussain A, Jairamani KL, Talib A, Abbasi BU, Salkeen S. Hepatotoxicity with antituberculosis drugs: the risk factors. *Pak J Med Sci* 2007, 23:33-38.
40. Hassen Ali A, Belachew T, Yami A, Ayen WY. Anti-Tuberculosis Drug Induced Hepatotoxicity among TB/HIV Co-Infected Patients at Jimma University Hospital, Ethiopia: Nested Case-Control Study. *PLoS ONE* 2013, 8(5): e64622.

Submission Confirmation for PONE-D-15-10312 - [EMID:c8e71ad400d72321]

PONE-D-15-10312

Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS

PLOS ONE

Dear Dr. Araújo-Mariz,

Thank you for submitting your manuscript entitled "Hepatotoxicity during treatment for tuberculosis in people living with HIV/AIDS" to PLOS ONE. Your assigned manuscript number is PONE-D-15-10312.

We will now begin processing your manuscript and may contact you if we require any further information. You will receive an update once your manuscript passes our in-house technical check; you can also check the status of your manuscript by logging into your account at <http://pone.edmgr.com/>.

Please visit EveryONE (<http://blogs.plos.org/everyone>), the PLOS ONE community blog for our published authors and readers, to find out what the journal is thinking, changing and doing.

If you have any inquiries or other comments regarding this manuscript, please contact plosone@plos.org.

Thank you for your support of PLOS ONE.

Kind regards,
PLOS ONE

Title: Serological markers of hepatitis B and C in patients with HIV/AIDS and active tuberculosis

Running title: Hepatitis B and C in people with HIV/TB

Autors:

Carolline de Araújo Mariz^{1*}
e-mail: carollinedearaujo@gmail.com

Edmundo Pessoa Lopes¹
e-mail: epalopes@uol.com.br

Ricardo A A Ximenes^{1,2}
e-mail: raaximenes@uol.com.br

Heloísa R Lacerda¹
e-mail: helramos@terra.com.br

Demócrito B Miranda Filho²
e-mail: demofilho@gmail.com

Ulisses R Montarroyos³
e-mail: ulisses_montarroyos@yahoo.com.br

Silvana Barreto⁴
e-mail: silvanasbb@gmail.com

Daniela Medeiros Salustiano⁵
e-mail: danisalustiano@yahoo.com.br

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque⁶
e-mail: militao@cpqam.fiocruz.br

* Corresponding author: Rua de Casa Forte, 65/201, Casa Forte; CEP.: 52.061-460, Recife – PE, Brazil.

1. Department of Tropical Medicine. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil.
2. Faculty of Medical Sciences. Universidade de Pernambuco, Recife, Brazil.
3. Institute for Biological Sciences. Universidade de Pernambuco, Recife, Brazil.
4. Hospital das Clínicas de Pernambuco. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil.
5. Virology Laboratory. Laboratório Central de Pernambuco – LACEN/PE, Recife, Brazil.
6. Department of Collective Health. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife, Brazil.

ABSTRACT

Infection with hepatitis B virus (HBV) and C virus (HCV) are common in patients with HIV/AIDS and tuberculosis (TB). This is a cross-sectional study with patients infected with HIV/AIDS and active TB in Recife, Brazil, aiming to verify the prevalence of markers for HBV: antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc); and HCV: antibody to hepatitis C virus (anti-HCV) by chemiluminescence, and to identify the frequency of associated factors. Data were collected through questionnaires, and blood was drawn from patients for analysis. We used the chi-square test and the Fisher exact test when necessary. We conducted a bivariate logistic regression analysis and the magnitude of the associations was expressed as odds ratio (OR) with a confidence interval of 95%. Among 166 patients studied with HIV/AIDS and active TB, anti-HBc was positive in 61 patients [36.7%; 95% CI (29.4% to 44.6%)] and anti-HCV in 11 [6.6%; 95% CI (3.4% to 11.5%)]. In the logistic regression analysis, male sex and age ≥ 40 years were independent factors associated with the occurrence of anti-HBc. In conclusion, we verified a high frequency of HBV contact marker and a low-frequency of HCV markers in patients with HIV/AIDS and TB in Recife.

Key words: Hepatitis B, Hepatitis C, HIV/Aids, Tuberculosis.

Introduction

The occurrence of infection with hepatitis B virus (HBV) and C virus (HCV) in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) is relatively common. The literature reveals that people suffering from these infections have a high risk of mortality and morbidity caused by chronic hepatitis, cirrhosis, decompensation of liver disease and hepatocellular carcinoma [Masgala et al.,2012; Attia et al.,2012; Shepard et al., 2006; Souza et al.,2004].

Viral hepatitis B and C and HIV infection are major public health problems. It is estimated that there are approximately 350 million people infected with HBV, 170 million infected by HCV and 33.4 million people with HIV worldwide [Brasil, 2011; Brasil, 2009].

In a recent population-based prevalence survey of infections with hepatitis A, B and C throughout Brazilian capitals it was found that in all the capitals of each macro-region and the Federal District infection by hepatitis B virus was less than 1% and by hepatitis C virus 1.38%, which ranks the country as one of low endemicity [Ximenes et al., 2010]. According to data from the Epidemiological Bulletin of Viral Hepatitis in Brazil, in 2011 a total of 14,609 cases of HBV infection were confirmed and of these, 757 were associated with HIV infection. In the same year, from a total of 9,565 confirmed cases of HCV infection, 931 were associated with HIV infection [Brasil, 2011].

In the State of Pernambuco, in 2011, detection rates of confirmed cases of infection with HBV and HCV, per 100,000 inhabitants were 2.1 and 1.1% respectively [6]. Until July 2014, 20,334 cases of AIDS had been reported in the state since the appearance of the first case in 1983 [Pernambuco, 2014].

Studies have shown that HCV infection in the course of HIV disease is responsible for the rapid progression of liver disease, an altered immune response and poor prognosis.

However, the advent of HAART (highly active antiretroviral therapy) increased the survival rates of patients with HIV/AIDS, thus providing the time required for HBV and HCV to develop their full lethal potential among co-infected patients [Masgala et al., 2012; Operskalski and Kovacs, 2011; Cameron et al., 2011; Gupta and Singh, 2010].

Tuberculosis still represents a serious problem both in Brazil and worldwide, and the discovery of HIV seropositivity during the diagnosis of tuberculosis is common. Data from the World Health Organization (WHO) estimate that among the 8.6 million people worldwide that developed tuberculosis in 2012, about 1.1 million (13%) were persons with HIV infection [World health organization, 2013].

The occurrence of infections with HBV or HCV in HIV-infected individuals is considered a risk factor for the development of hepatotoxicity, which is a commonly observed adverse reaction during tuberculosis treatment and the use of HAART [Tostmann et al., 2008; Sulkowski et al., 2002]. Because of the paucity of data in the literature, this study aimed to verify the occurrence of serological markers of viral hepatitis B and C virus in patients with HIV / AIDS and diagnosis of active TB.

Methods

Study design, place and population

This is a cross-sectional study involving patients of both sexes with HIV/AIDS and diagnosis of active TB, treated at the Hospital Correia Picanço, a specialized health service that cares for approximately half the patients in the state of Pernambuco with HIV/AIDS.

Study period and patient recruitment

The study included patients over 18 years of age who agreed to and signed an Informed Consent Form (ICF) before initiating treatment for tuberculosis, during the period between October 2007 and August 2012. The ICF was developed based on the ethical aspects of Resolution No. 466/12 of the National Health Council.

Patients were included in the study during the compulsory notification of tuberculosis to the Information System for Notifiable Diseases - Tuberculosis (Sinan-TB), which in Brazil is a prerequisite to initiate treatment of the disease.

For this research, two specific instruments for data collection were developed. All patients were interviewed using a structured questionnaire and information was supplemented by data collected from the medical records using a specific form. The interview was conducted by previously trained health professionals. We excluded those who did not wish to take part in the interview or to provide blood for detecting viral markers.

Study variables

The event of interest was the serological markers for hepatitis B and C. Factors potentially associated with the study event were: biological, socio-demographic and lifestyle variables: gender, age, ethnicity, body mass index - BMI [calculated by dividing weight in kilograms by height in meters squared, and categorized as malnourished (BMI

<18.5 kg / m²), eutrophic (BMI: 18.5 - 24.9 kg / m²) and overweight/obese (BMI ≥ 25.0 kg / m²)], income (categorized as <1; ≥ 1 minimum wage), with whom the patient resides (categorized as alone; with family and/or partner), alcoholism and illicit drug use.

To classify the patterns of alcohol consumption patients were asked how often and how many doses of alcohol they had consumed during the previous three months. The intake frequency of alcoholic drinks was coded into categories ranging from never (for abstainers) to every day, which matched with the number of doses, ranking the individuals: abstainer (has never drunk or drinks less than 8 doses per year); light drinker (drinks on a monthly basis or up to one to two days a week, not exceeding 10 doses); heavy drinker (drinks on a daily basis or 3-4 times a week, daily doses exceeding 5, and alcohol dependent (those undergoing treatment). For the purpose of logistic regression analysis, the variable alcohol consumption was aggregated at two levels: yes (mild drinker, heavy drinker and alcohol dependent) and no (abstainer). The use of illicit drugs was categorized as yes: individuals who reported having tried marijuana, cocaine, "crack" or glue during their lifetime or in the last year and no: individuals who have never tried any of the above.

Individuals were considered seropositive for HIV when they tested positive for HIV with ELISA, Immunofluorescence, Western blot or the HIV rapid test, as defined by the Brazilian Health Ministry. Active tuberculosis patients were considered those who initiated TB treatment through clinical suspicion or bacteriological confirmation and were reported to Sinan TB.

Serological tests for anti-HBc (antibody to hepatitis B core antigen), anti-HBs (antibody to hepatitis B surface antigen), HBsAg (hepatitis B surface antigen) and anti-HCV (antibody to hepatitis C virus) were run on ARCHITEC i 2000 (Abbott) by chemiluminescence, following the manufacturer's instructions.

The quantification of HBV-DNA was carried out with the Cobas AmpliPrep/Cobas Taqman-CAP / CTM (Roche Molecular Systems Inc., Branchburg, NJ) system, at LACEN/PE, Recife, Brazil. All samples were considered positive if the results of the survey were HBV DNA ≥ 10 IU/ml.

Statistical Analysis

Data were stored in a database created exclusively for this research. To ascertain any typing errors, data were double entered (EPI-INFO Validate 6.04), and then compared.

To check the statistical significance of differences in the frequency distribution of variables according to positivity of serological markers for HBV, we used the chi-square test and, when necessary, the Fisher exact test.

We conducted a bivariate logistic regression analysis and the magnitude of the associations was expressed as odds ratio (OR) as estimates of relative risk with a confidence interval of 95%. To adjust associations encountered regarding possible confounding factors, we performed a multivariate logistic regression analysis taking a significance level of below 20% ($p < 0.20$) as criterion for entering variables into the bivariate analysis model and a significance level of 5% ($p < 0.05$) to remain in the final model. The forward stepwise technique was used for modeling, with the ordering of input variables guided by the theoretical model and the statistical significance of the association in the bivariate analysis. For the composition of the final model, the maximum likelihood estimate was observed by comparing the models using the Wald test with the introduction of each variable. The analysis was performed using STATA 12.0 (Statistical Software for Professionals, StataCorp LP, UK).

Ethical considerations

This study is part of the project CSV 182/06 - Clinical-Epidemiological Study of Co-infection HIV/TB in Recife, approved by the Federal University of Pernambuco (CEP/CCS /UFPE 254/05) Research Ethics Committee.

Results

From amongst 173 patients with HIV/AIDS assessed before initiating treatment for tuberculosis, 166 (95.9%) were investigated for the presence of HBV and HCV serological markers. The sera of the remaining seven patients (4.0%) were mislaid and it was therefore not possible to investigate these markers.

The socio-demographic factors and characteristics of HIV and tuberculosis infections of the 166 patients with HIV/AIDS and tuberculosis were presented in Table 1. The HIV viral load greater than or equal to 100.000 copies was observed in 35.9% of patients studied, and 58.3% had levels of CD4 less than 200cells/mm³. In addition, HAART was used by 79.5% of the patients. Most patients of them (59.6%) had tuberculosis diagnosis based on clinical symptoms with chest X-ray findings of pulmonary TB and Mantoux test reagent. Pulmonary TB (63.9%) was predominant among the investigated patients and the TB treatment most commonly used (61.3%) was the three-drug regimen (rifampicin, isoniazid and pyrazinamide).

Of the 166 patients investigated, 61 [36.7%; 95% CI (29.4% to 44.6%)] presented with anti-HBc positive, suggesting previous contact with the virus. Of these, 43 [70.5%; 95% CI (57.4% to 81.5%)] also presented with positive anti-HBs indicating immunity after HBV infection. Another 14 (22.9%) of 61 patients (95% CI, 13.2% to 35.5%) presented negative anti-HBs and negative HBsAg, being thus classified as "pure" anti-HBc; and 4 (6.5%) of 61 patients (95% CI, 0.2% to 12.9%) were HBsAg positive, indicating HBV infection (Figure 1). With regard to the investigation of HCV marker, 11 patients [6.6%, 95% CI (3.4% to 11.5%)] presented with anti-HCV positive (Figure 1). Five patients [45.5%, 95% CI (16.7% to 76.6%)] presented both anti-HCV and anti-HBc. Of these five patients, four (80%) presented with positive anti-HBs and one (20%) with both anti-HBs and HBsAg negative, that is, "pure" anti-HBc associated with anti-HCV.

The investigation for HBV-DNA was positive in 14 (22.9%) of 61 patients with anti-HBc positive, 8 patients belonging to the group of 43 patients [18.6%, 95% CI (8.4% to 33.4%)] with positive anti-HBc and anti-HBs and 6 belonging to the group of 12 patients with "pure" anti-HBc [50% CI 95% (21.1% to 78.9%)]. The sera of two of the 14 patients with "pure" anti-HBc were mislaid and it was therefore not possible to study the HBV DNA.

Among the eight patients with HBV-DNA in the group with anti-HBc and anti-HBs positive, one patient presented with positive serology for anti-HCV (Figure 2). Investigation of HBV DNA was performed in 3 of 4 patients with HBsAg positive and proved negative.

Table 2 demonstrates the frequency of the biological, socio-demographic and lifestyle factors, according to the anti-HBc result. It also presents the unadjusted association between all variables and HBV. As the number of cases of HCV infection was only 11 (6.6%), it was not possible to calculate the association with risk factors.

The population was characterized as being predominantly male (68%), just over half (52%) aged less than 40 years, with a higher proportion of well-nourished (61%) and non-white patients (79%). In relation to socio-demographic conditions, 61% reported an income of lower than one minimum salary and 82% were living with their family or partner. With regard to habits, 24% reported using illicit drugs and 16% alcoholic beverages (Table 2).

In the univariate analysis, it was verified that males, those aged 40 years or over, non-white skin color, an income lower than 1 minimum salary for those who live alone demonstrated a significant association with HBV markers (Table 2).

The final multivariate logistic regression model for factors associated with HBV in patients with HIV/AIDS and active TB are presented in Table 3. The variables that

remained in the model increasing the risk of contact with HBV were: age ≥ 40 years old and being male.

Discussion

The prevalence of anti-HBc and anti-HCV serologic markers in the population studied was 36.7% and 6.6%, respectively. Factors independently associated with previous contact with HBV were: being male and aged 40 years or older.

Infection with HIV, HBV and HCV share the same routes of transmission, especially sexual and vertical for HIV and HBV, and parenteral for HIV and HCV [Alter, 2006]. The prevalence of anti-HBc in HIV-infected patients (without TB) varies in the literature of 26.2% to 38.6% [Mendes-Côrrea et al., 2000; Freitas et al., 2014; Martins et al., 2014]. It is worth noting that the prevalence rate observed in our study in patients co-infected with HIV/TB were within the limits above described and very close to that found (38.6%) by Mendes-Corrêa [2000] in patients HIV monoinfected.

The first study on the incidence of HBV infection in patients with TB and HIV in Brazil, which recorded a prevalence rate of 35.8% in 120 patients was conducted in Rio de Janeiro in 2005 [Blal et al., 2005]. After this, another study conducted in Goiás, in 2012, showed a prevalence of HBV of 36.9% among 111 patients with HIV/AIDS and TB [Aires et al., 2012]. Our results, studying 166 patients, were very similar to the two cited studies and indicate that, despite all the educational and preventive interventions developed in recent years, particularly in respect of this vulnerable population, the prevalence of serological markers of HBV contact remains high.

The risk of a patient with HIV/AIDS also infected with HBV becoming a HBV chronic carrier is 5 to 6 times greater than HIV seronegative individuals. This fact may be explained by the exacerbation of HBV replication caused by the deficient immune response resulting from co-infection with HIV [Puoti et al., 2004]. In fact, the presence of HIV co-infection significantly changes the natural history of acute HBV infection. Co-infected patients tend to evolve with lower rates of spontaneous HBeAg/anti-HBe or

HBsAg/anti-HBs seroconversion and high rates of viral replication. Furthermore, "hidden" HBV infection may sometimes develop, characterized by negative HBsAg and very low HBV-DNA levels [Raimondo et al., 2008].

In patients with HIV/AIDS, the prevalence of occult HBV infection is still poorly understood, due to the lack of standardized diagnostic methods and few prospective studies [Raimondo et al., 2008]. Recent studies have reported conflicting results on the prevalence of occult HBV infection in patients with HIV/AIDS, ranging from very low (zero) to 89% [Attia et al., 2012; Aires et al., 2012; Panigrahi et al., 2012; Santos et al., 2003]. Our results indicated samples of HBV-DNA detected in 18.6% (8/43) of patients with immunity to HBV (anti-HBc and anti-HBs positive) and in half (6/12) the patients with "pure" anti-HBc, featuring occult HBV infection in patients with HBsAg negative. The viral loads of HBV-DNA detected in all of our 14 patients presented very low serum levels, as see in Figure 2, and these data should have been affected by the use of HAART. Therefore, we have found positivity of HBV-DNA in 14 of 59 patients (23.7%), because the sera of 2 of the 14 patients with "pure" anti-HBc were mislaid, a data close to that found (31.5%) by Panigrahi et al., 2012, evaluating HIV patients with anti-HBc positive. It must be said that one of the limitations of this study may have been that HBV-DNA was not investigated in all 105 patients with anti-HBc negative, since our main goal was not to verify the occurrence of "hidden" HBV infection in patients with HIV/AIDS and TB.

The negativity of the investigation into HBV-DNA in three patients with HBV infection (HBsAg and anti-HBc positive) should also be emphasized in our results. It is assumed that all these three patients had an undetectable viral load through the use of lamivudine (3TC), one of antiretrovirals for the treatment of AIDS [Santos et al., 2003].

An age equal to or greater than 40 years was an independent risk factor for exposure to HBV in patients with HIV/AIDS and TB, which is consistent with the study

conducted by Aires and colleagues [Aires et al., 2012]. These authors state that age may be a marker of exposure time indicating that throughout life, there is a cumulative risk of HBV infection related to sexual and percutaneous exposures.

Being male also constituted an independent risk factor for HBV exposure. In a study by Aires and colleagues [2012], this variable was no longer significant after OR adjustments for other variables. In another Brazilian study [Freitas et al., 2012] in patients with co-infection with HIV/AIDS (without TB) and HBV, being male was strongly associated with previous contact with HBV, thus agreeing with our results. In fact, these results may reflect the type of risky sexual behavior, adopted by the male population aged 40 years or more. Moreover, it is noteworthy that during their childhood or youth, such older patients were not included in the HBV vaccination campaigns instituted by the Ministry of Health of Brazil.

The prevalence of HCV in this study was low (6.6%) compared to the prevalence rates of co-infection with HIV/HCV, obtained from health services in other regions of Brazil, which range between 4.1% and 54.7 % [Mendes-Corrêa et al., 2000; Carvalho et al., 2009; Brasil, 2011]. It is well established in the literature that the prevalence of HIV/HCV co-infection is highly variable and relates to the characteristics of the population, such as the use of injectable illicit drugs [Wolff et al., 2008]. Patients with HIV/AIDS who are drug users are four times more likely to become infected with HCV [Farias et al., 2012]. In our population, possibly, HIV transmission occurs mainly through sexual contact, which could explain the higher occurrence of HBV markers and the lower occurrence of HCV serological markers. In fact, another study [Carvalho et al., 2009] developed in our city revealed prevalence (4.1%) of anti-HCV in HIV monoinfected patients (without TB) similar to that of our study (6.6%).

The study findings become relevant for the appropriate care of patients with HIV/AIDS in specialized care, where the investigation of co-infection and comorbidities should be undertaken routinely. The advent of HAART, besides other benefits, provided a decrease in mortality and morbidity related to HIV infection. However, the condition of living longer with immunodeficiency has led to the emergence of diseases such as co-infection with hepatitis viruses B and C and tuberculosis [Deeks et al., 2013].

Identifying risk factors for the occurrence of HBV in patients with HIV/AIDS and TB may contribute to the better planning of educational and preventive actions in this population, as early as possible. We also emphasize the importance of anti-HBV immunization of patients with HIV/AIDS. Vaccination is one of health's most successful and cost-effective interventions, particularly against HBV, which is the most effective method for the prevention of cirrhosis and primary liver cancer [World health organization, 2014].

Financing

This work was supported by the "Brazilian Ministry of Health/DST/ AIDS Programm/ UNESCO" [Project CSV 182/06] and the "Ministry of Science and Technology CNPq / MSSCTIE-DECIT" [No. 10567 / 2006-0]. The authors were partially supported by CNPq [productivity grant 308311/2009-4 to RAAX; productivity grant 301 779/2009-0 to MFPMA and productivity grant 310 911/2009-5 for HRL].

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Aires RS, Matos MA, Lopes CL, Teles SA, Kozlowski AG, Silva AM, Filho JA, Lago BV, Mello FC, Martins RM. et al. 2012. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. *J Clin Virol* 54:327-31.
- Alter MJ. 2006. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 44: S6-9.
- Attia KA, Eholié S, Messou E, Danel C, Polneau S, Chenal H, Toni T, Mbamy M, Seyler C, Wakasugi N, N'dri-Yoman T, Anglaret X. 2012. Prevalence and virological profiles of hepatitis B infection in human immunodeficiency virus patients. *World J Hepatol* 4:218-23.
- Blal CA, Passos SR, Horn C, Georg I, Bonecini-Almeida MG, Rolla VC, De Castro L. 2005. High prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with and without HIV in Rio de Janeiro, Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24:41-3.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais. 2009. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o tratamento da hepatite Viral Crônica B e coinfeções. Brasília: Ministério da Saúde.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais. 2011. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfeções. Brasília: Ministério da Saúde.
- Cameron BA, Emerson CR, Workman C, Kelly MD, Lloyd AR, Post JJ. 2011. Alterations in immune function are associated with liver enzyme elevation in HIV and HCV co-infection after commencement of combination antiretroviral therapy. *J Clin Immunol* 31:1079-83.

- Carvalho FH, Coêlho MR, Vilella Tde A, Silva JL, Melo HR. 2009. HIV/HCV coinfection at an university hospital in Recife, Brazil. *Rev Saude Publica*. 43:133-9.
- Deeks SG, Lewin SR, Havlir DV. 2013. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet* 382:1525-33.
- Farias N, Souza I, Coelho DM, Oliveira UB, Binelli CA. 2012. Co-infection of hepatitis B or C and human immunodeficiency virus: an exploratory study in the State of São Paulo, Brazil, 2007 to 2010. *Epidemiol. Serv. Saúde* 21: 475-486.
- Freitas SZ, Soares CC, Tanaka TS, Lindenberg AS, Teles SA, Torres MS, Mello FC, Mendes-Corrêa MC, Savassi-Ribas F, Motta-Castro AR. 2014. Prevalence, risk factors and genotypes of hepatitis B infection among HIV-infected patients in the State of MS, Central Brazil. *Braz J Infect Dis* 18:473-80.
- Gupta S, Singh S. 2010. Occult hepatitis B virus infection in ART-naïve HIV-infected patients seen at a tertiary care centre in north India. *BMC Infect Dis* 10:53.
- Martins S, do Livramento A, Andrigueti M, Kretzer IF, Machado MJ, Spada C, Treitinger A. 2014. The prevalence of hepatitis B virus infection markers and socio-demographic risk factors in HIV-infected patients in Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 47:552-8.
- Masgala A, Bonovas S, Nikolopoulos GK. 2012. Recent advances in the treatment of HIV/HBV and HIV/HCV co-infection. *Mini Rev Med Chem* 12:890-904.
- Mendes-Corrêa MC, Barone AA, Cavaleiro Nd, Tengan FM, Guastini C. 2000. Prevalence of hepatitis B and C in the sera of patients with HIV infection in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop* 42:81-5.
- Operskalski EA, Kovacs A. 2011. HIV/HCV co-infection: pathogenesis, clinical complications, treatment, and new therapeutic technologies. *Curr HIV/AIDS Rep* 8:12-22.
- Panigrahi R, Majumder S, Gooptu M, Biswas A, Datta S, Chandra PK, Banerjee A, Chakrabarti S, Bandopadhyay D, De BK, Chakravarty R. 2012. Occult HBV infection

among anti-HBc positive HIV-infected patients in apex referral centre, Eastern India. *Ann Hepatol* 11:870-5.

Pernambuco. Secretaria de Saúde do Estado. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. 2014. Boletim eletrônico DST/AIDS. Programa Estadual DST/AIDS. Ano 1, nº 2, Jul.

Puoti M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta GB, Quinzan GP, Precone D, Gelatti U, Asensi V, Vaccher E. 2004. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS* 18:2285-93.

Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, Craxi A, Donato F, Ferrari C, Gaeta GB, Gerlich WH, Levrero M, Locarnini S, Michalak T, Mondelli MU, Pawlotsky JM, Pollicino T, Prati D, Puoti M, Samuel D, Shouval D, Smedile A, Squadrito G, Trépo C, Villa E, Will H, Zanetti AR, Zoulim F. 2008. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 49:652-7.

Santos EA, Yoshida CF, Rolla VC, Mendes JM, Vieira IF, Arabe J, Gomes SA. 2003. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22:92-8.

Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. 2006. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 28:112-25.

Souza MG, Passos AD, Machado AA, Figueiredo JF, Esmeraldino LE. 2004. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. *Rev Soc Bras Med Trop* 37:391-5.

Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. 2002. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. *Hepatology* 35:182-9.

Tostmann A1, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WC, van der Ven AJ, Dekhuijzen R. 2008. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol* 23:192-202.

Wolff FH, Fuchs SC, Barcellos NT, Falavigna M, Cohen M, Brandão AB, Fuchs FD. 2008. Risk factors for hepatitis C virus infection in individuals infected with the HIV. *Dig Liver Dis* 40:460-7.

World Health Organization. 2013. Global Tuberculosis Report 2013. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

World Health organization. 2014. 10 facts on immunization. <http://www.who.int/features/factfiles/immunization/en>. Accessed on October 19, 2014.

Ximenes RA, Pereira LM, Martelli CM, Merchán-Hamann E, Stein AT, Figueiredo GM, Braga MC, Montarroyos UR, Brasil LM, Turchi MD, Fonseca JC, Lima ML, Alencar LC, Costa M, Coral G, Moreira RC, Cardoso MR. 2010. Methodology of a nationwide cross-sectional survey of prevalence and epidemiological patterns of hepatitis A, B and C infection in Brazil. *Cad Saude Publica* 26:1693-704.

APÊNDICE G – Artigo 3

New haplotypes NAT2 gene signatures (SNPs C282T and G590A) are strongly associated with hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS, during tuberculosis treatment

Elsevier Editorial System(tm) for Human Immunology
Manuscript Draft

Manuscript Number: HIM-D-15-00084

Title: New haplotypes NAT2 gene signatures (SNPs C282T and G590A) are strongly associated with hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS, during tuberculosis treatment

Article Type: Research Article

Keywords: SNPs. NAT2 gene. Tuberculosis. Hepatotoxicity. HIV/AIDS.

Corresponding Author: Dr. Caroline Araújo-Mariz, PhD

Corresponding Author's Institution: Universidade Federal de Pernambuco

First Author: Caroline Araújo-Mariz, PhD

Order of Authors: Caroline Araújo-Mariz, PhD; Maria de Fátima P M Albuquerque, PhD ; Edmundo P Lopes, PhD ; Ricardo A A Ximenes, PhD ; Heloísa R Lacerda, PhD ; Demócrito B Miranda-Filho, PhD ; Brenna B Lustosa-Martins; André F Pastor; Bartolomeu Acioli-Santos

Abstract: Seven single nucleotide polymorphisms located in the coding region of the Nacetyltransferase 2 (NAT2) gene (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A) and haplotypes were investigated in 173 people living with HIV/AIDS (PLWHA), during tuberculosis (TB) treatment. All individuals were genotyped by Sanger sequencing and using the AY331807 GenBank sequence as reference. Observed SNPs/haplotypes were statistically tested for disease association and H-W equilibrium. We found that the presence of allelic variants 282T and 590A constituted isolated risk factors for hepatotoxicity phenotype development during TB treatment in PLWHA (OR=1.98 and OR=1.93, respectively. $p < 0.05$). When NAT2 haplotype effects were considered, the ancestral GC/GC genotype (from C282T and G590A loci) showed significant protective effect in both general comparison (ancestral x all variant genotypes) as well as in individual genotypes comparison (ancestral x each variant genotype), where the most prevalent risk effect was associated with the GT/GT and GT/AC genotypes. These are the strongest genetic effects related to hepatotoxicity development in PLWHA during TB treatment reported to date. These findings support the involvement of NAT2 allelic variants and haplotypes on the disease progression and alert to the need for increased research efforts into genetic polymorphisms/haplotypes as potential risk elements in TB/PLWHA patients.

Suggested Reviewers: Gui Zhongan (ZNACT@126.com)
Hospital fo Wuhon Univesity

Mara Hutz (mara.rutz@ufrgs.br)
Univesidade Federal do Rio Grande do Sul
Diane Havlir (dhavlir@php.ucsf.edu)
Univesity os California

Title: New haplotypes NAT2 gene signatures (SNPs C282T and G590A) are strongly associated with hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS, during tuberculosis treatment

Running title: NAT2 haplotypes and hepatotoxicity

Authors:

Carolline de Araújo Mariz^{1*}

e-mail: carollinedearaujo@gmail.com

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque²

e-mail: militao@cpqam.fiocruz.br

Edmundo Pessoa Lopes¹

e-mail: epalopes@uol.com.br

Ricardo A A Ximenes^{1,3}

e-mail: raaximenes@uol.com.br

Heloísa R Lacerda¹

e-mail: helramos@terra.com.br

Demócrito B Miranda-Filho³

e-mail: demofilho@gmail.com

Brena Belfort Lustosa-Martins⁴

e-mail: brebelfort@hotmail.com

André Filipe Pastor da Silva⁴

e-mail: andrefilipe.pastor@gmail.com

Bartolomeu Acioli-Santos⁴

e-mail: bartacioli@cpqam.fiocruz.br

* Corresponding author: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária; CEP.: 50.670-901, Recife – PE, Brazil. Phone: 81-2126-8527.

1. Department of Tropical Medicine. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil.

2. Department of Collective Health. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife, Brazil.

3. Faculty of Medical Sciences. Universidade de Pernambuco, Recife, Brazil.

4. Virology Laboratory. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife, Brazil.

Key Words: SNPs. NAT2 gene. Tuberculosis. Hepatotoxicity. HIV/AIDS.

Abstract

Seven single nucleotide polymorphisms located in the coding region of the N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A) and haplotypes were investigated in 173 people living with HIV/AIDS (PLWHA), during tuberculosis (TB) treatment. All individuals were genotyped by Sanger sequencing and using the AY331807 GenBank sequence as reference. Observed SNPs/haplotypes were statistically tested for disease association and H-W equilibrium. We found that the presence of allelic variants 282T and 590A constituted isolated risk factors for hepatotoxicity phenotype development during TB treatment in PLWHA (OR=1.98 and OR=1.93, respectively. $p < 0.05$). When NAT2 haplotype effects were considered, the ancestral GC/GC genotype (from C282T and G590A *loci*) showed significant protective effect in both general comparison (ancestral x all variant genotypes) as well as in individual genotypes comparison (ancestral x each variant genotype), where the most prevalent risk effect was associated with the GT/GT and GT/AC genotypes. These are the strongest genetic effects related to hepatotoxicity development in PLWHA during TB treatment reported to date. These findings support the involvement of NAT2 allelic variants and haplotypes on the disease progression and alert to the need for increased research efforts into genetic polymorphisms/haplotypes as potential risk elements in TB/PLWHA patients.

1. Introduction

Tuberculosis (TB) remains a serious public health problem both in Brazil and throughout the world, especially for HIV-positive patients. The World Health Organization (WHO) estimates that from the 8.6 million people who developed TB worldwide in 2012, 1.1 million (13%) also presented with HIV infection [1]. In 2013, the Pernambuco state in Brazil presented the highest TB incidence rate (49.3/100,000 inhab.) within the Northeast region. From these cases, 11.6% had TB-HIV coinfection, which corresponds to a percentage higher than national (9.8%) and the Northeastern region rate (8.1%) [2].

Hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS (PLWHA) during TB treatment may cause a negative synergistic effect on therapeutic regimen and this, in most cases, lead to TB treatment interruption [3]. Isoniazid is a common drug used to treat TB, as recommended by the Brazilian Health Ministry, and it is known to cause liver toxicity [4]. The N-acetyltransferase 2 enzyme (NAT2), encoded by NAT2 gene, initiates the isoniazid catabolism mechanism by its acetylation in the liver, which results in acetylisoniazid and isonicotinic acid. Curiously, the isoniazid acetylation rates oscillate greatly between individuals, and are strongly dependent of genetic background. In this way, patients are classified as either rapid or slow acetylators [5].

There are several reports describing variations in hepatic metabolism genes (that encode enzymes like cytochrome P450 2E1 (CYP2E1), glutathione S-transferase (GST and manganese superoxide dismutase (MnSOD, SOD2), leading to hepatotoxicity predisposition to several substances such as antituberculosis drugs [6]. In fact, NAT2 polymorphisms can explain the bimodal frequency distribution of patients after identical isoniazid doses administration, i.e. one group of fast acetylators and another of slow acetylators [7].

Despite of considerable evidence that NAT2 allelic frequencies differs according population ethnicity [8-11], few studies have addressed this issue in Brazilian patients, specially taking into account the country's high rates of PLWHA – with active tuberculosis co-infection – and the development of hepatotoxicity during anti-TB therapy. Thus, we have sequenced a portion of the NAT2 gene in samples from a patient Cohort of PLWHA in Pernambuco State to investigate the potential genetic polymorphisms (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A) and haplotypes associated with disease progression and hepatotoxicity development. It was found that the NAT2 variant alleles C282T and G590A and haplotypes constituted strong risk factors for hepatotoxicity phenotype developing during TB treatment of PLWHA.

2. Methods

2.1 Ethics statement

This study is part of the project CSV 182/06 - Clinical and Epidemiological Study of HIV/TB Co-Infection in Recife, which was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Pernambuco, Brazil (CEP / CCS / UFPE) under protocol number 254/05. All study participants signed an Informed Consent Form (ICF) as required by the ethical aspects of Resolution No. 466/12 of the Brazilian National Health Council.

2.2 Patients and clinical definitions

The study population consisted of PLWHA diagnosed with active tuberculosis, from both sexes and aged 18 years and over. Patients had the aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) measured before initiating TB treatment. Individuals were excluded if they were not resident in the State of Pernambuco and/or they did not test for AST and ALT 30 and/or 60 days after initiating treatment for tuberculosis. Further 80 healthy patients without HIV infection or tuberculosis, were investigated for NAT2 polymorphisms. This control population consisted of volunteer bone marrow donors registered on the bone marrow donor database (Radome), randomly selected.

Hepatotoxicity was defined as aminotransferases levels three times higher than the normal upper levels before initiating treatment in patients displaying symptoms associated with hepatitis, such as jaundice, nausea, vomiting, dyspepsia and asthenia [12]. The reference values adopted were AST-36UI/mL and ALT-32UI/mL. Participants were considered HIV seropositive if they had tested positive by ELISA and confirmed by western blot , imunoblot or rapid immunoblot rápido, as defined by the Brazilian Ministry of Health [13]. We used the Rapid-HIV1 & 2 check (NDI-Center for Infectious Diseases, Vitória, Brazil)

and the rapid test - HIV 1/2 Bio-Manguinhos (Oswaldo Cruz Foundation / Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brazil).

To TB active infection, Individuals were considered positive based on clinical suspicion or through laboratory TB confirmation (bacilloscopy, culture, PCR) and were registered in Sinan TB (Notifiable Diseases Information System - TB), a prerequisite for initiating TB treatment in Brazil.

2.3 NAT2 genotyping

NAT2 genotypes were defined by direct sequencing, comprising two *loci*. Genomic DNA isolation was performed using Mini Extraction Kit Cent Bio Pur kit (Biometrix®, Brazil) according to manufacturer's specifications. After extraction, DNA samples were stored at -20 °C until use.

PCRs were performed with two independent reactions, as follow: 36,5µl H₂O, 5µl 10x PCR buffer, 2 µl MgCl₂ 50 mM, 1µl 10mM dNTP, 2µl of each 10 mM primer, 1 ul DNA, and also 0.5 µl Taq pol (5U/microl) to 50 µl final volume. SNPs G191A (rs1801279), C282T (rs1041983) and T341C (rs1801280) were evaluated using primers 5'-CCTTACAGGGTTCTGAGACTAC-3' and 5'-GGTGCCTTGCATTTTCTGCT-3' and the following cycling parameters: initial denaturation (94°C/3 min), 35 cycles (94°C/1 min, 50°C/1 minute., and 72°C/1 min), and final extension at 72°C/5 minutes. On the other hand, SNPs C481T (rs1799929), G590A (rs1799930), A803G (rs1208) and G857A (rs1799931) were evaluated using primers 5'-CATTGTCGATGCTGGGTCTG-3' and 5'-TCATCCATAAAAATGTCAGCATTT-3' with the same cycling parameters listed above, except for the annealing temperature (55°C).

The 667bp and 665bp amplicons were first analyzed by electrophoresis (1% agarose). Direct sequencing was performed using ABI PRISM BigDye Terminator v.3.1 Sequencing Kit (PE Applied Biosystems) following by genotyping using ApE-A- plasmid-Editor v2.0.45 and AY331807 GenBank sequence as reference, according the International Committee of NAT2 Gene Nomenclature [14-15].

2.4 Statistical analysis

Data were stored in a separate database, created exclusively for this research. With the aim of verifying typos, data were double entered and validated in Epi Info 6.04, and then compared.

The univariate analysis was conducted using STATA 12.0 (Statistical Software for Professionals, Stata Corp LP, UK). Variables were described by frequency distribution, and the magnitude of the associations expressed as odds ratio (OR) estimates of relative risk, with a confidence interval of 95% and a significance level of 5% ($p < 0.05$). The Pearson chi-square test was used to verify the statistical significance of associations and test the deviation of Hardy-Weinberg equilibrium (HW) together with the Fisher's exact test whenever necessary. Estimation for the definition and frequency of haplotypes was based on the maximum likelihood method using Arlequin 3.5.

3. Results

3.1 People living with HIV/AIDS cohort

Our PLWHA cohort was predominantly male (68%), with 52% of the individuals aged under 40, with a higher proportion of healthy individuals (61%), non-white (79%) and phenotypically classified as fast acetylators (69.4%). The TB treatment regimen most commonly used was based on the administration of three drugs (61.3%) (*i.e.*, RIP - rifampicin, isoniazid, and pyrazinamide). HAART therapy was used in 78.6% of patients. More than half (58.9%) of the population presented a CD4 level of less than 200 cells/mm³ (Table 1).

3.2 NAT2 genotyping data

PLWHA patient genotypes according to G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A variant *loci* are shown in table 2. The control group (healthy subjects) was also genotyped and the observed frequencies were very similar to the PLWHA group. Allelic frequencies of both healthy control and subjects patients are in Hardy–Weinberg equilibrium. (Table 2).

In the G191A *locus*, the most frequent genotype was GG (89.6%) whereas the variant AA genotype was absent in both HIV patients and healthy control population. For the C282T *locus*, genotype frequencies CC (43.3%) and CT (46.3%) were similar between healthy and control groups. The G590A *locus* revealed a genotype frequency of 58.4% GG, GA 35.3% and 6.3% AA. Only one individual, from 173 analyzed, presented the AA variant genotype in the G857A *locus* (Table 2).

3.3 PLWHA/TB patients bearing 282T and 590A alleles and variant haplotypes are more likely to develop hepatotoxicity during TB treatment

We tested the hypothesis that PLWHA/TB individuals encoding variant NAT2 variant alleles would be more likely to develop hepatotoxicity during TB treatment. In order to perform such analysis, the PLWHA/TB group was stratified taking into account the hepatotoxicity clinical outcomes. Out of the 173 PLWHA/TB patients genotyped, 53 were diagnosed with hepatotoxicity ([Table 1](#)) and then, a correlation between SNPs and clinical outcome was made. It was found that both 282T and 590A variant alleles constitutes independent risk factors for hepatotoxicity development during TB treatment in PLWHA (OR = 1.98 and 1.93, respectively. $p < 0.05$) ([Table 3](#)).

Haplotypes analysis using relevant C282T and G590A NAT2 variant *loci* showed the presence of four haplotypes (GC, GT, AC, AT) with 9 variant genotypes (GC/GT, GC/AC, GT/GC, GT/GT, GT/AT, GT/AC, AC/AC, AC/AT and AT/AT) and one ancestor (GC/GC) in PLWHA cohort ([Table 4](#)). The haplotype genotype frequencies are shown in [Tables 4 and 5](#). The ancestral GC/GC genotype showed a significant risk effect to hepatotoxicity in both a general comparison (ancestral _ all variant genotype forms: OR = 2.3 ($p = 0.052$, CI = 1.0–5.4) ([Table 5](#)) as well in individual genotypes comparison (ancestral _ each variant genotypes), in which the most prevalent effects were observed in the GT/GT and GT/AC comparison both with OR = 4.4 ([Table 5](#)).

4. Discussion

The metabolic pathway of isoniazid has been the basis for recent studies aimed to explain the pathogenic mechanism of liver damage induced by antituberculosis drugs, and the NAT2 slow acetylator genotype/phenotype has been documented as a strong risk factor for these liver damage development [16-17]. In fact, although some studies have indicated some contradictory effects [18-19], it has been generally accepted that individuals phenotypically classified as slow acetylators accumulate more acetyl hydrazine, which competes directly with isoniazid metabolite toxics by acetylation [20].

The NAT2 gene is located on chromosome 8, region 8p22, where seven NAT2 single nucleotide polymorphisms (SNP) have been commonly identified in the gene coding region in different world populations (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A)[15].

The allele frequencies NAT2 polymorphic *loci* vary greatly between ethnic groups. The SNP 191A is common in native African populations and African Americans. However, it is virtually absent in the oriental populations. The G590A and C282T frequencies are both similar in most world populations. SNPs T341C and G857A, on the other hand, have high frequencies among Amerindians and Asians decedents. SNPs C481T and A803G are rare and their occurrences have been commonly linked to T341C [6, 11,21-23].

The Brazilian population is an extensive mix of three different ancestral roots: Amerindians, Europeans and Africans, which makes it one of the most heterogeneous populations in the world [24-25]. The first Brazilian studies describing the genotypic profile of NAT2 were conducted in the states of Rio de Janeiro and Goiás where degrees of variation in the genotypic profile of NAT2 were demonstrated [10,26]. Allelic frequencies observed in our cohort were similar to those found in the Rio de Janeiro and Goiás

populations, although it differs from those from the Pará and Bahia states [26-28]. The main difference from Pará patients was G590A variant. Here we found a 24% of allelic frequency for A, whereas in the Pará population was only 2.2% [28]. In the Bahia study, there were frequency differences in the G857A (15.5%), A803G (21.6%) and G590A (31.4%) variant *loci* [27]. These data reinforce the urgent need to increase research efforts to characterize the Brazilian NAT2 genetic background in major regions of the country. In other studies in Brazil, they were restricted to present the observed acetylation phenotypic profile and the authors have not showed either allelic or genotypic frequencies [29-31]. In our present approach, we observed similar allele/genotype frequencies in both healthy control and PLWHA population for all the studied SNPs, strengthening the representativeness of the Pernambuco cohort.

To perform risk analysis, we found that both C282T and G590A variant alleles were independent factors for higher aminotransferase levels following antituberculosis drugs treatment of PLWHA (OR=1.98 and OR=1.93, respectively). The G590A SNP is a non-synonymous polymorphism and produces a crucial change in 197 Arg-Gln (arginine-glutamine) amino acid residues. This change promotes alterations in the enzyme catalytic site with consequent decrease to acetylation capacity, which explains our findings [32]. Low metabolisers (low NAT acetyltransferase_2 enzymatic efficiency) allow longer time for drug circulation in the blood. As a result, the toxicity produced is higher [33]. In contrast, the SNP C282T is a synonymous polymorphism, i.e., its presence alone does not promote a change in the peptide composition, without apparent changes to slow/fast molecular acetylation phenotypes in patients [34]. This fact, however, diverges from the risk association between hepatotoxicity and C282T SNP in PLWHA observed in the present study.

For NAT2 genotype classification, the most common criteria used is the analysis of only four non-synonymous SNPs (G191A, T341C, G590A and G857A), which result in amino acid substitution and a consequent decrease of the acetylation capacity. Individuals with, at least two variant alleles for any of above-mentioned SNPs are phenotypically classified as slow acetylators [35]. One further classification is described in the nomenclature of consensus for the NAT2 gene [15]. According to this nomenclature, individuals with variant alleles in both C282T and G590A *loci* belong to the NAT2*6A group, and are phenotypically classified as slow acetylators [36].

Our present findings that C282T and G590A SNPs are risk factors for development hepatotoxicity in PLWHA upon tuberculosis treatment led us to perform an additional haplotype analysis. Using this approach, we observed that the ancestral CG/CG genotype (from C282T and G590A *loci*) showed a significant protective effect through both a general comparison (ancestral x all variant genotypes) as well as in individual genotypes comparison (ancestral x each variant genotype), in which the most prevalent risk effect was observed to the GT/GT and GT/AC genotypes.

Based on our results, we believe that both C282T and G590A *loci* and haplotypes may be incorporated as future genetic signatures for assessment of hepatotoxicity risk in PLWHA/TB patients. However, further studies in different populations and with larger sample sizes are required to verify the universality of our finding.

Financial support

This study received financial support from the Brazilian Health Ministry /STD/AIDS/UNESCO (CSV Project 182/06) and the Ministry of Science and Technology CNPq/MSSCTIE-DECIT (Case No 10567 / 2006-0). The authors received partial supported from CNPq (Productivity Grant 308311/2009-4 for RAAX and productivity Grant 301779/2009-0 for MFPMA and Study Grant 310911/2009-5 for HRL).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2013. World Health Organization, Geneva, Switzerland ; 2013.
- [2] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Boletim epidemiológico – O controle da tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios. Vol.45. Nº 02 - 2014. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Available at : <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/29/BE-2014-45--2--tb.pdf>> Accessed 07 september 2014.
- [3] Havlir DV, Kendall MA, Ive P, Kumwenda J, Swindells S, Qasba SS, Luetkemeyer AF, Hogg E, Rooney J F, Wu X, Hosseinipour MC, Lalloo U, Veloso VG, Some FF, Kumarasamy N, Padayatchi N, Santos BR, Reid S, Hakim J, Mohapi L, Mugenyi P, Sanchez J, Lama JR, Pape JW, Sanchez A, Asmelash A, Moko E, Sawe F, Andersen J, Sanne I, for the AIDS Clinical Trials Group Study A5221: Timing of Antiretroviral Therapy for HIV-1 Infection and Tuberculosis. *N Engl J Med* 2011; 365:1482-91.
- [4] Arbex MA, Varella MCL, Siqueira HR, et al. Antituberculosis drugs: drug interactions, adverse effects, and use in special situations - part 1: first-line drugs. *J bras pneumol* 2010; 36(5):626-640.
- [5] Tripathi KD. *Farmacologia Médica*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- [6] Huang YS. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury. *J Chin Med Assoc* 2014; 77(4):169-73.
- [7] Du H, Chen X, Fang Y, Yan O, Xu H, Li L, Li W, Huang W. Slow N-acetyltransferase 2 genotype contributes to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 3591-3596.
- [8] An HR, Wu XQ, Wang ZY, Zhang JX, Liang Y. NAT2 and CYP2E1 polymorphisms associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese patients. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012; 39(6):535-43.
- [9] Lee, S.W. et. al. NAT2 and CYP 2E1 polymorphisms and susceptibility to first-line anti-tuberculosis drug-induced hepatitis. *Int J Tuberc Lung Dis*,v.14, n.5, p.622-626, 2010.
- [10] Teixeira RLF, Morato RG, Cabello PH, Muniz LMK, Moreira ASR, Kritski AL, Mello FCQ, Suffys PN, Miranda AB, Santos AR: Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(6): 716-724.
- [11] Ben Mahmoud L, Ghazzi H, Kamoun A, Hakim A, Hachicha H, et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Tunisian patients with tuberculosis. *Pathol Biol (Paris)* 2012;60(5):324-30.

- [12] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Ministério da Saúde, 2011.
- [13] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Ministério da Saúde, 2014.
- [14] HOMO sapiens N-acetyltransferase 2 (arylamine N-acetyltransferase) (NAT2) gene. GenBank: AY331807. Available at: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY331807>>. Accessed: 2 Nov. 2011.
- [15] Human NAT2 Alleles(Haplotypes). Department of molecular biology and Genetics. Democritus University of Thrace. Available at: < <http://nat.mbg.duth.gr> >. Accessed in: 2 Nov. 2011.
- [16] Wang J Y, Liu C H, Hu F C, et al. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. J Infection 2011; 62: 448– 455.
- [17] Cai Y, Yi J, Zhou C, Shen X. Pharmacogenetic study of drug-metabolising enzyme polymorphisms on the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. PLoS One 2012; 7(10):e47769.
- [18] Mitchell JR, Thorgeirsson UP, Black M, Timbrell JA, Snodgrass WR, Potter WZ, Jollow HR, Keiser HR: Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydranize metabolites. Clin Pharmacol Ther 1975; 18(1):70-79.
- [19] Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, Degoumois F, Dayer P, Mermillod B, Nicod L, Desmeules J, Hochstrasser D: CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. Eur J Clin Pharmacol 2006; 62(6):423-429.
- [20] Singla N, Gupta D, Birbian N, Singh J: Association of NAT2, GST and CYP2E1 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. Tuberculosis 2014; 94: 293-298.
- [21] Leiro-Fernandez V, Valverde D, Vazquez-Gallardo R, Botana-Rial M, Constenla L, et al. N-acetyltransferase 2 polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Caucasians. Int J Tuberc Lung Dis 2011; 15: 1403–1408.
- [22] García-Martín E. Interethnic and intraethnic variability of NAT2 single nucleotide polymorphisms. Curr Drug Metab 2008; 9(6):487-97.
- [23] Dandara, C., Masimirembwa, C. M., Magimba, A., Kaaya, S., Sayi, J., Sommers, D. K., Snyman, J. R. & Hasler, J. A. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotypes in

Africans: the identification of a new allele with nucleotide changes 481C>T and 590G>A. *Pharmacogenetics* 2003; 13:55-58.

[24] Durso DF, Bydlowski SP, Hutz MH, Suarez-Kurtz G, Magalhães TR, Pena SD. Association of genetic variants with self-assessed color categories in Brazilians. *PLoS One* 2014 8; 9(1):e83926.

[25] Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD: Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:177-182.

[26] Teixeira RL, Miranda AB, Pacheco AG, Lopes MQ, Fonseca-Costa J, Rabahi MF, Melo HM, Kritski AL, Mello FC, Suffys PN, Santos AR: Genetic profile of the arylamine N-acetyltransferase 2 coding gene among individuals from two different regions of Brazil. *Mutat Res* 2007; 624:31-40.

[27] Talbot J, Magno LA, Santana CV, Sousa SM, Melo PR, Correa RX, Di Pietro G, Rios-Santos F. Interethnic diversity of NAT2 polymorphisms in Brazilian admixed populations. *BMC Genet.* 2010 Oct 5;11:87.

[28] Santos NP, Callegari-Jacques SM, Ribeiro Dos Santos AK, Silva CA, Vallinoto AC, Fernandes DC, de Carvalho DC, Santos SE, Hutz MH: N-acetyl transferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 2013; 17(4): 499-504.

[29] Zaverucha-do-Valle C, Monteiro SP, El-Jaick KB, Rosadas LA, Costa MJ, Quintana MS, de Castro L: The role of cigarette smoking and liver enzymes polymorphisms in anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *Tuberculosis (Edinb)* 2014; 94 (3):299-305.

[30] Costa GN, Magno LA, Santana CV, Konstantinovas C, Saito ST, Machado M, Di Pietro G, Bastos-Rodrigues L, Miranda DM, De Marco LA, Romano-Silva MA, Rios-Santos F: Genetic interaction between NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2E1, and environmental factors is associated with adverse reactions to anti-tuberculosis drugs. *Mol Diagn Ther* 2012; 16(4):241-50.

[31] Possuelo LG, Castelan JA, de Brito TC, Ribeiro AW, Cafrune PI, Picon PD, Santos AR, Teixeira RL, Gregianini TS, Hutz MH, Rossetti ML, Zaha A: Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64(7):673-81.

[32] Hein DW. N-acetyltransferase SNPs: emerging concepts serve as a paradigm for understanding complexities of personalized medicine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009 Apr; 5(4):353-66.

[33] Chalasani N, Björnsson, E. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury. *Gastroenterology* 2010, 138: 2246-2259.

- [34] Fretland AJ, Leff MA, Doll MA, Hein DW. Functional characterization of human N-acetyltransferase 2 (NAT2) single nucleotide polymorphisms. *Pharmacogenetics* 2001; 11:207-215.
- [35] Sabbagh A, Darlu P. Inferring haplotypes at the NAT2 locus: the computational approach. *BMC Genetics* 2005, 6:30.
- [36] Walraven JM, Zang Y, Trent JO, Hein DW: Structure/function evaluations of single nucleotide polymorphisms in human n-acetyltransferase 2. *Curr Drug Metab* 2008; 9:471-486.

Tables

Table 1 – Frequency distribution of the biological, clinical and laboratory variables for PLWHA and TB. Recife, Pernambuco, Brazil, 2007 – 2012

Variáveis	Hepatotoxicity				Total	
	Yes		No			
	N	%	N	%	N	%
Sex						
Male	32	27.6	84	72.4	116	67.1
Female	21	36.8	36	63.2	57	32.9
Age						
< 40 years	30	33.7	59	66.3	89	51.5
≥40 years	23	27.4	61	72.6	84	48.5
BMI						
Eutrophic	25	23.8	80	76.2	105	60.7
Malnourished	22	50.0	22	50.0	44	25.4
Overweight/ Obese	2	11.7	15	88.3	17	9.8
Skin colour						
White	14	38.9	22	61.2	36	20.8
Non-white	39	28.5	98	71.5	137	79.2
NAT2 phenotype						
Fast acetylator	30	25.0	90	75.0	120	69.4
Slow acetylator	23	43.4	30	56.6	53	30.6
TB regimen						
RIP	35	33.1	71	66.9	106	61.3
RIPE	18	27.7	47	72.3	65	37.6
Other	0	00.0	2	100.0	2	1.2
HAART						
Does not use HAART	11	29.7	19	70.3	37	21.4
Initiated before TB treatment	24	28.3	61	71.7	85	49.1
Initiated during the first two months	18	35.3	33	64.7	51	29.5
CD4						
≥ 200 cells/mm ³	12	18.7	52	81.3	64	41.1
< 200 cells/mm ³	33	35.8	59	64.2	92	58.9

Table 2 – Allelic and genotypical frequency distribution of the seven *loci* (G191A, C282T, T341C, C481T, G590A, A803G and G857A) of the NAT2 in patients with HIV/TB coinfection and healthy patients. Recife, 2007 – 2012

SNPs	Population			
	HIV/AIDS(+) and TB(+)		HIV/AIDS(-) and TB(-)	
	N	%	N	%
rs1801279 (G191A)				
GG	155	89.6	66	82.5
GA	18	10.4	14	17.5
AA	0	0.0	0	0.0
G	328	94.8	146	91.3
A	18	5.2	14	8.7
rs1041983 (C282T)				
CC	75	43.3	35	43.7
CT	80	46.3	33	41.3
TT	18	10.4	12	15.0
C	230	66.5	103	64.4
T	116	33.5	57	35.6
rs1801280 (T341C)				
TT	76	43.9	23	28.7
TC	55	31.8	44	55.0
CC	42	24.3	13	16.3
T	207	59.8	90	56.3
C	139	40.2	70	43.7
rs1799929 (C481T)				
CC	65	37.6	28	35.0
CT	78	45.1	43	53.7
TT	30	17.3	9	11.3
C	208	60.1	99	61.8
T	138	39.9	61	38.2
rs1799930 (G590A)				
GG	101	58.4	49	61.3
GA	61	35.3	24	30.0
AA	11	6.3	7	8.7
G	263	76.0	122	76.3
A	83	24.0	38	23.7
rs1208 (A803G)				
AA	66	38.1	23	28.7
AG	72	41.6	48	60.0
GG	35	20.3	9	11.3
A	204	58.9	94	58.7
G	142	41.1	66	41.3
rs1799931 (G857A)				
GG	151	87.3	73	91.3
AG	21	12.2	7	8.7
AA	1	0.5	0	0.0
G	323	93.4	153	95.6
A	23	6.6	7	4.4

Table 3 – Univariate analysis of the association between seven polymorphisms of a single nucleotide of the NAT2 gene and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, 2007 – 2012

SNPs	Hepatotoxicity				Total		OR	CI(95%)	p-value	X ²	p-value
	Yes		No		N	%					
	N	%	N	%							
rs1801279(G191A)											
GG	45	29,1	110	70,9	155	89,6	1	-			
(AG + AA)	8	44,4	10	55,6	18	10,4	1,95	(0,7 – 5,3)	0,185	1,80	0,179
rs1041983(C282T)											
CC	17	22,7	58	77,3	75	43,4	1	-			
(CT + TT)	36	36,7	62	63,3	98	56,6	1,98	(1,0 – 3,9)	0,048	3,95	0,047
rs1801280(T341C)											
TT	22	28,9	54	71,1	76	43,9	1	-			
(TC + CC)	31	31,9	66	68,1	97	56,1	1,15	(0,6 – 2,2)	0,670	0,18	0,670
rs1799929(C481T)											
CC	22	33,8	43	66,2	65	37,6	1	-			
(CT + TT)	31	28,7	77	71,3	108	62,4	0,78	(0,4 – 1,5)	0,477	0,50	0,477
rs1799930(G590A)											
GG	25	24,7	76	75,3	101	58,4	1	-			
(GA + AA)	28	38,9	44	61,1	72	41,6	1,93	(1,0 – 3,7)	0,048	3,95	0,047
rs1208 (A803G)											
AA	19	28,8	47	71,2	66	38,2	1	-			
(AG + GG)	34	31,8	73	68,2	107	61,8	1,15	(0,6 – 2,2)	0,679	0,17	0,679
rs1799931(G857A)											
GG	45	29,8	106	70,2	151	87,3	1	-			
(GA + AA)	8	36,4	14	63,6	22	12,7	1,34	(0,5 – 3,4)	0,534	0,38	0,533

Table 4 – General comparison between haplotype combinations of the NAT2 gene (rs1799930 x rs1041983) and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, 2007 - 2012

Variables	Hepatotoxicity				Total		OR	C(95%)	p-value
	Yes		No						
	N	%	N	%	N	%			
Combinations**	45	34.6	85	65.4	130	75.2	2.3	(1.0 – 5.4)	0.052
GC/GC	8	18.6	35	81.4	43	24.8			

* Statistically significant (p < 0.05)

** GC/GT, GC/AC, GT/GC, GT/GT, GT/AT, GT/AC, AC/AC, AC/AT, AT/AT

Table 5 – Individual comparison between the genotypical effect between the genotypical effect of the NAT2 gene haplotypes (rs1799930 x rs1041983) and hepatotoxicity in PLWHA and TB. Recife, 2007 a 2012

Variables	Hepatotoxicity				Total		OR	CI(95%)	p-value
	Yes		No		N	%			
	N	%	N	%					
GC/GT	7	35.0	13	65.0	20	31.7	2.4	(0.7 – 7.8)	0.206 ^a
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	68.3			
GC/AC	6	24.0	19	76.0	25	36.7	1.4	(0.4 – 4.6)	0.596
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	63.3			
GT/GC	5	17.3	24	82.7	29	40.3	0.9	(0.3 – 3.1)	0.882
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	59.7			
GT/GT	5	50.0	5	50.0	10	18.8	4.4	(1.1 – 18.8)	0.047 ^{*a}
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	81.2			
GT/AT	3	42.8	4	57.2	7	14.0	3.3	(0.6 – 17.6)	0.169 ^a
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	86.0			
GT/AC	14	50.0	14	50.0	28	39.4	4.4	(1.5 – 12.7)	0.006 [*]
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	60.6			
AC/AC	3	42.8	4	57.2	7	14.0	3.3	(0.6 – 17.6)	0.169 ^a
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	86.0			
AC/AT	2	66.6	1	33.3	3	6.5	8.7	(0.7 – 108.8)	0.115 ^a
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	93.5			
AT/AT	0	0.0	1	100.0	1	2.27	-	-	-
GC/GC	8	18.6	35	29.2	43	97.7			

* Statistically significant ($p < 0.05$)

^a Fisher's exact test

Thank you for your submission to Human Immunology

Human Immunology ehi@ashi-hla.org por eesmail.elsevier.com

Dear Dr. Araújo-Mariz,

Thank you for sending your manuscript New haplotypes NAT2 gene signatures (SNPs C282T and G590A) are strongly associated with hepatotoxicity development in people living with HIV/AIDS, during tuberculosis treatment for consideration to Human Immunology. Please accept this message as confirmation of your submission.

When should I expect to receive the Editor's decision?

For Human Immunology, the average editorial time (in weeks) from submission to first decision is: 12.47
and from submission to final decision is: 23.24.

Many thanks again for your interest in Human Immunology.

Kind regards,

Dr. Steven Mack

ANEXO A – Aprovação do comitê de ética e pesquisa do CCS/UFPE

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa**

Of. N.º 234/2005-CEP/CCS

Recife, 14 de setembro de 2005.

Registro do SISNEP FR – 067159

CAAE – 0004.1.172.106-05

Registro CEP/CCS/UFPE N.º 254/05

Título: “Estudo clínico epidemiológico da co-infecção HIV/Tuberculose em Recife.”

Senhora Pesquisadora:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco CEP/CCS/UFPE registrou e analisou, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 14 de setembro de 2005.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar um relatório ao final pesquisa.

Atenciosamente,

Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Coordenador do CEP/CCS/UFPE

José Angelo Rizzo
Vice-Coordenador do CEP/CCS/UFPE

A

Profª. Maria de Fátima P. Militão de Albuquerque

Dep. De Medicina Clínica – CCS /UFPE.

Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cid. Universitária. 50670-901. Recife - PE. Tel/fax: 81 3271 8588: cepccs@npd.ufpe.br
