

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA

**Estudo clínico-laboratorial do uso de fenobarbital como
anticonvulsivante entre pacientes do Hospital
Universitário Alcides Carneiro (HUAC)**

Palas Atenéia Dantas de Medeiros

Dissertação apresentada à Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, Área de Concentração Saúde Pública.

Orientadora: Profa. Dr^a Sayonara Maria Lia Fook

Coorientador: Prof. Dr. Saulo Rios Mariz

Campina Grande - PB

2014

**Estudo clínico-laboratorial do uso de fenobarbital como
anticonvulsivantes entre pacientes do Hospital
Universitário Alcides Carneiro (HUAC)**

Palas Atenéia Dantas de Medeiros

*Dissertação apresentada à Universidade
Estadual da Paraíba – UEPB, em
cumprimento dos requisitos necessários para
a obtenção do título de Mestre em Saúde
Pública, Área de Concentração Saúde
Pública.*

Orientadora: Profa. Dr^a Sayonara Maria Lia
Fook

Coorientador: Prof. Dr. Saulo Rios Mariz

Campina Grande - PB

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

M488e Medeiros, Palas Atenéia Dantas de.

Estudo clínico-laboratorial do uso de fenobarbital como anticonvulsivante entre pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) [manuscrito] / Palas Atenéia Dantas de Medeiros. - 2014.

84 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Sayonara Maria Lia Fook, Departamento de Farmácia".

1. Fenobarbital. 2. Anticonvulsivante. 3. Epilepsia. 4. Monitoramento de medicamentos. I. Título.

21. ed. CDD 616.853

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do candidato: Palas Atenéia Dantas de Medeiros

Título da Dissertação: Estudo clínico-laboratorial do uso de fenobarbital como anticonvulsivante entre pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC)

Orientador (a): Profa. Dra. Sayonara Maria Lia Fook

Coorientador (a): Prof. Dr. Saulo Rios Mariz

Dissertação apresentada à Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, Área de Concentração Saúde Pública.

Aprovada em: 27 de agosto de 2014.

Banca Examinadora

Sayonara Maria Lia Fook

Profa. Dra. Sayonara Maria Lia Fook
Universidade Estadual da Paraíba

Lindomar de Farias Belém

Prof. Dra. Lindomar de Farias Belém
Universidade Estadual da Paraíba

Saulo Rios Mariz

Prof. Dr. Saulo Rios Mariz
Universidade Federal de Campina Grande

*Aos meus pais Johannes e Lúcia por toda
dedicação e ensinamentos ao longo de minha vida,
ao meu irmão Johannes Júnior por todo incentivo e
ajuda em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por dá-me força e perseverança de seguir em frente e não desistir nos momentos mais difíceis.

Ao esposo Eric que esteve sempre ao meu lado apoiando-me em todos os momentos.

A família pelo incentivo.

A professora Sayonara que me acolheu no meio da jornada e foi a minha orientadora neste mestrado.

Ao professor Saulo que me acolheu em seu grupo de pesquisa e foi meu coorientador.

A Paulo Dantas por todos os ensinamentos sobre HPLC.

Aos colegas do Labdem e do Certbio pelo companheirismo em cada dia de pesquisa.

As amigas Elaine Cristina e Claudia Waleska (in memoriam) que sempre torceram por mim.

A professora Lindomar e professor Saulo pela disponibilidade em participar da pré-banca e banca de minha dissertação e pela atenção despendida em relação às correções e sugestões oportunamente referidas em nosso trabalho.

Ao grupo de estudos sobre Monitoramento Terapêutico.

Aos funcionários do Hospital Universitário Alcides Carneiro e do Laboratório de Desenvolvimento e Certificação de Biomateriais do nordeste, locais onde a pesquisa foi desenvolvida.

Aos usuários de fenobarbital que colaboraram com a pesquisa voluntariamente.

Ao Programa Proeac/Proapex - Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários /Projetos de Extensão – Universidade Estadual da Paraíba pelo apoio financeiro.

Enfim, obrigada!

RESUMO

Objetivo: Realizar um estudo clínico-laboratorial com pacientes epiléticos usuários de fenobarbital atendidos no Hospital Universitário Alcides Carneiro.

Material e métodos: Estudo descritivo, analítico, transversal caracterizando o perfil clínico e epidemiológico de 50 pacientes no período de outubro de 2011 a setembro de 2012. Os pacientes foram entrevistados usando questionário padronizado, foi usado o SPSS versão 17.0 para as análises estatísticas. Foi validado um método analítico, por cromatografia líquida de alta eficiência, para dosar os níveis de fenobarbital no sangue de alguns pacientes entrevistados. A pesquisa foi aprovada pelo CEPE-HUAC (processo nº 20110508).

Resultado: O tempo médio de uso do fenobarbital foi 7,68 anos. Dos entrevistados, 74% estão sob monoterapia e 59,5% destes estão com suas crises controladas; nos pacientes sob politerapia o índice de controle das crises é de 23,07%. Correlacionando essas variáveis obteve-se um *OR* de 4,40. A principal associação anticonvulsivante foi fenobarbital-carbamazepina. Entre os efeitos adversos destacam-se sedação e tontura, ambos com 34%. A monoterapia constituir-se como fator de proteção para a “tontura” (*OR* de 3,15). O método validado é seletivo, linear ($R^2 = 0,9981$), preciso (coeficiente de variação = 5,30%), exato (erro = -2,16%) e com boa recuperação (97,83%). O método foi aplicado para quantificar o fenobarbital de 11 pacientes. Em todos os pacientes a concentração encontrou-se abaixo da faixa terapêutica.

Conclusão: O uso da monoterapia tende a aumentar o controle das crises convulsivas e a reduzir a manifestação de tontura como efeito adverso. O método validado foi seletivo, linear, preciso, exato e adequado para aplicação nos pacientes.

Palavras-chave: fenobarbital; anticonvulsivante; epilepsia; estudos de validação; cromatografia líquida de alta eficiência; monitoramento de medicamentos.

ABSTRACT

Objective: To perform a clinical and laboratory study with epileptic patients using phenobarbital treated at “Alcides Carneiro” University Hospital (HUAC).

Material and methods: It was developed a descriptive, analytical, cross-sectional study characterizing the clinical and epidemiological profile of 50 patients from October 2011 to September 2012. The patients were interviewed using a standardized questionnaire and the software SPSS version 17.0 was used to realize the statistical analysis. Besides that, an analytical method based on High Performance Liquid Chromatography was validated to quantify the patients’s phenobarbital levels. The research was approved by CEPE-HUAC (case No 20110508).

Results: It was observed that there was a prevalence of female patients (58%). The age range was from 2 months to 69 years. The average time of phenobarbital use was 7.68 years. Of the respondents, 74% are under monotherapy and 59,5% of them have their seizures controlled; in patients on polytherapy the rate of seizure control is 23.07%. Correlating these variables it was obtained an OR of 4.40. The main anticonvulsant association was between phenobarbital and carbamazepine. Among the reported adverse effects, stand out sedation and dizziness, both with 34%. Monotherapy seems to be protective the “dizziness” (OR of 3.15). The validated method is selective, linear ($R^2 = 0.9981$), precise (CV = 5.30%), accurate (error = - 2.16%) and with good recovery (97.83%). The method was applied to quantify phenobarbital in 14 patients. In all of them the concentration was below the therapeutic range.

Conclusion: The use of monotherapy tends to increase the control of convulsions and to reduce the appearance of dizziness as adverse effect. The tested method was selective, linear, precise, accurate and suitable to be applied on patients.

Keywords: phenobarbital; anticonvulsant; epilepsy; validation studies; high performance liquid chromatography; drug monitoring.

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 TIPO DE PESQUISA E POPULAÇÃO	18
3.2 INSTRUMENTO E PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS DOS PACIENTES	18
3.3 MÉTODO DE ANÁLISE LABORATORIAL	19
3.3.1 Reagentes e amostras de referências	19
3.3.2 Preparação das amostras	20
3.3.3 Equipamentos e condições cromatográficas	20
3.3.4 Validação do método	20
3.3.4.1 Efeito matriz	21
3.3.4.2 Seletividade	21
3.3.4.3 Linearidade	22
3.3.4.4 Sensibilidade	22
3.3.4.5 Precisão	23
3.3.4.6 Exatidão	24
3.3.4.7 Recuperação	24
3.3.4.8 Robustez	25
3.4 LOCAIS ONDE SERÁ REALIZADA A PESQUISA.	25
3.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	26
3.6 ASPECTOS ÉTICOS	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
4.1 ARTIGO 1	28
4.2 ARTIGO 2	41
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
6 REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	64
APÊNDICE I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	65

APÊNDICE II – FICHA PARA COLETA DE DADOS	67
APÊNDICE III – ARTIGO 1 - ENVIADO PARA O PERIÓDICO BMC RESEACH NOTES	68
APÊNDICE IV – RESUMO PARA XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA, 2013.	81
ANEXOS	82
ANEXO A – DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA	83
ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1 AO PERIODICO BMC RESEARCH NOTES	84

LISTA DE TABELAS

		Página
Artigo 1	Perfil de usuários de fenobarbital no Hospital Universitário Alcides Carneiro.	
Tabela 1	Relação entre o tempo de uso do fenobarbital e a prevalência dos efeitos adversos nos pacientes entrevistados. Campina Grande (PB), 2011 -2012.	38
Artigo2	Desenvolvimento e validação de um método analítico para a determinação de fenobarbital em soro utilizando cromatografia líquida de alta eficiência.	
Tabela 1	Valores das áreas dos picos para Fenobarbital® na curva analítica.	50
Tabela 2	Resultados obtidos para precisão, exatidão e recuperação do método na avaliação de cinco níveis de concentração.	51
Tabela 3	Avaliação da robustez quanto aos critérios de precisão e exatidão.	51
Tabela 4	Relação entre controle de crises convulsivas com tempo de uso do fenobarbital, associação medicamentosa e dose adequada.	54
Tabela 5	Relação entre presença de efeito adverso com tempo de uso do fenobarbital, dose adequada, controle de crises e associação medicamentosa.	55

LISTA DE FIGURAS

		Página
Artigo1	Perfil de usuários de fenobarbital no Hospital Universitário Alcides Carneiro.	
Figura 1	Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto à idade. Campina Grande (PB), 2011-2012.	32
Figura 2	Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto aos fatores de riscos Campina Grande (PB), 2011 -2012. * TCE - traumatismo crânio-encefálico; LES – lúpus eritematoso sistêmico.	34
Figura 3	Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto ao relato de problemas relacionados ao uso da medicação anticonvulsivante, Campina Grande (PB), 2011 -2012.	35
Figura 4	Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto ao tempo de uso de fenobarbital Campina Grande (PB), 2011 - 2012.	36
Artigo 2	Desenvolvimento e validação de um método analítico para a determinação de fenobarbital em soro utilizando cromatografia líquida de alta eficiência.	
Figura 1	Separação cromatográfica da amostra clínica de soro contendo padrão de Fenobarbital® (concentração de 40ug/ml) e Padrão Interno de Fenitoína® (concentração de 50ug/ml). a – interferente endógeno, b – padrão de Fenobarbital®, c – padrão interno de Fenitoína®.	49
Figura 2	Curva analítica para FNB no método por cromatografia, usando fase móvel acetonitrila:água (30:70, v/v). Fase estacionaria: coluna C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92).	49
Figura 3	Cromatograma da amostra clínica de soro contendo padrão de Fenobarbital® (concentração de 40ug/ml) e Padrão Interno de Fenitoína® (concentração de 50ug/ml), usando fase móvel acetonitrila:água (25:75, v/v). Fase estacionaria: coluna C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92). a – interferente endógeno, b – padrão de Fenobarbital®, c – padrão interno de Fenitoína®.	52
Figura 4	Distribuição percentual dos pacientes, quanto à idade. Campina Grande (PB), 2011-2012.	53
Figura 5	Perfil clínico dos pacientes com epilepsia. Campina Grande (PB), 2011-2012. *FNB – fenobarbital.	53

1 INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma afecção neurológica que acomete de 0,5 a 1,0% da população mundial¹. A fisiopatologia consiste em alterações da atividade elétrica neural, que são crônicas, recorrentes e paroxísticas, cuja fase aguda (crise epiléptica) caracteriza-se principalmente por convulsões, ou seja, atividade hipersincrônica e repetitiva de grupos neurais do córtex e estruturas subcorticais. Essas convulsões não possuem regularidade temporal, se constituindo como descargas elétricas episódicas de impulsos de alta frequência por grupos de neurônios cerebrais. Tudo em decorrência de uma descarga primária que consegue se propagar para outras regiões cerebrais^{2,3}.

Na classificação dessa enfermidade existem pelo menos duas possibilidades. Inicialmente, podemos compreendê-la quanto à sua origem. A epilepsia primária é aquela em que não existe alteração anatômica no tecido, o problema é uma suscetibilidade herdada. Já a epilepsia secundária é aquela que decorre de danos cerebrais por traumas, infecções ou tumores. Convém lembrar que, em alguns casos, a causa não é reconhecível. No que se refere à natureza e distribuição da descarga, as crises convulsivas podem ser do tipo parcial (local ou focal) e generalizada. A parcial começa e, geralmente, permanece localizada em termos de região cerebral e a generalizada é aquela que se propaga por todo o cérebro. Ambas podem ser simples, quando não há bloqueio da consciência, e complexas, quando tal bloqueio é observado⁴.

Em uma fase inicial da crise convulsiva, observa-se forte contração muscular com espasmo rígido e possivelmente: grito involuntário, parada respiratória, defecação, micção, salivação, face congesta e cianótica. Esse primeiro momento possui duração aproximada de 1 minuto. Seguem-se violentos abalos síncronos por um período de 2 a 4 minutos. Observa-se ainda inconsciência por alguns minutos. Depois segue a fase de recuperação na qual são comuns o mal-estar geral e a confusão mental^{2,3,5,6}.

A epileptogênese, atualmente, ainda é pouco compreendida. Sabe-se que esta é a consequência de vários distúrbios celulares resultando em facilitação da transmissão excitatória ou redução da transmissão inibitória. Cerca de um terço das epilepsias possuem um componente hereditário, principalmente caracterizado por alterações em genes codificantes de canais de sódio e/ou de potássio voltagem dependentes ou, ainda, em

receptores gabaérgicos subtipo A (GABA_A) e em receptores nicotínicos de acetilcolina^{3,7}.

Existem várias opções farmacológicas anticonvulsivantes, desde o brometo de potássio, sintetizado em 1857 e que representou o marco zero nessa terapia, tendo hoje apenas um valor histórico, até os anticonvulsivantes mais modernos, como a lamotrigina e a vigabatrina, passando por fármacos clássicos como o fenobarbital e a fenitoína^{3,5}.

De um modo geral, os medicamentos anticonvulsivantes podem ser divididos conforme o seu mecanismo de ação. Existem os que potencializam a neurotransmissão inibitória do ácido gamaminobutírico, como por exemplo, o fenobarbital, alguns benzodiazepínicos, vigabatrina e tiagabina. Entre os que bloqueiam canais de sódio destacam-se: fenitoína, carbamazepina, valproato e lamotrigina. Os anticonvulsivantes bloqueadores de canais de cálcio são, principalmente, etossuximida e gabapentina. Ainda cabe mencionar que existem fármacos úteis clinicamente cujo mecanismo de ação ainda é incerto, como o felbamato e outros com múltiplos mecanismos, como o topiramato, que é tanto bloqueador de canal de sódio, quanto gabaérgico e bloqueador de receptores glutamatérgicos. O desafio atual para o desenvolvimento de novos fármacos anticonvulsivantes é, basicamente, obter drogas que tenham maior potência farmacológica com menor toxicidade e maior seletividade para os diferentes tipos de crise^{2, 3, 6, 8}.

Entre esses medicamentos, o fenobarbital destaca-se, não somente pelo seu lugar na história da farmacoterapia anticonvulsivante, como também pelo fato de que, ainda hoje, continua sendo muito usado para a prevenção de crises convulsivas, principalmente pelo seu baixo custo. Todavia, muitos especialistas e autores criticam tal uso pelas suas limitações terapêuticas para alguns tipos de crises e pelo alto risco de efeitos adversos graves, como sedação, anemia megaloblástica, osteomalácia e hipersensibilidade leve, além do risco de tolerância metabólica e farmacodependência. Em altas doses, são frequentes os relatos de depressão cardiorrespiratória e coma^{2-5, 8}.

O fenobarbital é muito usado em crises convulsivas focais e generalizadas em pacientes de qualquer idade, inclusive recém-nascidos. É bem absorvido pela via oral, com aproximadamente 50% de ligação à albumina. Sua meia-vida de eliminação varia de 50 a 140 horas. Por ser um forte indutor enzimático, pode gerar tolerância metabólica e interação medicamentosa com outros fármacos também biotransformados pelo Citocromo P450, como a fenitoína. O fenobarbital estimula a transmissão gabaérgica (agonista em receptores GABA_A), resultando em aumento da permeabilidade celular ao cloro e diminuição da resposta de canais de cálcio voltagem-dependentes. Possui, ainda, ação inibitória sobre os efeitos

despolarizantes do glutamato, principalmente em receptores AMPA^{2-6, 8, 9}.

O fenobarbital é um fármaco de uso prolongado e com sérios riscos à saúde do paciente. Por outro lado, possui vantagens farmacoterápicas, como eficácia em determinados tipos de crises convulsivas, baixo custo e comodidade posológica. Assim, ressalta-se a importância do desenvolvimento de um programa de monitorização terapêutica que não se resume em dosar a quantidade da droga no organismo do paciente, mas relacione tais níveis com a clínica do paciente e com peculiaridades fisiológicas ou fisiopatológicas do paciente, a fim de orientar eventuais reajustes posológicos que sejam capazes de prevenir, tanto efeitos subterapêuticos, quanto quadros de intoxicação medicamentosa.

Entre as várias técnicas analíticas para dosagem do fenobarbital em amostras biológicas, como o sangue, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) mais conhecida pela sigla em inglês, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)⁹. Essa é uma técnica físico-química que permite a separação e identificação de substâncias em uma amostra. O processo de separação em cromatografia ocorre devido à partição dos componentes da amostra entre duas fases imiscíveis entre si, sendo uma fase móvel e uma estacionária. No caso do HPLC, a fase móvel é composta por um líquido bombeado através de uma coluna empacotada com pequenas partículas de resinas orgânicas ou de substâncias porosas inorgânicas¹⁰. Com o emprego dessa técnica, é possível detectar quantidades na ordem de pictogramas a nanogramas, de microgramas a miligramas, dependendo do objetivo da análise¹¹.

Esta técnica é empregada em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência e até em órgãos governamentais¹². Para os laboratórios poderem usar o HPLC para fazer quantificações de moléculas é preciso que o método esteja validado. A validação de um método é um processo de avaliação contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento; a mesma garante a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade e está sendo cada vez mais reconhecida e exigida¹³.

Os parâmetros de validação foram definidos por representantes da comunidade científica, das indústrias e agências reguladoras, e posteriormente foram uniformizados pela ICH (*International Conference on Harmonization*). Há algumas diferenças entre as diretrizes, mas geralmente devem ser incluídos os testes de: seletividade, curva de calibração (linearidade), precisão, exatidão, limite de quantificação, limite de detecção, eficiência de

extração (recuperação), integridade da diluição, estabilidade e robustez¹⁴.

Com a técnica validada, podem-se fazer dosagens séricas de fármacos, e permitir a equipe de saúde o monitoramento terapêutico do paciente. Tal procedimento tem se constituído, nos últimos anos, como um importante instrumento para a racionalização do uso de medicamentos e a otimização de resultados farmacoterápicos, principalmente em casos de pacientes portadores de enfermidades crônicas e que precisam usar um determinado medicamento por tempo prolongado ou indeterminado.

O monitoramento não se resume a quantificação laboratorial de fármacos em um dado paciente que o usa, mas, consiste em associar tal dosagem aos sinais e sintomas observados a fim de correlacionar os teores corporais da substância bioativa com os efeitos (terapêuticos ou tóxicos) que estejam sendo observados no usuário, ao longo da farmacoterapia. Este método permite que o prescritor reajuste o esquema posológico, sem que, para tanto, seja necessário o sofrimento clínico do paciente, ou seja, sem o agravamento da doença (situação decorrente da falta ou diminuição do fármaco no organismo), ou ainda, em sentido oposto, a observação de um quadro clínico de intoxicação medicamentosa, causado pelo excesso da droga no paciente^{15, 16}. Assim, o monitoramento pode ser usado para controlar a adesão ao tratamento, potenciais interações medicamentosas, efeitos adversos, bem como determinar a melhor concentração individual do fármaco¹⁷.

As ações de controle terapêutico ou monitorização clínico-laboratorial de fármacos são importantes, especialmente quando se referem aos fármacos, como o objeto dessa pesquisa (fenobarbital), que possuem uma faixa terapêutica relativamente estreita (15 a 40 µgmL⁻¹), ou seja, a concentração sanguínea mínima eficaz (abaixo da qual o fármaco não produz mais efeito terapêutico) é relativamente próxima à concentração plasmática tóxica, na qual o risco de intoxicação pelo medicamento usado é iminente^{2, 9, 15}, e há, ainda, a possibilidade de se precipitar uma crise de *status epilepticus*, caso ocorra à interrupção brusca na administração do medicamento^{18,19}.

Entre os principais métodos analíticos usados para a monitorização terapêutica do fenobarbital, e cujos estudos de validação analítica já foram publicados na literatura especializada, estão aqueles que utilizam a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC)^{9,20}. Apesar de já haver um método validado para tal finalidade, sabe-se que, quando da aplicação de uma metodologia analítica em uma realidade laboratorial específica, estudos metodológicos devem ser conduzidos, mediante a avaliação dos parâmetros de confiança do procedimento empregado, a fim de que se conheçam quais as condições ideais

de execução do método a ser utilizado²⁰⁻²³. Mesmo com o método já publicado quando ocorrem mudanças na síntese da substância ativa, na composição do produto acabado ou no procedimento analítico é considerado que há uma nova validação^{13,24}.

Desta maneira, a validação de um procedimento analítico no Laboratório de Desenvolvimento e Certificação de Biomateriais do Nordeste (Certbio), Unidade Laboratório de Ensaios Cromatográficos (LEC), Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) usando o método de Patil e Bodhankar²⁰ (2005) para avaliação dos níveis de fenobarbital em sangue de pacientes epiléticos usuários de fenobarbital, será realizado utilizando os parâmetros de qualidade de um método analítico^{21-23,25}.

Após a validação, o método será empregado para determinação do fenobarbital em sangue de pacientes, do HUAC, sob tratamento preventivo de convulsões, o que nos permitirá estabelecer correções clínico-laboratoriais específicas para cada paciente, individualizando a farmacoterapia pelo monitoramento e sugestões de reajustes posológicos ao médico prescritor que eventualmente se façam necessários. Desse modo, será dada uma colaboração na farmacoterapia anticonvulsivante, através da promoção do uso racional do fenobarbital colaborando com a prevenção de intoxicações ou efeito subterapêutico e, desse modo, contribuir para a melhoria da saúde e qualidade de vida da nossa população.

Nesta pesquisa será validado um método por HPLC para dosar o fenobarbital nos pacientes para um posterior monitoramento terapêutico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo clínico-laboratorial com pacientes epiléticos, atendidos pelo setor de neurologia do HUAC, usuários prolongados de fenobarbital para a prevenção de crises convulsivas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Traçar um perfil epidemiológico dos pacientes do HUAC sob tratamento prolongado com fenobarbital, no que se refere a características clínicas e sociais.
- Validar um procedimento analítico por HPLC, para a dosagem de fenobarbital em sangue, utilizando os parâmetros: efeito matriz, seletividade, linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão, robustez.
- Analisar a correlação entre níveis sanguíneos de fenobarbital, a incidência de crises convulsivas e os efeitos colaterais ou tóxicos desses medicamentos em seus usuários.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE PESQUISA E POPULAÇÃO

Trata-se de estudo observacional, sendo a primeira etapa descritiva no qual foram relacionadas às características dos indivíduos e a segunda analítica, quando foi estabelecida correlação entre os níveis sanguíneos de fenobarbital com a incidência de crises convulsivas e reações adversas ou efeitos tóxicos desses medicamentos nos usuários.

Foram estudados pacientes epiléticos e usuários crônicos de fenobarbital, como anticonvulsivante, atendidos no setor de neurologia do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Foram considerados critérios de inclusão: estar diagnosticado como portador de epilepsia; fazer uso de fenobarbital a mais de um mês e concordar em participar da pesquisa mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE - APÊNDICE I). Os critérios de exclusão foram: ter idade menor de 18 anos sem autorização do responsável; não adesão ao tratamento; mulheres durante a gestação; não fazer uso de fenobarbital a mais de um mês.

3.2 INSTRUMENTO E PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS DOS PACIENTES

O instrumento para coleta de dados sociais e clínicos consistiu em uma ficha elaborada pelos pesquisadores (APÊNDICE II). Esse recurso foi útil para correlacionar os dados laboratoriais e clínicos.

Foram estudadas as seguintes variáveis:

- a) Sócio-demográficas: gênero; idade: < de 10; 10-19; 20-29; 30-39; 40-49; 50-59;

60-69; 70-79; 80 e +; escolaridade.

- b) Relacionadas às características antropométricas do paciente: peso.
- c) Relacionadas às características clínicas do paciente: patologias associadas, medicamentos de que faz uso crônico (fármaco e posologia), medicamentos dos quais fez uso no dia da coleta de sangue (fármaco e posologia), hábitos (etilismo, tabagismo, atividade física), e informações sobre quando apresentou a última convulsão.
- d) Relacionadas ao uso do fenobarbital: apresentação, posologia, tempo de uso.

Com a coleta destes dados e a quantificação de fenobarbital presente no sangue dos pacientes através da técnica de HPLC correlacionamos os níveis sanguíneos de fenobarbital à incidência de crises convulsivas e/ou efeitos adversos/tóxicos.

Esses dados foram coletados no período de novembro de 2011 a setembro de 2012.

3.3 MÉTODO DE ANÁLISE LABORATORIAL

O procedimento analítico da pesquisa, descrito a seguir, se baseia na técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC), conforme o método publicado por Patil e Bodhankar (2005)²⁰.

3.3.1 Reagentes e amostras de referência

O fenobarbital foi adquirido do laboratório Cristália (Brasil). A fenitoína (padrão interno) foi doada pelo Laboratório Teuto (Brasil). O Ácido Tricloroacético (TCA) foi adquirido da Merck (Germany). Acetonitrila, grau HPLC, foi adquirida da Merck (Damstadt/Germany).

3.3.2 Preparação das amostras

Foram coletados 5 mL de sangue de cada paciente. Para obtenção do soro, as amostras de sangue foram centrifugadas por 15 minutos em 3000 RPM. Foram transferidos 200µL de soro para tubos de polipropileno e adicionados 200 µL da solução de padrão-interno de fenitoína (1mg/mL) e 50µL de TCA 15%. Essa solução foi homogeneizada no vortex por 30 segundos e posteriormente centrifugada a 4400rpm durante 30 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e recentrifugado nas mesmas condições por cinco minutos. Esse sobrenadante foi diluído na fase móvel, filtrado e injetado 10µL no HPLC.

3.3.3 Equipamentos e condições cromatográficas

Agitador tipo Vortex, da marca AAKER, e modelo QL-901; Centrífuga BioEng, Modelo BE6000; Centrífuga Eppendorf, modelo centrifuge 5702 R.

Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, SHIMADZU PROMINENCE UFLC XR (Ultra Fast Liquid Chromatography). Equipado com bomba de fluxo de solventes, injetor automático, detector UV visível e com um programa de computação para integralização dos dados. A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92).

A fase móvel para a corrida cromatográfica foi constituída de acetonitrila:água (30:70, v/v). Utilizada em um fluxo de 0,2 ml/min. Temperatura da coluna 30°C. O comprimento de onda para leitura foi de 210nm.

3.3.4 Validação do método

Os parâmetros de confiança do procedimento analítico avaliados foram: seletividade, linearidade, sensibilidade (limite de detecção, limite de quantificação) precisão, exatidão, recuperação e robustez. Todo o procedimento foi feito de acordo com a RDC nº 27 de 17 de

maio de 2012 que dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos²⁵.

3.3.4.1 Efeito matriz

Quando se trata de validação com amostras biológicas é necessário calcular o efeito matriz (EF), o mesmo ocorre quando substâncias inerentes à matriz biológica coeluem com os compostos de interesse¹⁴. Foram preparadas seis amostras com concentração de 40µg/mL de Fenobarbital®, para o calculo foi usada a seguinte equação:

$$EF = \frac{\text{valor experimental}}{\text{valor nominal}}$$

Valor experimental – área do pico do fenobarbital encontrado na amostra submetida ao processo de extração. Valor nominal – área do pico do fenobarbital encontrado quando diluído na fase móvel.

3.3.4.2 Seletividade

A farmacopeia americana define a seletividade de um método analítico como sua habilidade em medir, de forma exata, um analito na presença de interferências, as quais se espera que estejam presentes na matriz da amostra²⁶. Para avaliar a seletividade foram injetadas seis amostras do branco, isto é, soro sem a adição de fenobarbital, sendo um destes soro lipêmico e outro hemolisado. Na corrida cromatográfica do branco não deverão ser registrados picos próximos ao tempo de retenção do analito de interesse para que o método seja considerado seletivo²⁵.

3.3.4.3 Linearidade

Para a curva analítica foi utilizada a solução-estoque de fenobarbital (1,0mg/mL) em metanol. A partir dessa solução foram preparadas as amostras usadas como pontos na obtenção da curva analítica. Tais amostras tinham as concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 e 80,0 µg/mL, e foram preparadas mediante dissolução da solução-estoque de fenobarbital em soro de voluntários não usuários de fenobarbital ou de qualquer outro medicamento.

Para aprovação da curva foram considerados seguintes critérios:

I - desvio menor ou igual a 20% (vinte por cento) em relação à concentração nominal para os padrões do Limite inferior de quantificação;

II - desvio menor ou igual a 15% (quinze por cento) em relação à concentração nominal para os outros padrões de calibração.

III - no mínimo 75% (setenta e cinco por cento) dos padrões de calibração aprovados conforme os critérios anteriores;

IV - no mínimo 6 (seis) padrões de calibração de concentrações diferentes, incluindo o limite inferior de quantificação e o limite superior de quantificação, aprovados conforme os critérios anteriores^{25,27}.

3.3.4.4 Sensibilidade

A Sensibilidade do método foi determinada pelo limite de detecção e limite de quantificação, sendo o Limite de Detecção a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. Enquanto o Limite de Quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas²⁸. Os limites de detecção e de quantificação foram estabelecidos por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do padrão Fenobarbital®. Os valores foram estabelecidos com base no desvio padrão Fenobarbital® da resposta e da inclinação da curva de calibração dos analitos²⁷.

3.3.4.5 Precisão

A precisão de um método bioanalítico é a medida dos erros aleatórios e representa a proximidade dos resultados obtidos a partir de medidas independentes de amostragens múltiplas de uma amostra homogênea¹⁴.

Para determinar a precisão do método foram seguidos os critérios da RDC nº 27 de 17 de maio de 2012. Tendo sido preparadas amostras de cinco concentrações diferentes, cada uma em quintuplicata, sendo:

LIQ - limite inferior de quantificação: menor concentração do analito na curva de calibração preparada na matriz; preparada na concentração de 2,5µg/mL.

CQB - amostra de controle de qualidade de baixa concentração: amostra de matriz adicionada do analito em concentração até 3 (três) vezes LIQ; amostra na concentração de 7,5µg/mL.

CQM - amostra de controle de qualidade de média concentração: amostra de matriz adicionada do analito em concentração próxima à média entre os limites inferior e superior de quantificação; concentração de 40,0µg/mL.

CQA - amostra de controle de qualidade de alta concentração: amostra de matriz adicionada do analito em concentração entre 75 e 85% da maior concentração da curva de calibração; concentração de 64,0µg/mL.

CQD - amostra de controle de qualidade de diluição: amostra de matriz adicionada do analito em concentração acima da maior concentração da curva de calibração, analisada por meio de procedimento e proporção de diluição pré-definidos e especificados pelo laboratório bioanalítico; amostra preparada na concentração de 100µg/mL.

O resultado da precisão foi expresso pelo cálculo do coeficiente de variação percentual (cv%) entre os resultados em quintuplicata de cada concentração das amostras adicionadas em uma mesma corrida analítica (precisão intracorrída) e em 3 (três) corridas diferentes (precisão intercorridas) variando-se o dia^{20,24,29,30}. Os valores do coeficiente de variação (CV%), não devem ser superiores a 15% (quinze por cento), exceto para o LIQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20% (vinte por cento). Foi usada a equação:

$$CV = \frac{\text{Desvio Padrão} \times 100}{\text{Concentração média experimental}}$$

3.3.4.6 Exatidão

A exatidão representa a concordância entre os resultados obtidos pelo método e os valores nominais, aceitos como referência¹⁴.

A exatidão foi calculada pelo percentual de inexatidão dos resultados das análises em amostras adicionadas. A exatidão foi determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intracorrída) e em, no mínimo, 3 (três) corridas diferentes (exatidão intercorridas) caracterizada pela variação do dia da análise.

Foram preparadas amostras de cinco concentrações diferentes, cada uma em quintuplicata, sendo: LIQ - limite inferior de quantificação: concentração de 2,5µg/mL; CQB - concentração de 7,5µg/mL; CQM - concentração de 40,0µg/mL; CQA - concentração de 64,0µg/mL; CQD - concentração de 100µg/mL.

A exatidão foi expressa pelo Erro Padrão Relativo (EPR) utilizando a equação:

$$\text{EPR} = \frac{(\text{valor experimental} - \text{valor nominal}) \times 100}{\text{Valor nominal}}$$

Sendo: valor experimental: área do pico do padrão encontrado nas amostras fortificadas. Valor nominal: área do pico do padrão diluído na fase móvel.

Para ser exato o método não admite valores fora da faixa de $\pm 15\%$ (quinze por cento) do valor nominal, exceto para o LIQ, para o qual não se admitem valores fora da faixa de $\pm 20\%$ (vinte por cento) do valor nominal²⁵.

3.3.4.7 Recuperação

A recuperação avalia a eficiência do método de tratamento das amostras biológicas. Este parâmetro é calculado comparando-se a resposta obtida para o analito adicionado na matriz biológica e extraído com a resposta obtida para o analito em amostras preparadas em solvente e, conseqüentemente, não extraídas, as quais representam 100%¹⁴.

A recuperação mede a eficiência do procedimento de extração de um método analítico dentro de um limite de variação²⁸. Foi avaliada a recuperação do padrão, sendo utilizadas as amostras nas concentrações 2,5; 7,5; 40,0; 64,0 e 100µg/mL. Também foi realizada a recuperação do padrão interno.

Para o cálculo foi utilizada a equação:

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{valor experimental} \times 100}{\text{Valor nominal}}$$

São desejáveis porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100%, porém, admite-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata. Aceita-se uma variação de até 15% do valor de recuperação determinado para os analitos de interesse¹⁴.

3.3.4.8 Robustez

A robustez do método analítico foi avaliada através da análise do teor do padrão Fenobarbital em diferentes condições cromatográficas, foram produzidas alterações na proporção da fase móvel acetonitrila:água (25:75 vv e 35:75 vv), temperatura (27°C e 33°C) e comprimento de onda (205nm e 215nm). Cada parâmetro foi alterado individualmente enquanto os outros foram mantidos constantes. Estas variações foram avaliadas quanto aos critérios de seletividade, exatidão e precisão¹³.

3.4 LOCAIS ONDE FOI REALIZADA A PESQUISA.

Dados epidemiológicos: Unidade Pública de Saúde em Campina Grande: Serviço de Neurologia do Hospital Universitário Alcides Carneiro, Universidade Federal de Campina Grande.

Dados laboratoriais: Laboratório de Desenvolvimento e Certificação de Biomaterias do Nordeste (Certbio), Unidade Laboratório de Ensaio Cromatográficos (LEC), Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

3.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As análises estatísticas para o perfil epidemiológico dos pacientes que usam fenobarbital é descritiva e os resultados foram analisados usando o *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 17.0, para cruzamento de variáveis *Odds Ratio*.

As análises estatísticas para avaliação da variabilidade entre replicatas, tanto de amostras de pacientes (triplicatas), quanto das amostras adicionadas (quintuplicatas) foram feitas pelo método da análise da variância com medidas repetidas (ANOVA).

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

Para a verificação e adequação da pesquisa aos aspectos éticos preconizados pela legislação brasileira, o presente projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética do HUAC, tendo sido aprovado sob número de processo 20110508-028 (ANEXO A). Foram respeitados os critérios estabelecidos pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 (CNS).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados estão apresentados no formato de dois artigos científicos, sendo ambos originais. O artigo 1, intitulado *Perfil de usuários de fenobarbital no Hospital Universitário Alcides Carneiro* foi submetido na versão em inglês (APÊNDICE III) a apreciação do periódico BMC Research Notes, qualis CAPES B1 para Saúde Coletiva (ANEXO B). O resumo deste artigo foi publicado nos anais do XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia (2013) na forma de painel (APÊNDICE IV).

O artigo 2, *Desenvolvimento e validação de um método analítico para a determinação de fenobarbital em soro utilizando cromatografia líquida de alta eficiência também* será submetido à apreciação do periódico Cadernos de Saúde Pública, qualis CAPES A2 para Saúde Coletiva.

4. 1 ARTIGO 1

PROFILE OF USERS OF PHENOBARBITAL IN THE UNIVERSITY HOSPITAL**ALCIDES CARNEIRO****PERFIL DE USUÁRIOS DE FENOBARBITAL NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO****ALCIDES CARNEIRO**

Lídia Magda Rêgo Lima¹
Palas Atenéia Dantas de Medeiros²
Nícia Stellita da Cruz Soares³
Gérson Bragagnoli⁴
Saulo Rios Mariz⁴
Sayonara Maria Lia Fook³

1. *Concluinte do curso de Farmácia. Departamento de Farmácia. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.*
2. *Programa de Pós-graduação em Saúde Pública. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.*
3. *Departamento de Farmácia. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.*
4. *Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, Brasil.*

Instituição onde foi realizado o estudo: Hospital Universitário Alcides Carneiro. Campina grande, PB, Brasil.

Financiamento: Proeac/Proapex (Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários /Projetos de Extensão contemplados com Bolsa de Extensão), Universidade Estadual da Paraíba. Edital 03/2011, 2011-2013.

Endereço para correspondência²: Rua Wilson G. de Oliveira, 19 C, Itararé. Campina Grande – PB – Brasil. CEP: 584111-116.

Endereço eletrônico²: palas.medeiros@ig.com.br

Agradecimentos

Ao Proeac/Proapex (UEPB) pelo financiamento desta pesquisa e aos pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (UFCEG).

Resumo

Este trabalho caracteriza o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes atendidos no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC), que usam fenobarbital como anticonvulsivante, a fim de subsidiar ações de monitorização terapêutica. Entrevistou-se 50 pacientes, de 2011 a 2012, mediante um questionário padronizado. Observou-se que, 74% dos entrevistados estão sob monoterapia e 59,5% destes possuem suas crises controladas. Nos pacientes sob politerapia (26%) o índice de controle das crises é de 23,07%. É possível afirmar que pacientes sob monoterapia têm mais chance de sucesso no controle das crises convulsivas (*Odds Ratio* = 4,400). A principal associação anticonvulsivante observada foi do fenobarbital com a carbamazepina (66%). Entre os efeitos adversos relatados destacam-se a sedação e a tontura (34% dos pacientes). A monoterapia parece se constituir como fator de proteção apenas para o efeito adverso tontura (*OR* de 3,1). Esses resultados poderão ser úteis na promoção do uso racional de anticonvulsivantes no HUAC.

Palavras-chave: Fenobarbital. Anticonvulsivante. Epilepsia. Monitoramento de Medicamentos.

Abstract

Introduction: This study characterized the profile of patients treated at the “Alcides Carneiro” University Hospital (HUAC), users of phenobarbital in order to support actions of therapeutic drug monitoring. **Methods:** Fifty patients were interviewed using a standardized questionnaire. **Results:** It was observed that 50% of patients have been using the drug for a long time (7.68 years on average). About 74% of respondents are under monotherapy and 59.5% of these have their seizures controlled. The patients under monotherapy have more chance of success in controlling seizures. The main anticonvulsant drug combination observed was phenobarbital with carbamazepine (66% of patients). Sedation and dizziness are among the main adverse effects, reported by 34% of patients. Monotherapy seems to be a protective factor only for adverse effect dizziness (*OR*=3.1). **Conclusions:** The analysis of these and other results presented in this paper may be useful in promoting rational use of anticonvulsants at the HUAC

Key-word: Phenobarbital. Anticonvulsants. Epilepsy. Drug Monitoring.

Introdução

A epilepsia é uma doença neurológica crônica, podendo ser progressiva em relação a distúrbios cognitivos, frequência e gravidade dos eventos críticos. Sua incidência varia de acordo com idade, gênero, etnia, tipo de síndrome epiléptica e condições socioeconômicas. Estima-se que a epilepsia afeta entre 5 e 10 em cada 1000 pessoas e está associada à comorbidades e mortalidade prematura¹. Cerca de 30% dos pacientes são refratários à farmacoterapia^{2,3}.

O tratamento medicamentoso é considerado o principal recurso terapêutico para a maioria dos casos dessa enfermidade e o objetivo deste é a prevenção de convulsões, sem causar efeitos indesejados⁴. Três critérios são importantes para a decisão de iniciar um tratamento anticonvulsivante: risco de recorrência de crises, consequências da continuação de crises para o paciente e a relação entre eficácia / efeitos adversos do fármaco escolhido para o tratamento^{2,5}.

Em todo o mundo, o fenobarbital é utilizado como droga antiepiléptica (DAE), principalmente em países em desenvolvimento, pelo baixo custo. Entretanto, já não é considerado como agente de primeira linha, devido a preocupações sobre os efeitos adversos⁶.

No Brasil, recentemente o Ministério da Saúde lançou um guia com recomendações oficiais para a farmacoterapia anticonvulsivante. Neste protocolo, o fenobarbital deixa, na maioria dos casos, de ser a droga de eleição, no entanto permanece indicado para o tratamento de crises focais ou generalizadas de pacientes de qualquer idade, inclusive recém-nascidos. Além disso, o guia indica que essa droga deve ser usada com dose inicial de 50 mg/dia, sendo acrescidos 50 mg/dia a cada semana até atingir-se o controle da crise, respeitando o limite de 300 mg/dia. Em caso de falha do primeiro fármaco, deve-se tentar sempre fazer a substituição gradual por outro, de primeira escolha, mantendo a monoterapia. Persistindo a dificuldade de controle das crises pode-se tentar a combinação de dois fármacos anticonvulsivantes^{2,7}.

O fenobarbital continua sendo muito usado como anticonvulsivante, principalmente na rede pública de assistência em saúde, não somente pela sua eficácia em controlar alguns tipos de crises convulsivas como também, e em especial, pelo seu baixo custo. Entretanto, devido a sua variabilidade farmacocinética associada à estreita janela terapêutica que o fenobarbital apresenta (15 a 40 µg mL⁻¹), existem riscos significativos de efeitos adversos quando do uso prolongado dessa droga fazendo com que a sua monitorização terapêutica seja recomendada⁸.

O conhecimento do perfil socioeconômico e clínico dos pacientes com epilepsia sob

farmacoterapia anticonvulsivante se constitui como uma etapa inicial importante para subsidiar futuras ações de monitorização clínico-laboratorial de anticonvulsivantes. Nesse contexto, o presente estudo buscou conhecer o perfil socioeconômico e clínico de pacientes epiléticos usuários do fenobarbital como anticonvulsivante, no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC).

Material e Métodos

Esta pesquisa se caracteriza como descritiva, analítica, transversal e documental. Analisaram-se os usuários do serviço de neurologia do HUAC, com diagnóstico de epilepsia e que, no momento da coleta de dados, usavam fenobarbital por mais de um mês. Foram excluídas mulheres sabidamente grávidas e pacientes que suspenderam o uso da droga em questão.

A coleta de dados ocorreu de outubro de 2011 a Setembro de 2012, através de um estudo retrospectivo das fichas de atendimento. Em seguida, agendamos entrevistas com os pacientes que atendiam aos critérios de inclusão da pesquisa. Foram utilizados questionários padronizados, validados mediante estudo piloto. As variáveis da pesquisa foram tanto socioeconômicas quanto clínicas.

As análises estatísticas foram realizadas usando-se o *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 17.0. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEPE-HUAC (processo nº 20110508).

Resultados e Discussão

Foram entrevistados 50 pacientes, sendo que apenas 27 (54%) desses eram residentes em Campina Grande. Entretanto, a grande maioria (90%) era proveniente da mesorregião do agreste paraibano, tendo-se ainda pacientes oriundos de municípios da Borborema (8%) e do Sertão (2%) da Paraíba. Tal constatação reflete o impacto regional do serviço prestado pelo HUAC. Assim pode-se estimar a relevância da implantação de um serviço de monitorização terapêutica de anticonvulsivantes no HUAC enquanto estratégia de otimização farmacoterápica.

Quanto ao gênero, observou-se um discreto predomínio do feminino (58%). Tal fato, apesar de pouco relevante, considerando-se que não há registro de uma prevalência

significativamente maior de epilepsia entre mulheres, também é descrito por outro estudo que ao avaliar 782 pacientes encontrou 55% de mulheres⁹. Em outra pesquisa também predominou o gênero feminino (56,9%)⁸. Esse maior percentual de mulheres com epilepsia pode estar relacionado com a população estudada, uma vez que, segundo o Censo 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística¹⁰, o município de Campina Grande possui 52,70% de pessoas do gênero feminino.

A idade dos pacientes entrevistados no estudo (figura 1) apresentou discreto predomínio de crianças até 10 anos, com um relativo equilíbrio nas demais faixas-etárias. Tal perfil etário é ratificado pelo fato de se saber que, embora crises convulsivas possam ocorrer em qualquer idade, elas ocorrem principalmente, no início da vida. Estudos afirmam que até os 20 anos de idade, 78% a 90% dos indivíduos que serão epiléticos já iniciaram suas crises e que, dentre as crianças, 60% tiveram sua primeira crise até os três anos de idade, ocorrendo a maior parte no primeiro ano de vida^{9, 11}. Sendo assim, ao constatar-se que a maioria dos pacientes foram crianças ou jovens, ressaltando-se a importância do serviço proposto pelo fato de se dirigir a pessoas que ainda irão conviver por muito tempo com a doença ou que estão na fase mais produtiva de suas vidas, inclusive economicamente.

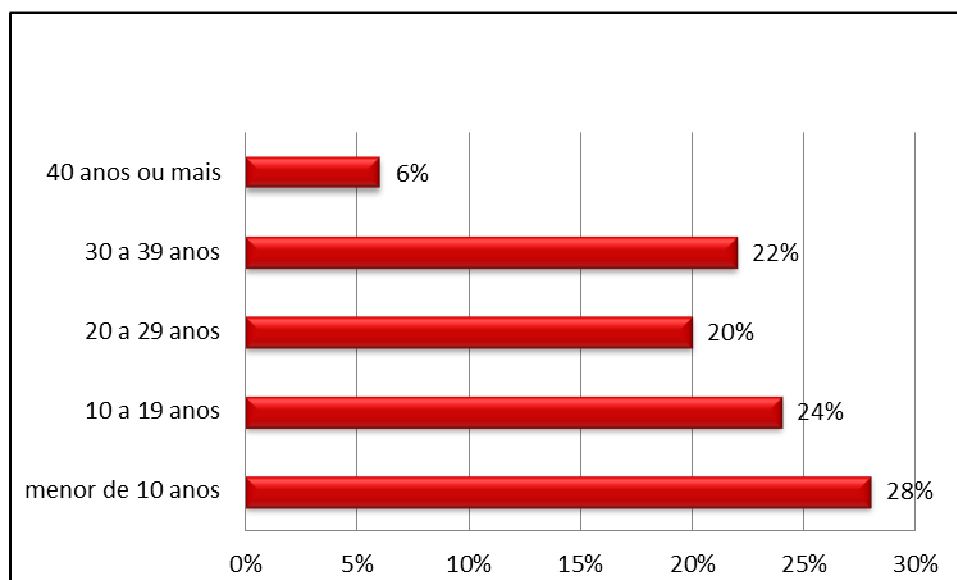


Figura 1. Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto à idade. Campina Grande (PB), 2011-2012.

No tocante à escolaridade predominaram os indivíduos que estudaram até o ensino fundamental (64%). Tal resultado é compatível com o encontrado em outras pesquisas^{9,11}.

Isso pode ser explicado pelo perfil dos pacientes atendidos em hospitais públicos os quais são, em sua maioria, desfavorecidos economicamente o que dificulta a continuidade do indivíduo no sistema educacional. Além disso, tal grau de instrução predominante gera-se a expectativa de que os pacientes tenham melhores condições de aderirem á uma convocação para que passem a atuar de modo mais protagonista em relação ao próprio tratamento e relacionamento com a enfermidade.

A frequência das crises convulsivas nos pacientes variou entre uma crise a cada dois anos e trinta e cinco crises por dia. Essa variabilidade na frequência de crises entre usuários de fenobarbital constitui-se como indício de dificuldades de controle farmacoterápico.

De acordo com o Ministério da Saúde, o paciente é considerado livre de crises quando elas não ocorrerem por pelo menos dois anos, na vigência de tratamento com dose inalterada do fármaco². Usando-se tal critério, 50% dos pacientes apresentam crises controladas.

Os guias oficiais afirmam que, de um modo ideal, os pacientes devem ser tratados com uma única droga antiepiléptica (DEA). Se o tratamento inicial não for bem sucedido, deve-se insistir na monoterapia, usando outra droga. No caso de falha persistente, pode-se tentar a combinação de dois fármacos anticonvulsivantes^{2,7,12}.

Quando se observa os dados da amostra, tem-se que 74% dos pacientes estão em monoterapia. Tal fato está em conformidade com o recomendado pelas diretrizes². Além disso, percebe-se que, entre os pacientes sujeitos a monoterapia, 59,5% apresentam-se com as crises controladas; já entre os 26% que estão sob politerapia, apenas 23,07% possuem suas crises controladas. A associação mais comum é com a carbamazepina, ocorrendo em 66,66% dos casos.

Destaca-se que, ao se correlacionar essas duas variáveis (associação com outros anticonvulsivantes e controle das crises), obtive-se um *Odds Ratio* de 4,400, o que significa que a chance de um paciente em monoterapia apresentar-se com crise controlada é 4,4 vezes maior que um paciente em politerapia, ratificando a ineficiência do uso simultâneo de mais de um anticonvulsivante para o controle das crises epilépticas. Este fato, observado entre os pacientes, não condiz com os estudos de Pastore et al.⁸ (2007), mas é corroborado pelo de Li et al. (2005)¹³.

A análise desses dados indica que o tratamento recebido pelos pacientes, embora parecendo adequado, pode ser otimizado com o auxílio de dados de dosagens laboratoriais da concentração sanguínea de fenobarbital em tais pacientes.

É sabido que o fenobarbital aumenta a biotransformação de fármacos como:

haloperidol, fenitoína, carbamazepina, omeprazol, prednisona (corticoide) e da vitamina D^{14,15}. Considerando-se que a carbamazepina foi o principal anticonvulsivante associado ao fenobarbital, entre os pacientes, ressalta-se, mais uma vez, a importância da implementação da monitorização terapêutica.

Entre os fatores de risco para epilepsia o mais prevalente foi o uso de álcool seguido do traumatismo crânio-encefálico (TCE) (figura 2), sendo que a maioria dos casos não apresenta causa definida. Os dados aqui obtidos estão de acordo com outros estudos^{11,16}.

A prevalência de crises convulsivas em abusadores de álcool que usam fenobarbital é, no mínimo, o triplo daquela em indivíduos não alcoolistas e a ingestão alcoólica excessiva guarda uma relação íntima com a ocorrência de crises epiléticas¹⁷. Ressalte-se que o consumo de álcool concomitantemente ao fenobarbital pode potencializar o efeito sedativo do anticonvulsivante, uma vez que o etanol também é inibidor do Sistema Nervoso Central. Por outro lado, o etanol é também um indutor enzimático, inclusive das enzimas biotransformadoras do fenobarbital, o que pode resultar em prejuízo de suas ações biológicas prejudicando assim, sua eficácia anticonvulsivante¹⁸.

Esses dados sobre o uso de álcool e as crises epiléticas mostram mais uma vez a importância de uma monitorização terapêutica com esses pacientes, inclusive associada a ações educacionais, uma vez que o consumo de álcool é algo comum na população e que pode influenciar no tratamento e controle das crises convulsivas.

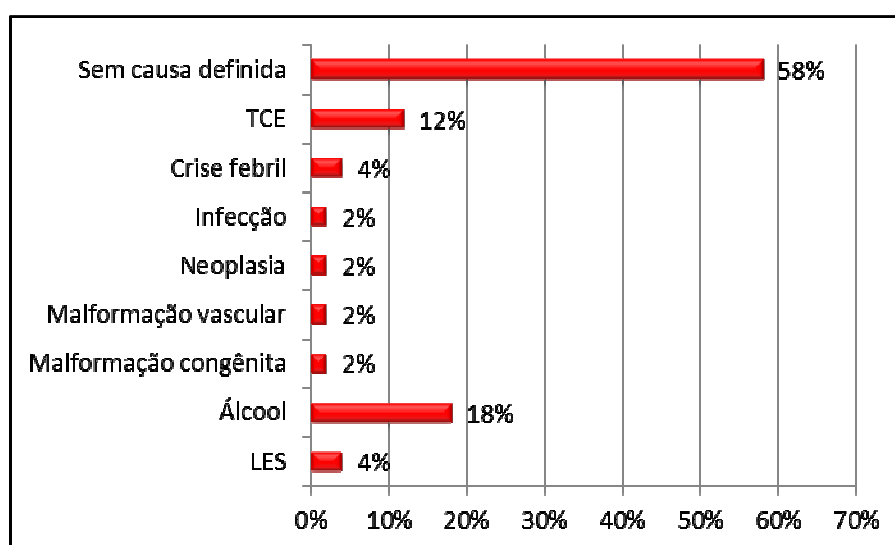


Figura 2: Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto aos fatores de riscos Campina Grande (PB), 2011 -2012. * TCE - traumatismo crânio-encefálico; LES – lúpus eritematoso sistêmico.

Ao questionar os pacientes sobre eventos adversos relacionados ao uso do fenobarbital, obteve-se como principais respostas o ilustrado na figura 3. Apenas 26% dos entrevistados não relataram efeitos adversos. Esse fato ganha maior relevância quando se analisa o tempo de uso desta droga que em média foi de 7,77 anos.

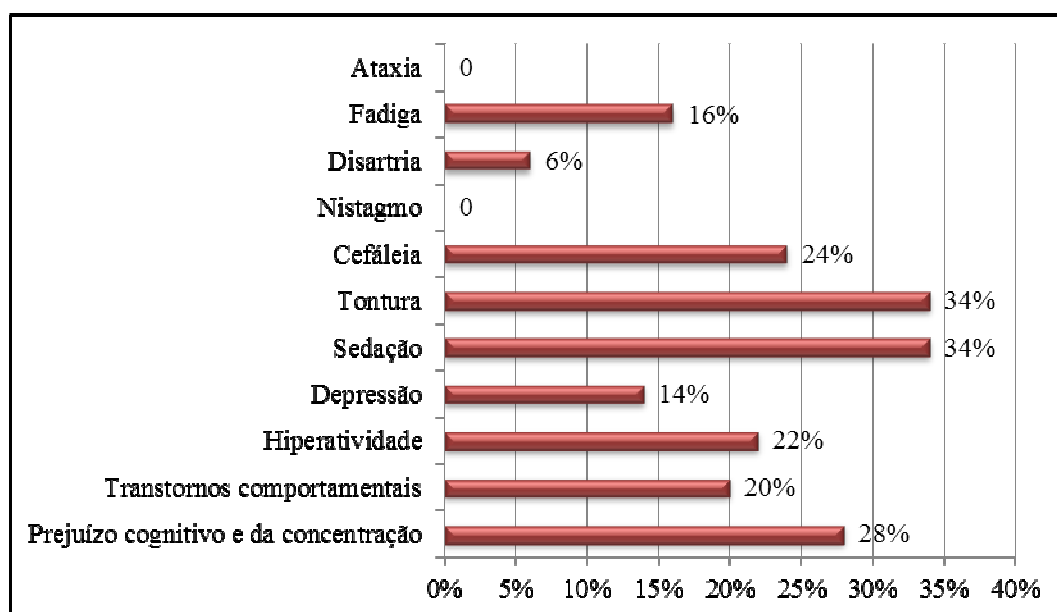


Figura 3: Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto ao relato de problemas relacionados ao uso da medicação anticonvulsivante, Campina Grande (PB), 2011 -2012.

Em uma revisão sistemática que incluiu vinte estudos constatou-se que não havia nenhuma evidência para sugerir que o fenobarbital cause mais eventos adversos em comparação com a carbamazepina, ácido valpróico ou fenitoína¹⁹. Em outro estudo concluiu-se que não existe evidência para um excesso de efeitos adversos comportamentais do fenobarbital sobre outras drogas antiepilépticas²⁰.

Ao analisar-se a correlação entre cada um dos efeitos adversos característicos do fenobarbital com a proporção de pacientes em monoterapia e politerapia, não houve resultados estatisticamente significantes, exceto para o efeito tontura, onde se observou que a monoterapia é fator de proteção, com um *Odds Ratio* de 3,1, isto é, os pacientes em politerapia apresentam um risco três vezes maior de ter tontura, quando comparados àqueles sob monoterapia.

O tempo de tratamento da epilepsia é, em geral, imprevisível. Podendo ser interrompido por falha do tratamento ou por remissão completa das crises. O período de

reavaliação é de três meses². Dos pacientes entrevistados, 50% fazem uso do fenobarbital há mais de cinco anos (figura 4).

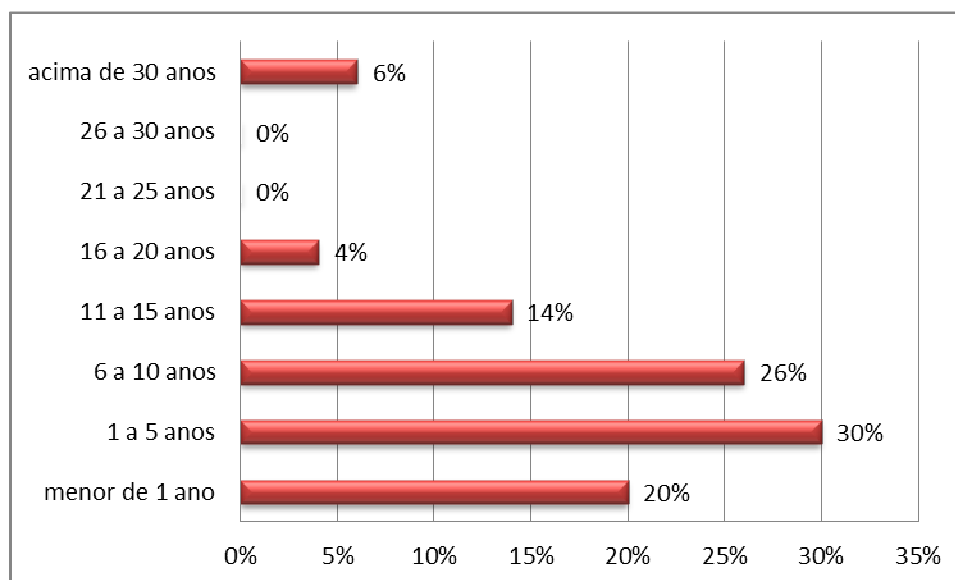


Figura 4. Distribuição percentual dos pacientes entrevistados, quanto ao tempo de uso de fenobarbital Campina Grande (PB), 2011 -2012.

Ao se correlacionar o tempo de uso do fármaco em estudo, agrupando os entrevistados em até cinco anos de uso e os que usavam por mais de cinco anos, com o relato de efeitos adversos (Tabela 1) não encontramos significância estatística ($p = 0,33$). Ou seja, apesar da prevalência de pacientes que relatam efeitos adversos ser 12% maior entre aqueles que usam o fármaco por mais de cinco anos, não é possível afirmar que esse padrão de uso seja fator de risco para o surgimento de efeitos adversos.

Tabela 1. Relação entre o tempo de uso do fenobarbital e a prevalência dos efeitos adversos nos pacientes entrevistados. Campina Grande (PB), 2011 -2012.

Tempo de uso de fenobarbital	Efeitos adversos		
	SIM	NÃO	TOTAL
Até 5 Anos de uso	68 % (17)	32 % (8)	100 % (25)
Mais de 5 Anos de uso	80% (20)	20% (5)	100% (25)
Total	74% (37)	26% (13)	100 % (50)

Estudos sugerem piora da qualidade do sono em pacientes epiléticos, além de alterações no ciclo sono-vigília e da macro e microestrutura do sono. A epilepsia e o sono possuem vários mecanismos neurofisiológicos em comum^{21,22}.

Apesar disso no presente estudo, 92% dos pacientes relataram dormir bem ou muito bem. Esse fato pode ser explicado quando se verifica que a maioria dos pacientes toma fenobarbital antes de dormir, haja vista que a sonolência é um dos efeitos mais comuns desse fármaco.

Conclusão

A análise dos dados coletados no HUAC entre 50 pacientes com crises epiléticas e usuários de fenobarbital, nos permitiu compor um perfil que parece indicar peculiaridades importantes.

Metade dos pacientes relatava estar com as crises convulsivas controladas sendo que a maioria (74%) é tratada em monoterapia. Entre estes a chance de controle de crises é 4,4 vezes maior do que entre aqueles sob politerapia. Os pacientes relataram principalmente tontura e sedação como efeitos adversos (ambos 34%), sendo que, aqueles sob monoterapia possuem 3,3 vezes menos chance de apresentar tonturas.

Desse modo, cremos que o estudo aqui realizado é de grande utilidade para embasar ações de otimização do uso de fenobarbital em nossa região, tanto no aspecto educativo quanto na clínica, com a proposição de reajustes posológicos e/ou modificações no esquema terapêutico adotado, contribuindo com o uso racional de medicamentos.

Colaboradores

Lídia Magda Rêgo Lima: Coleta de dados, redação do manuscrito e revisão da literatura.

Palas Atenéia Dantas de Medeiros: redação do manuscrito e revisão da literatura.

Nícia Stellita da Cruz Soares: redação do manuscrito e revisão da literatura.

Gérson Bragagnoli: análises estatísticas.

Saulo Rios Mariz: autor da ideia de pesquisa que originou o trabalho, elaboração das hipóteses, aprovação do projeto em órgãos de fomento, estruturação do método da pesquisa, coordenação do grupo que realizou o trabalho.

Sayonara Maria Lia Fook: aprovação do projeto em órgãos de fomento, estruturação do método da pesquisa, coordenação do grupo que realizou o trabalho.

Referencias

1. Bartmann AP, Sander JW. Epilepsy treatment: a paradigm shift is urgently need. *Arq. Neuro-Psiquiatr.*; 2013; 71(3): 180-182.
2. Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS nº 492, de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010.
3. Maranhão VMM, Gomes EA, Carvalho PE. Epilepsia e Anestesia. *Rev. Bras. Anesthesiol.*; 2011; 61(2): 232-54.
4. Tomson T, Dahl M-L, Kimland E. Therapeutic monitoring of antiepileptic drugs for epilepsy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 5, Art. No. CD002216. DOI: 10.1002/14651858.CD002216.pub1.
5. Moreira SRG. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento. *Mental*; 2004; II(3): 107-122.
6. Nolan SJ, Tudur SC, Pulman J, Marson AG. Phenobarbitone versus phenytoin monotherapy for partial onset seizures and generalised onset tonic-clonic seizures. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 5, Art. No. CD002217. DOI: 10.1002/14651858.CD002217.pub4.
7. Bragatti JÁ, Chaves MFL, Krug BC, Amaral KM. Epilepsia. *Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas*. São Leopoldo: Editora Pallotti, 2010: 147-179
8. Pastore ME, Ofuchi AS, Nishiyama P. Monitorização terapêutica de fenobarbital. *Acta Sci. Health Sci.*; 2007; 29(2): 125-131.
9. Kodjaoglanian VL, Souza ER, Lopes JRRA, Morgado AF. Epilepsia: dados básicos de um serviço público do Rio de Janeiro. *Cad. Saúde Pública*; 1986; 2(2): 227-240.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico de 2010.
11. Calvano LA, Araújo DCLA, Mendonça RLB, Xavier RC, Silva OF, Trindade Filho EM. Epidemiologia das Epilepsias na População da Cidade de Maceió – Alagoas. *Neurobiologia*; jan/mar 2010; 73(1).

12. Rocha GP, Batista BH, Nunes ML. Orientações ao pediatra sobre o manejo das drogas psicoativas e antiepilépticas. *J. Pediatr.*; 2004; 80(2): 45-55.
13. Li ML, Fernandes PT, Mory S, et al. Manejo da epilepsia na rede básica de saúde no Brasil: os profissionais estão preparados? *Pan. Am. J. Public Health*; 2005; 18: 296–302.
14. Bortolini LGC, Carolina AM, Kulak CAM, Borba VZC, Silvado CE, Boguszewski CL. Efeitos endócrinos e metabólicos das drogas antiepilépticas. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*; 2009; 53(7).
15. Ross JB, Frank IT. Fármacos e o Tratamento dos Transtornos Psiquiátricos. Brunton LL. Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil 2007: 365-390.
16. Rigatti M, Trevisol-Bittencourt PC. Causas de epilepsia tardia em uma clínica de epilepsia do estado de Santa Catarina. *Arq. Neuro-Psiquiatr.*; 1999; 57: 787-792.
17. Palmira A. Impacto do uso e do abuso de álcool nas epilepsias e nas crises epiléticas: implicações terapêuticas. *Rev. bras. clín. ter.*; 2007; 33(1): 9-14.
18. Griffin EA, Lowenstein DH. Farmacologia da Neurotransmissão elétrica anormal no Sistema Nervoso Central. In: Griffin EA, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. Princípios de Farmacologia – A base fisiopatológica da Farmacoterapia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009: 203-216.
19. Zhang LL, Zeng LN, Li YP. Side effects of phenobarbital in epilepsy: a systematic review. *Epileptic Disord.*; 2011; 13(4): 349-365.
20. Pal DK. Phenobarbital for childhood epilepsy: systematic review. *Pediatr Perinat Drug Ther.*; 2006; 7(1): 31–42.
21. Vidotto GAF, Liberalesso PBN, Farias AC, Jurkiewicz AL, Zeigelboim BS, Löhr Júnior A. Estudo Comparativo Entre a Qualidade do Sono em Crianças de 7 a 15 anos com Epilepsia Clinicamente. *J. epilepsy clin. Neurophysiol.*; 2008; 14(4): 156-161.

22. Barreto JRS, Fernandes RMF, Sakamoto AC. Correlation of sleep macrostructure parameters and idiopathic epilepsies. *Arq Neuropsiquiatr*. 2002; 60(2-B): 353-357.

4.2 ARTIGO 2

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE FENOBARBITAL EM SORO UTILIZANDO
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

*Palas Atenéia Dantas de Medeiros¹
Paulo Cesar Dantas da Silva²
Luana Pinto de Arruda Sales³
Saulo Rios Mariz³
Sayonara Maria Lia Fook²*

1. *Programa de Pós-graduação em Saúde Pública. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.*
2. *Departamento de Farmácia. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.*
3. *Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, Brasil.*

Instituição onde foi realizado o estudo: Laboratório de Desenvolvimento e Certificação de Biomateriais do Nordeste (Certbio), Campina grande, PB, Brasil.

Financiamento: Proeac/Proapex (Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários /Projetos de Extensão contemplados com Bolsa de Extensão), Universidade Estadual da Paraíba. Edital 03/2011, 2011-2013.

Endereço para correspondência¹: Rua Wilson G. de Oliveira, 19 C, itararé. Campina Grande – PB – Brasil. CEP: 584111-116.

Endereço eletrônico: palas.medeiros@ig.com.br

Agradecimento

A Proeac/Proapex pelo financiamento desta pesquisa.

Resumo

Um método por HPLC foi desenvolvido e validado para identificar e quantificar o fenobarbital. As condições cromatográficas foram coluna C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0), fase móvel acetonitrila:água (30:70, v/v), fluxo de 0,2 mL/min, comprimento de onda 210nm. A linearidade foi estabelecida na faixa de 2,5 a 80µg/mL com o coeficiente de correlação linear de 0,9981. A média do coeficiente de variação da precisão foi de 5,30%. O erro padrão relativo da exatidão foi -2,17% e a recuperação foi 97,83%. Onze pacientes foram avaliados para confirmar a validade do método, todos encontravam-se com a concentração de fenobarbital abaixo da faixa terapêutica. O método testado foi seletivo, linear, preciso, exato e apresentou boa recuperação.

Palavras-chave: fenobarbital; estudos de validação; cromatografia líquida de alta eficiência.

Abstract

An analytical method, using HPLC, was developed and validated in order to identify and quantify phenobarbital. The chromatographic conditions were: C-18 column (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0), acetonitrile-water mobile phase (30:70, v/v), 0.2 mL/min flow and wavelength of 210 nm. Linearity was established in the range of 2.5 to 80 µg/mL, the linear correlation coefficient was 0.9981. The average of the coefficient of variation of the precision was 5.30%. The relative standard error of the exaction was -2.17% and of the recovery coefficient was 97.83%. Eleven patients were evaluated in order to confirm the validity of the method, all met with phenobarbital concentration below the therapeutic range. The tested method was selective, linear, precise, accurate and showed good recovery.

Keywords: phenobarbital; validation studies; high performance liquid chromatography.

Introdução

O fenobarbital é um fármaco anticonvulsivante que potencializa a neurotransmissão inibitória do ácido gamaminobutírico (GABA)^{1,2,3,4}. Muitos especialistas e autores criticam o uso do fenobarbital pelas suas limitações terapêuticas para alguns tipos de crises e pelo alto risco de efeitos adversos graves, como sedação, anemia megaloblástica, osteomalácia e hipersensibilidade leve, além do risco de tolerância metabólica e farmacodependência. Em altas doses, são frequentes os relatos de depressão cardiorrespiratória e coma^{1,2,4-6}. Todavia o fenobarbital, ainda hoje, continua sendo muito usado para a prevenção de crises convulsivas, principalmente pelo seu baixo custo financeiro^{1,2,4-6}.

Para prevenir os efeitos adversos nos pacientes pode-se utilizar o monitoramento terapêutico. Tal procedimento não se resume a quantificação laboratorial de fármacos em um dado paciente que o usa, mas, consiste em associar tal dosagem aos sinais e sintomas observados a fim de correlacionar os teores corporais da substância bioativa com os efeitos (terapêuticos ou tóxicos) que estejam sendo observados no usuário, ao longo da farmacoterapia. Tal conduta permite que ao prescritor reajustar o esquema posológico, sem que, para tanto, seja necessário o sofrimento clínico do paciente, ou seja, sem o agravamento da doença (situação decorrente da falta ou diminuição do fármaco no organismo), ou ainda, em sentido oposto, a observação de um quadro clínico de intoxicação medicamentosa, causado pelo excesso da droga no paciente⁷.

Uma das técnicas que podem auxiliar no controle terapêutico de anticonvulsivantes como o fenobarbital, é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) mais conhecida pela sigla em inglês, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)⁸. Esta é uma técnica físico-química que permite a separação e identificação de substâncias em uma amostra. Sendo possível detectar quantidades até na ordem de pictogramas, dependendo do objetivo da análise⁹.

De acordo com a Resolução nº 27 de 17 de maio de 2012, da ANVISA, as técnicas utilizadas devem conter requisitos mínimos de validação. Um método validado garante a qualidade das medições químicas, através da sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade^{10,11}.

Diante disto, o objetivo desta pesquisa foi validar um método para doseamento do fenobarbital em soro sanguíneo utilizando o HPLC e aplicar em amostras dos pacientes epiléticos e usuários crônicos de fenobarbital.

Materiais e Método

Reagentes e amostras de referência

O fenobarbital foi adquirido junto ao laboratório Cristália (Brasil). A fenitoína (padrão interno) foi doada pelo Laboratório Teuto (Brasil). O Ácido Tricloroacético (TCA) foi adquirido da Merck (Germany). Acetonitrila, grau HPLC, foi adquirida da Merck (Damstadt/Germany).

Preparação das Amostras

Foram coletados 5mL de sangue de cada paciente. Para obtenção do soro, as amostras de sangue foram centrifugadas por 15 minutos em 3000 rpm. Foram transferidos 200µL de soro para tubos de polipropileno e adicionados 200 µL da solução de padrão-interno de fenitoína (1mg/mL) e 50µl de TCA 15%. Essa solução foi homogeneizada no vortex por 30 segundos e posteriormente centrifugada a 4400 rpm durante 30 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e recentrifugado nas mesmas condições por cinco minutos. O sobrenadante foi diluído na fase móvel, filtrado e injetado 10µL no HPLC.

Equipamentos e condições cromatográficas

Agitador tipo Vortex, da marca AAKER e modelo QL-901; Centrífuga BioEng, Modelo BE6000; Centrífuga Eppendorf, modelo centrifuge 5702 R.

Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, SHIMADZU PROMINENCE UFLC XR (Ultra Fast Liquid Chromatography). Equipado com bomba de fluxo de solventes, injetor automático, detector UV/visível e com um programa de computação para integralização dos dados. A coluna cromatográfica foi do tipo C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92).

A fase móvel para a corrida cromatográfica foi constituída de acetonitrila:água (30:70, v/v). Utilizada em um fluxo de 0,2 mL/min. A temperatura da coluna foi de 30°C. O comprimento de onda para leitura foi de 210nm.

Validação do método

Seletividade

Foram processadas seis amostras de soro de indivíduos não usuários de fenobarbital (amostra branco) sendo um destes lipêmico e outro hemolisado. Na corrida cromatográfica foi avaliada a presença de picos interferentes nos tempos de retenção dos analitos de interesse, a ausência destes picos indica que o método é seletivo¹⁰.

Efeito matriz (EF)

Foram preparadas seis amostras de soro com o padrão Fenobarbital®, na concentração de 40µg/mL. O cálculo do efeito matriz foi feito usando a seguinte equação:

$$EF = \frac{\text{valor experimental}}{\text{valor nominal}}$$

Valor experimental – área do pico do fenobarbital encontrado na amostra submetida ao processo de extração.

Valor nominal – área do pico do fenobarbital encontrado quando diluído na fase móvel¹².

Linearidade

Foi avaliada em seis níveis, em triplicata para cada nível. Soluções de Fenobarbital® foram adicionadas em amostras de plasma isento de fármacos, a fim de se obter soluções analíticas nas concentrações 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 e 80,0 µg/mL. A curva analítica foi avaliada em três dias diferentes. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através de análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação é de 0,99. O coeficiente de variação menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal mais baixa, e menor ou igual a 15% para as demais concentrações¹²⁻¹⁵.

Sensibilidade

A sensibilidade do método foi determinada pelo limite de detecção e limite de quantificação. Foram analisadas soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do padrão Fenobarbital®. Os valores foram estabelecidos com base no desvio padrão da resposta da inclinação da curva de calibração do Fenobarbital®¹⁵.

Exatidão e precisão

Foram preparadas amostras de cinco concentrações diferentes, cada uma em quintuplicata, sendo: LIQ - limite inferior de quantificação: concentração de 2,5µg/mL; CQB - amostra de controle de qualidade de baixa concentração: concentração de 7,5µg/mL; CQM - amostra de controle de qualidade de média concentração: concentração de 40,0µg/mL; CQA - amostra de controle de qualidade de alta concentração: concentração de 64,0µg/mL; CQD - amostra de controle de qualidade de diluição: concentração de 100µg/mL.

Os resultados foram analisados em uma mesma corrida analítica (intracorrída)¹⁶⁻¹⁸ e em três (três) corridas diferentes (intercorridas)¹⁵. A exatidão foi expressa pelo Erro Padrão Relativo (EPR) utilizando a equação:

$$\text{EPR} = \frac{(\text{valor experimental} - \text{valor nominal}) \times 100}{\text{Valor nominal}}$$

Sendo: valor experimental: área do pico do padrão encontrado nas amostras fortificadas. Valor nominal: área do pico do padrão diluído na fase móvel.

A precisão foi expressa pelo cálculo do coeficiente de variação percentual (cv%) através da equação:

$$\text{CV} = \frac{\text{Desvio Padrão} \times 100}{\text{Concentração média experimental}}$$

O critério de aceitação para exatidão foi valores médios de ± 15% do valor nominal e ± 20% para LIQ. Para precisão foi aceitável um CV máximo de 15% e para a LIQ valores de ± 20%¹⁰.

Recuperação

A recuperação do padrão foi avaliada em cinco concentrações (2,5; 7,5; 40,0; 64,0 e 100µg/mL). Para o cálculo foi utilizada a equação:

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{valor experimental} \times 100}{\text{Valor nominal}}$$

Onde: valor experimental é a resposta obtida para o analito quando adicionado na matriz biológica e extraído;

Valor nominal é a resposta obtida para o analito em amostras preparadas na fase móvel.

São desejáveis valores de recuperação do analito próximos a 100%, porém, admite-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata. Aceita-se uma variação de até 15% do valor de recuperação determinado para os analitos de interesse¹².

Robustez

A robustez do método analítico foi avaliada através da análise do teor do padrão Fenobarbital em diferentes condições cromatográficas, foram produzidas alterações na proporção da fase móvel acetonitrila:água (25:75 vv e 35:75 vv), temperatura (27°C e 33°C) e comprimento de onda (205nm e 215nm). Cada parâmetro foi alterado individualmente enquanto os outros foram mantidos constantes. Estas variações foram avaliadas quanto aos critérios de seletividade, exatidão e precisão¹¹.

Aplicação do Método

O método desenvolvido foi aplicado a 11 amostras de soro obtidas de pacientes epiléticos e usuários crônicos de fenobarbital, atendidos no setor de neurologia do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC). As amostras foram submetidas ao processo de extração descrito no item 2.2. Foram estabelecidas correlações entre os níveis sanguíneos de fenobarbital com a incidência de crises convulsivas e efeitos adversos ou tóxicos desses medicamentos nos pacientes.

Os ensaios analíticos foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento e

Certificação de Biomateriais do Nordeste (Certbio), na Unidade do Laboratório de Ensaios Cromatográficos (LEC), Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Para a verificação e adequação da pesquisa aos aspectos éticos preconizados pela legislação brasileira, o presente projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética do HUAC, tendo sido aprovado mediante processo 20110508-028 (ANEXO A). Foram respeitados os critérios estabelecidos pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 (CNS).

Resultados e discussões

O método de cromatografia líquida utilizado neste trabalho mostrou-se adequado para a determinação e quantificação do fenobarbital (FNB) em soro sanguíneo de usuários. Após a realização de vários ensaios, chegou-se às seguintes condições cromatográficas ideais: fase móvel acetonitrila:água (30:70, v/v), fluxo de 0,2 mL/min, temperatura da coluna de 30°C comprimento de onda para leitura de 210nm com uma duração total de 13 min. Nestas condições os tempos de retenção para FNB e PI foram de 4,471 e 8,948 min, respectivamente. Foram analisadas seis amostras de plasma (incluindo lipêmicas e hemolisadas) de diferentes voluntários, verificou-se apenas um pico de origem endógena no tempo de 1,48 min, não apresentando interferência com o analito pesquisado, concluindo-se que o método é seletivo (Figura 1).

Na validação de métodos em que se usa matriz biológica calcula-se o EF. Neste trabalho, com a análise das seis amostras observou-se que o EF médio foi de 0,98, sugerindo que há supressão da ionização, e o coeficiente de variação entre as respostas foi de 9,30%, valor aceitável de acordo com literatura¹².

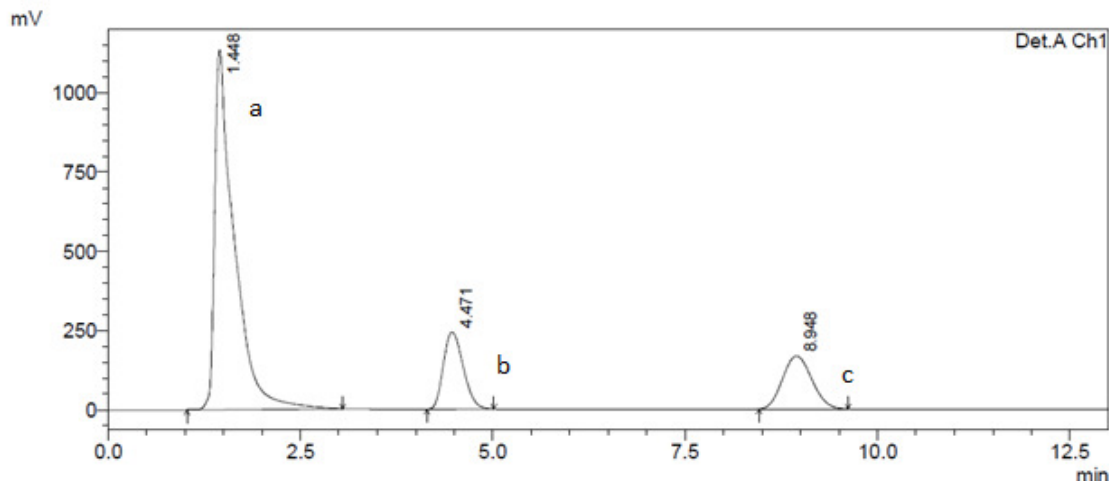


Figura 1. Separação cromatográfica da amostra clínica de soro contendo padrão de Fenobarbital® (concentração de 40µg/ml) e Padrão Interno de Fenitoína® (concentração de 50µg/mL). a – interferente endógeno, b – padrão de Fenobarbital®, c – padrão interno de Fenitoína®.

A linearidade foi demonstrada na concentração de 2,5 a 80,0 µg/mL, por conter a faixa terapêutica do fármaco (15-40µg/mL)¹. A curva analítica encontrada corresponde ao modelo matemático estabelecido pela relação entre a resposta instrumental (área/altura da banda cromatográfica) e a concentração do analito (Figura 2), cuja equação é $y = 5954,4x + 3352,5$ e correlação linear (r) 0,9981. Os coeficientes de variação foram menores que 15% (Tabela 1). Sendo assim o método mostrou-se satisfatório e confiável do ponto de vista da reprodutibilidade, isto indica que o método escolhido é adequado para a análise^{10,12}.

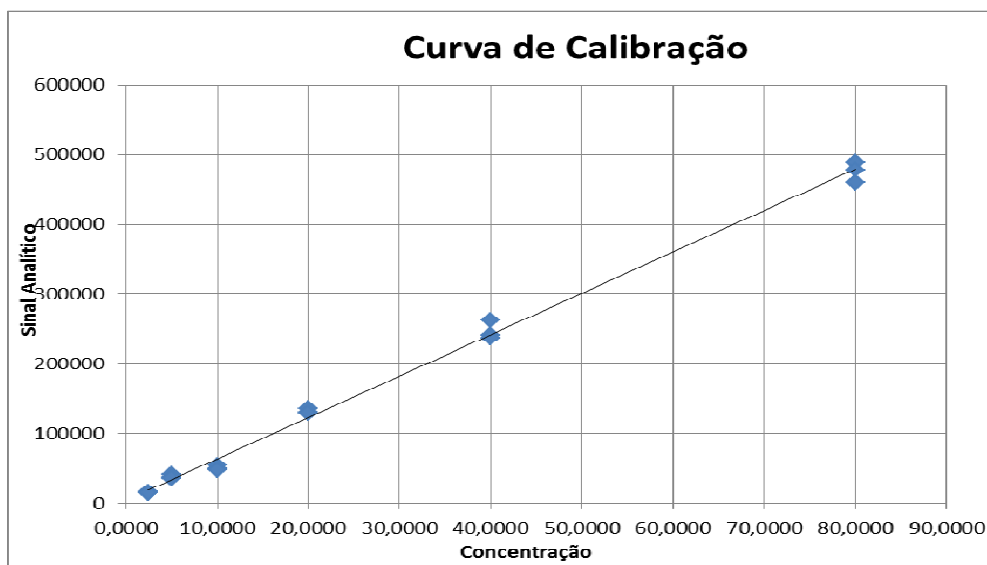


Figura 2. Curva analítica para Fenobarbital® no método por HPLC, usando fase móvel acetonitrila:água (30:70, v/v). Fase estacionária: coluna C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92).

Tabela 1. Valores das áreas dos picos para Fenobarbital® na curva analítica.

Concentração	Áreas	Média das áreas \pm desvio padrão	CV (%)
2,5ug/mL	16154,0000	14955,7778 \pm 1042,5626	6,97
	14457,3333		
	14256,6667		
5,0um/mL	40924,6667	37961,3333 \pm 2604,9030	6,86
	36926,3333		
	36033,0000		
10,0ug/mL	54343,0000	50163,6667 \pm 3670,6187	7,32
	48685,3333		
	47463,0000		
20,0ug/mL	136027,3333	132051,6667 \pm 3462,4583	2,62
	130433,3333		
	129695,6667		
40,0ug/mL	261608,3333	246689,3333 \pm 13020,6151	5,28
	240846,6667		
	237614,0000		
80,0ug/mL	489519,6667	476117,0000 \pm 14789,9997	3,11
	460249,6667		
	478583,6667		

* CV – coeficiente de variação

Os limites de quantificação e de detecção (LD) utilizados para demonstrar a sensibilidade do método¹² foram estimados a partir da curva de calibração. O resultado do limite de detecção foi de 7,95 μ g/mL e o de quantificação 11,76 μ g/mL, indicando que o método tem sensibilidade adequada para a análise proposta, pois a faixa terapêutica é de 15 – 40 μ g/mL¹.

A precisão e a exatidão determinam os erros de uma medida analítica e são os principais critérios usados para julgar a qualidade de um método bioanalítico. Foram calculadas a precisão e exatidão intradia e interdia (Tabela 2). O método foi considerado preciso, sendo a média do coeficiente de variação de 5,30% e exato com a média do EPR de - 2,16%¹⁰.

O método teve uma boa recuperação do padrão com valores médios de 97,83% nas amostras analisadas (Tabela 2). Esses resultados são considerados adequados, já que valores de recuperações entre 70 e 120% são aceitos na maioria dos procedimentos de validação analítica, desde que sejam precisos e exatos¹⁹. Valores de recuperação acima de 100% são explicados pelo efeito matriz¹². Os valores de recuperação encontrados condizem com os achados da literatura, que variam geralmente de 63-113%^{20,21}.

Tabela 2. Resultados obtidos para precisão, exatidão e recuperação do método na avaliação de cinco níveis de concentração.

Concentração	Intradia									Interdia		
	CV (%)			EPR (%)			Recuperação			CV (%)	EPR (%)	Recuperação (%)
	Dia I	Dia II	Dia III	Dia I	Dia II	Dia III	Dia I	Dia II	Dia III			
LIQ (2,5µg/mL)	10,74	11,45	4,29	-	-	-0,20	96,93	89,84	99,79	4,29	-	94,41
CQB (7,5ug/mL)	7,91	4,05	2,84	1,80	-	10,44	101,80	89,55	104,03	8,76	-	98,40
CQM (40ug/mL)	2,69	2,66	2,34	-	-	-0,36	98,64	99,63	107,32	4,28	1,84	101,84
CQA (64ug/mL)	0,71	2,57	2,28	-	-	-8,98	96,28	91,01	96,67	5,17	-	94,68
CQD (100ug/mL)	2,89	2,27	0,72	-	-	-5,09	94,36	94,90	111,97	3,99	-	99,81
Média	4,98	4,60	2,49	-	-	-7,00	97,60	92,98	103,95	5,30	-	97,83

* LIQ - limite inferior de quantificação. CQB - amostra de controle de qualidade de baixa concentração. CQM - amostra de controle de qualidade de média concentração. CQA - amostra de controle de qualidade de alta concentração. CQD - amostra de controle de qualidade de diluição. CV - coeficiente de variação. EPR - erro padrão relativo.

Com relação ao padrão interno, o mesmo também se mostrou preciso (CV médio de 8,23%). Também foi exato (EPR médio foi de -6,29%) e com boa recuperação (media de 93,70%).

A robustez mede a capacidade do método manter-se seletivo, exato e preciso frente a pequenas mudanças nas condições experimentais que podem ocorrer durante as análises de rotina^{12,22}. Pode-se variar a proporção da fase móvel, temperatura da coluna, comprimento de onda, entre outros^{11,12,22}.

O método foi considerado robusto apenas para as modificações de temperatura, quando sofreu modificação para 27°C e 33°C. Quando se avaliou o comprimento de onda para 205nm e 215nm, manteve-se preciso e seletivo, entretanto não foi exato (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação da robustez quanto aos critérios de precisão e exatidão.

	T - 27°C	T - 33°C	□ - 205 nm	□ - 215 nm	FM 35:65 vv
CV % (precisão)	5,72	1,95	2,33	2,74	1,95
EPR % (exatidão)	8,04	14,29	39,55	-13,79	22,72

* T – temperatura. □ - comprimento de onda. FM – fase móvel. CV - coeficiente de variação. EPR - erro padrão relativo.

Avaliando-se a mudança no gradiente da fase móvel, esta também foi considerada uma condição que deve manter-se fixa, pois o método perdeu a seletividade. Na fase móvel acetonitrila:água (25:75 v/v) o tempo de retenção do fenobarbital foi 2,03 min (Figura 3) coeluído com o interferente da matriz biológica. Na fase móvel acetonitrila:água (35:65 v/v) permaneceu seletivo (tempo de retenção de 3,58 min) mas não exato. Constatou-se a susceptibilidade do método a tais variações, estas deverão ser adequadamente controladas¹².

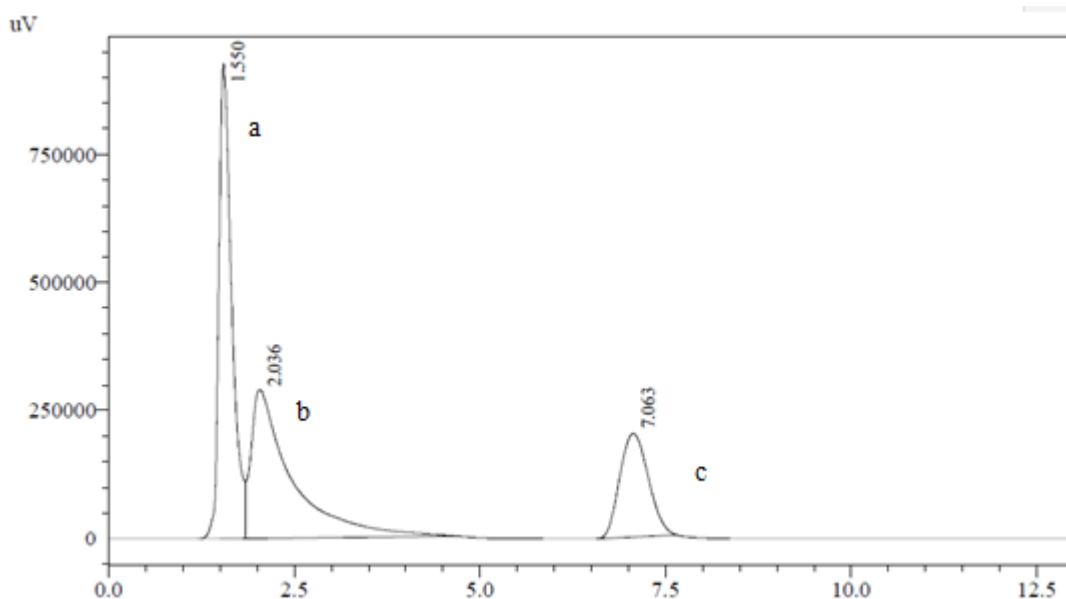


Figura 3. Cromatograma da amostra clínica de soro contendo padrão de Fenobarbital® (concentração de 40ug/ml) e Padrão Interno de Fenitoína® (concentração de 50ug/ml), usando fase móvel acetonitrila:água (25:75, v/v). Fase estacionaria: coluna C-18 (Shimpack XR-ODS 50L x 3.0/P/N 228-41606-92). a – interferente endógeno, b – padrão de Fenobarbital®, c – padrão interno de Fenitoína®.

O método desenvolvido foi aplicado a amostras de soro de onze pacientes. Todas as amostras testadas encontravam-se com a concentração de fenobarbital abaixo da faixa terapêutica (menor que 15µg/mL), corroborando com outros estudos^{20,23}. Uma segunda amostra de um destes pacientes foi coletada e analisada em outra data, e a concentração do fenobarbital permaneceu abaixo da faixa terapêutica.

Entre esses onze pacientes a faixa etária mais prevalente foi de 30 a 39 anos, sendo a média de idade 30,54 anos (Figura 4). O tempo médio de uso do fenobarbital por estes pacientes foi de 14,59 anos.

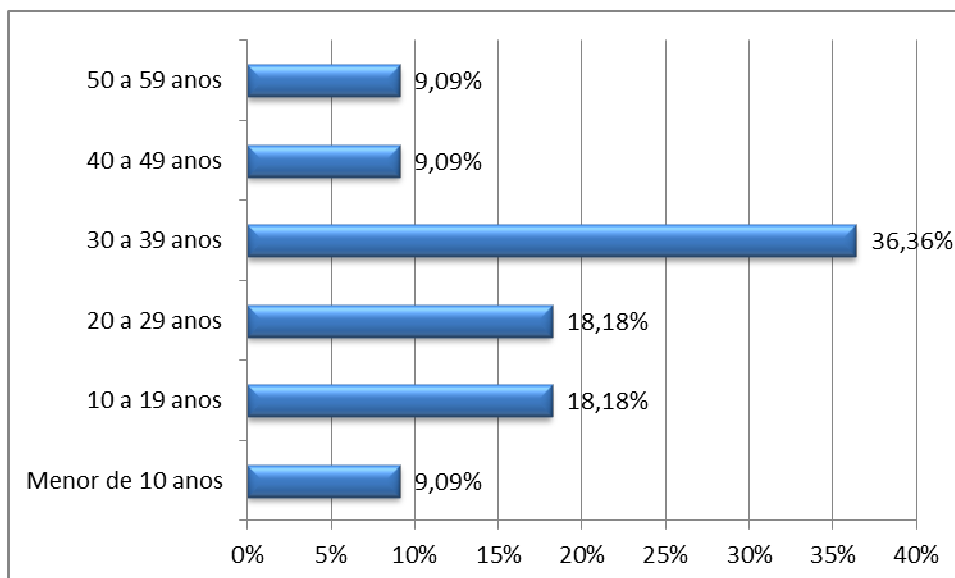


Figura 4. Distribuição percentual dos pacientes, quanto à idade. Campina Grande (PB), 2011-2012.

Quando se observa os dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes, tem-se que a maioria faz uso do fenobarbital há mais de cinco anos (81,82%), não estão com as crises convulsivas controladas (81,82%), a dose de fenobarbital está de acordo com o recomendado pelo Formulário Terapêutico Nacional²⁴, em 72,72% dos casos. Com relação aos efeitos adversos 90,90% relataram ter desenvolvido e 63,4% fazem uso de associação medicamentosa (63,64%) (Figura 5).

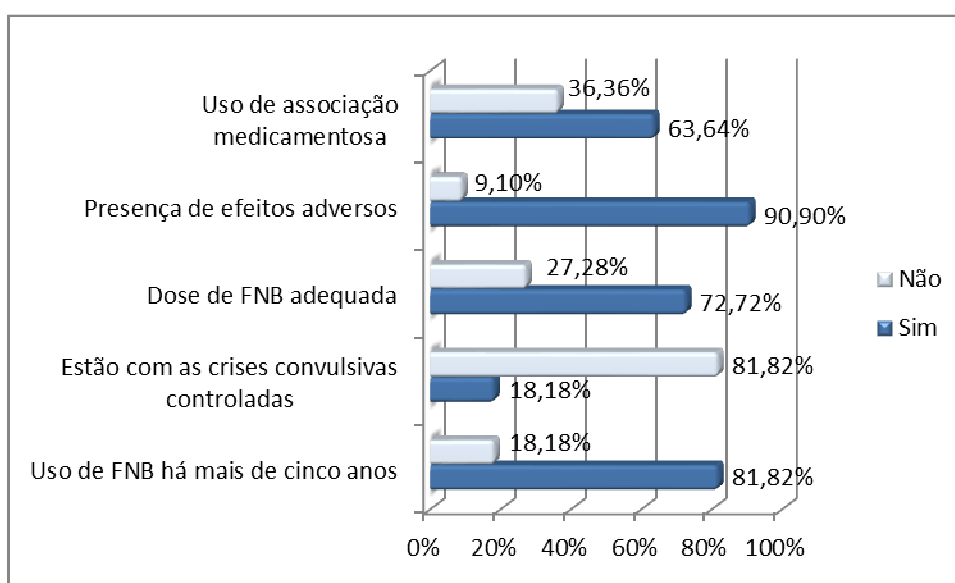


Figura 5. Perfil clínico dos pacientes com epilepsia. Campina Grande (PB), 2011-2012.

NOTA: FNB – fenobarbital.

De acordo com o Ministério da Saúde, o paciente é considerado livre de crises convulsivas quando elas não ocorrerem por pelo menos dois anos, na vigência de tratamento com dose inalterada do fármaco²⁵. Neste caso apenas 18,18% dos pacientes estão com as crises convulsivas controladas, mostrando que há uma relação clínico laboratorial, ou seja, há necessidade de haver uma modificação na dose dos pacientes que não estão apresentando controle das crises convulsivas.

A correlação entre estes pacientes e tempo de uso de fenobarbital indica que apenas 18,18% dos pacientes que usam o fenobarbital há mais de cinco anos estão com as crises convulsivas controladas. Correlacionando com a associação medicamentosa tem-se que 54,54% dos pacientes que fazem uso de politerapia não tem suas crises controladas (Tabela 4).

Tabela 4. Relação entre controle de crises convulsivas com tempo de uso do fenobarbital, associação medicamentosa e dose adequada.

		Mais de cinco		Associação		Dose adequada	
		anos de uso		medicamentosa			
		Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
Controle de crises	Sim	18,18%	0%	9,09%	9,09%	18,18%	0%
	Não	63,63%	18,18%	54,54%	27,27%	54,54%	27,27%

A dose de fenobarbital indicada para o tratamento de epilepsia é de 5 a 8mg/Kg/dia para crianças e de 60 a 180mg/dia para adultos²⁴. Segundo este critério 72,72% dos pacientes tem prescrita uma dose adequada do fenobarbital, entretanto a concentração sérica do mesmo encontra-se abaixo da faixa terapêutica em todos os pacientes, fato confirmado pelos 54,54% da amostra que apesar de ter uma dose teoricamente adequada não estão com as crises convulsivas controladas; e pelo tempo médio da última convulsão (um ano e dez meses). Esta baixa concentração pode ser causada pela indução enzimática provocada pelo fenobarbital no sistema do citocromo CYP450 3A4^{24,26}. Esse processo de indução é lento (7-10 dias), por isso é importante reajustes posológicos na vigência da administração crônica de fenobarbital para garantir a eficácia do tratamento²⁷.

Entre os pacientes que não usam a dose adequada do fenobarbital 66,67% estão com dose acima da indicada e 33,33% é de subdose.

Os efeitos adversos mais encontrados nos pacientes foram sedação (63,63%) e tontura (54,54%), também foram identificados ataxia, fadiga, cefaleia, depressão, transtornos comportamentais, prejuízo cognitivo e da concentração, estes efeitos estão de acordo com a literatura²⁴.

Analisando-se as relações entre a presença de efeitos adversos e as outras características tem-se que: 72,72% dos pacientes que apresentam efeito adverso faz mais de cinco anos que utilizam o fenobarbital; 63,64% apesar de utilizar uma dose teoricamente adequada de fenobarbital relataram apresentar efeito adverso; em 72,72% as crises convulsivas não estão controladas e tem efeito adverso; 54,54% fazem uso de politerapia e tem efeito adverso (Tabela 5). Foi relatado por 90,90% dos pacientes a presença de efeitos adversos. Entretanto todos os pacientes encontram-se com a concentração sanguínea de fenobarbital abaixo da faixa terapêutica, gerando-se a hipótese de falha no relato dos efeitos adversos.

Tabela 5. Relação entre presença de efeito adverso e tempo de uso do fenobarbital, dose adequada, controle de crises e associação medicamentosa.

		Mais de cinco anos de uso		Dose adequada		Controle de crises		Associação medicamentosa	
		Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
Efeito adverso	Sim	72,72%	18,18%	63,64%	27,27%	18,18%	72,72%	54,54%	36,36%
	Não	9,09%	0%	18,18%	0%	0%	9,09%	9,09%	0%

Foi observado associação medicamentos em 63,64% dos casos, sendo a maioria com carbamazepina (27,27%). Isto diverge do recomendado pelos dos guias oficiais os quais indicam que os pacientes devem ser tratados com uma única droga antiepiléptica. Se o tratamento inicial não for bem sucedido, deve-se insistir na monoterapia, usando outra droga. No caso de falha persistente, pode-se tentar a associação de dois fármacos anticonvulsivantes^{25,28,29}.

Conclusão

O método desenvolvido apresenta limites de confiança adequados para a aplicação em estudos com amostras biológicas contendo fenobarbital. A preparação das amostras foi

simples baseou-se em extração líquido-líquido. A corrida cromatográfica teve tempo relativamente curto quando comparado com os da literatura. Além de não sofrer interferência de outros fármacos de uso comum dos pacientes, comprovando sua seletividade, precisão, exatidão.

O método mostrou-se adequado para aplicação clínica, sendo usado para dosar o fenobarbital em soro sanguíneo de 11 pacientes que fazem tratamento com este medicamento. A concentração encontrada em todos os pacientes foi subterapêutica e mostrou correlação com as condições clínicas dos mesmos. Assim, constata-se que o procedimento pode ser utilizado como teste de rotina para quantificar o fenobarbital em soro humano para estudos de monitoramento terapêutico. Nesse sentido, a monitorização terapêutica é útil para diagnóstico de tratamentos subterapêuticos, individualização da dose ou ajuste da dose terapêutica efetiva.

Referências

1. MACNAMARA JO. Farmacoterapia das Epilepsias. In: Brunton LL, editor. Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2006. p. 447-468.
2. Rang HP. Fármacos Antiepilépticos. In: Rang HP, DALE MM. Rang & Dale Farmacologia. 6nd ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012. p.540-52.
3. Larini L. Fármacos Anticonvulsivantes. In: Larini L. Fármacos & Medicamentos. Porto Alegre: Artmed; 2008. p. 349-362.
4. Arandas FS, Sena EP. Drogas Antiepilépticas. In: Silva P. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p.416-23.
5. Quintans-Júnior LJ, Mello LEAM. Métodos para avaliação de drogas anticonvulsivantes. In: Almeida RN. Psicofarmacologia: fundamentos práticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.168-178.
6. Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS nº 492, de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010
7. Santos SRCJ. Monitorização terapêutica. In: Moreau RLM, Siqueira MEPB.

- Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 261-4.
- 8 Machado RGP. Fenobarbital: determinação de fenobarbital em sangue, plasma ou soro por espectrofotometria. In: Moreau RLM, Siqueira MEPB. Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.261-64.
 - 9 MacMASTER MC. Advantages and Disadvantages of HPLC. In: HPLC, A Practical User's Guide. 2nd ed. Nova Iorque: Wiley & Sons, 2007.
 - 10 Brasil. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 27, de 17 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. Diário Oficial Da União. 2012 maio 22; seção 1. p. 93-5.
 - 11 Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. Quim. nova 2004; 27(5): 771-780.
 - 12 Cassiano NM, Barreiro JC, Martins LRR, Oliveira RV, Cass QB. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. Quim. Nova 2009; 32(4): 1021-1030.
 - 13 Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Diário Oficial da União, 2003 junho 02; seção I, p 56.
 - 14 ICH – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for registration of Pharmaceutical for Human use; Q2B-validation of Analytical procedure: methodology, 1996.
 - 15 Ribeiro FAL, Ferreira MMC, Morano SC, Silva LR, Schneider RP. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. Quim. Nova 2008; 31(1): 164-171.
 - 16 Instituto Nacional de Metrologia. Normalização e qualidade Industrial. Vocabulário Internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia. Duque de Caxias 1995.
 - 17 Chasin AAM, et al. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. Rev. bras. toxicol. 1998; 1(11): 1-6.

- 18 Mariz SR, Silva OA. Identificação de anfetamina em amostras de cabelo por imunofluorescência polarizada. *Rev. bras. ciênc. farm.* 2003; 39(1): 55-61.
- 19 Lanças M. Validação de métodos cromatográficos de análise. São Paulo: Rima; 2004.
- 20 Oliveira FGF, et al. Determinação simplificada de carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e lamotrigina em plasma e monitoração terapêutica por HPLC/PDA. *Rev. Ciênc. Farm Básica Apl.* 2013; 34(4): 519-526.
- 21 Patil KM, Bodhankar SL. Simultaneous determination of lamotrigine, phenobarbitone, carbamazepine and phenytoin in human serum by high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Ana.* 2005; 39: 181-6.
- 22 Chierentin L, Nunes Salgado HR. Development and Validation of a Simple, Rapid and Stability-Indicating High Performance Liquid Chromatography Method for Quantification of Norfloxacin in a Pharmaceutical Product. *J Chromat Separation Techniq.* 2013 4(2): 171.
- 23 Hahn RZ, Kreutz OC, Antunes MV, Linden R, Silva J, Silva, CA. Determinação simultânea de topiramato, carbamazepina, fenitoína e fenobarbital em plasma empregando cromatografia a gás com detector de nitrogênio e fósforo. *Quim. Nova.* 2013; 36(5): 720-724.
- 24 Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Formulário terapêutico nacional 2010: Rename 2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. p 698-701.
- 25 Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS nº 492, de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010.
- 26 Drug Interaction Report. Disponível em: <<http://www.drugs.com/interactions-check.php>>. Acesso em 14 ago 2014.
- 27 Secoli SR. Interações medicamentosas: fundamentos para a prática clínica da enfermagem. *Rev Esc Enf. USP* mar 2001; 35(1): 28-34.

- 28 Bragatti JÁ, Chaves MFL, Krug BC, Amaral KM. Epilepsia. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. São Leopoldo: Editora Pallotti, 2010: 147-179 ((7))

- 29 Rocha GP, Batista BH, Nunes ML. Orientações ao pediatra sobre o manejo das drogas psicoativas e antiepilépticas. J. Pediatr;. 2004; 80(2): 45-55. ((12))

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É sabido que o fenobarbital não é considerado como uma droga de eleição para o controle das crises epiléticas e que, de um modo geral, é desnecessária a monitorização terapêutica regular de pacientes em início de monoterapia farmacológica antiepilética.

Todavia, a análise dos dados coletados no HUAC entre 50 pacientes com crises epiléticas e usuários de fenobarbital no período de novembro de 2011 a setembro de 2012, permitiu compor um perfil clínico-social dos mesmos. Observou-se que o tempo médio de uso do fenobarbital foi 7,68 anos. Dos entrevistados, 74% estão sob monoterapia e 59,5% destes estão com suas crises controladas; nos pacientes sob politerapia o índice de controle das crises é de 23,07%. Correlacionando essas variáveis obteve-se um *OR* de 4,40. Entre os efeitos adversos destacam-se sedação e tontura, ambos com 34%. A monoterapia constituiu-se como fator de proteção para a “tontura” (*OR* de 3,15).

Nos estudos de validação o método mostrou-se seletivo, sensível, exato, preciso e adequado ao propósito de dosar o fenobarbital nas condições estabelecidas. Depois que o método foi validado analisou-se a amostra de soro de onze pacientes.

Nos pacientes analisados a concentração de fenobarbital mostrou-se abaixo da faixa terapêutica. Uma segunda amostra de um destes pacientes foi analisada de imediato. Nesta o fenobarbital continuou abaixo da faixa terapêutica. Assim excluiu-se a hipótese de que um longo intervalo entre a coleta e análise do soro, tenha provocado degradação do fenobarbital.

Assim, será feita uma comunicação oficial ao HUAC para que possa ser estabelecido correções específicas para cada paciente, individualizando a farmacoterapia através do monitoramento terapêutico e promoção de reajustes posológicos que eventualmente se façam necessários.

Almejamos, portanto, colaborar com a prevenção de intoxicações ou efeitos subterapêuticos e, por conseguinte, contribuir para a melhoria da saúde e qualidade de vida da nossa população e embasar futuras ações educativas destinadas à orientação dos usuários de fenobarbital.

4 REFERÊNCIAS

1. Banerjee PN, Hauser WA. Incidence and prevalence. In: Engel JRJ, Pedley TA, editors. *Epilepsy: a comprehensive textbook*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 45-56.
2. MAcNAMARA JO. Farmacoterapia das Epilepsias. In: Brunton LL, editor. *Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2006. p. 447-468.
3. Rang HP. Fármacos Antiepilépticos. In: Rang HP, DALE MM. *Rang & Dale Farmacologia*. 6nd ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012. p.540-52.
4. Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS nº 492, de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010
5. Quintans-Júnior LJ, Mello LEAM. Métodos para avaliação de drogas anticonvulsivantes. In: Almeida RN. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.168-178.
6. Larini L. Fármacos Anticonvulsivantes. In: Lariini L. *Fármacos & Medicamentos*. Porto Alegre: Artmed; 2008. p. 349-362.
7. Landry Y, Gies JP. Transmissions Gabaérgiques. In: Landry Y, Gies JP. *Pharmacologie: descibles vers l’indication thérapeutique*. 2nd ed. Paris: Dunod; 2003. p. 388-404.
8. Arandas FS, Sena EP. Drogas Antiepilépticas. In: Silva P. *Farmacologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p.416-23.
9. Machado RGP. Fenobarbital: determinação de fenobarbital em sangue, plasma ou soro por espectrofotometria. In: Moreau RLM, Siqueira MEPB. *Toxicologia Analítica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.261-64.
- 10 Brun Y. Chromatography, HPLC. In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. 3nd ed. Nova Iorque: Wiley & Sons, 2001.

- 11 MacMASTER MC. Advantages and Disadvantages of HPLC. In: HPLC, A Practical User's Guide. 2nd ed. Nova Iorque: Wiley & Sons, 2007.
- 12 Maldaner L, Jardim ICSF. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. *Quim. nova* 2009; 32(1). p. 214-222.
- 13 Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. nova* 2004; 27(5). p. 771-780.
- 14 Cassiano NM, Barreiro JC, Martins LRR, Oliveira RV, Cass QB. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. *Quim. nova*, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.
- 15 Santos SRCJ. Monitorização terapêutica. In: Moreau RLM, Siqueira MEPB. *Toxicologia Analítica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 261-4.
- 16 Önal A. Analysis of Antiretroviral Drugs in Biological Matrices for Therapeutic Drug Monitoring. *J Food Drug Anal* 2006; 14(2). p.99-119.
- 17 Rendón AL, Núñez M, Jiménez-Nácher I, González de Requena D, González-Lahoz J, Soriano V. Clinical Benefit of interventions driven by therapeutic drug monitoring. *HIV Med* 2005; 6(5). p. 360-365.
- 18 Pastore ME, Ofuchi AS, Nishiyama P. Monitorização terapêutica de fenobarbital. *Acta Sci. Health Sci.* 2007; 29(2): 125-131.
- 19 Varona J, Escribano E, Martín-Calderón JL. Fenobarbital: farmacocinética, toxicología y monitorización por el Laboratorio. *Rev. diagn. biol.* 2001; 50(1).p. 13-16.
- 20 Patil KM, Bodhankar SL. Simultaneous determination of lamotrigine, phenobarbitone, carbamazepine and phenytoin in human serum by high-performance liquid chromatography. *J. pharm. biomed. ana.* 2005; 39: 181-6.
- 21 Instituto Nacional de Metrologia. Normalização e qualidade Industrial. Vocabulário Internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia. Duque de Caxias 1995.
- 22 Chasin AAM, et al. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. *Rev. bras. toxicol.* 1998; 1(11): 1-6.

- 23 Mariz SR, Silva OA. Identificação de anfetamina em amostras de cabelo por imunofluorescência polarizada. *Rev. bras. ciênc. farm.* 2003; 39(1): 55-61.
- 24 United States Pharmacopeia 29ed. "Validation of compedial methods", U.S. Pharmacopeial convention, Rockville, cap 1225. 2006
- 25 Brasil. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 27, de 17 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. *Diário Oficial Da União.* 2012 maio 22; seção 1. p. 93-5.
- 26 Lanças M. Validação de métodos cromatográficos de análise. São Paulo: Rima; 2004.
- 27 Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". *Diário Oficial da União,* 2003 junho 02; seção I, p 56.
- 28 Ribeiro FAL, Ferreira MMC, Morano SC, Silva LR, Schneider RP. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Quim. Nova* 2008; 31(1): 164-171.
- 29 Chierentin L, Nunes Salgado HR. Development and Validation of a Simple, Rapid and Stability-Indicating High Performance Liquid Chromatography Method for Quantification of Norfloxacin in a Pharmaceutical Product. *J Chromat Separation Techniq.* 2013 4(2): 171.
- 30 Hahn RZ, Kreutz OC, Antunes MV, Linden R, Silva J, Silva, CA. Determinação simultânea de topiramato, carbamazepina, fenitoína e fenobarbital em plasma empregando cromatografia a gás com detector de nitrogênio e fósforo. *Quim. Nova.* 2013; 36(5): 720-724.

APÊNDICES

APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal de Campina Grande

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO CLÍNICO-LABORATORIAL DO USO DE FENOBARBITAL POR PACIENTES DO HUAC.

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu _____, residente na _____, portador da Cédula de identidade, RG _____, e inscrito no CPF/MF _____, nascido(a) em ____ / ____ / _____, abaixo assinado(a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário(a) da pesquisa **Estudo Clínico-Laboratorial do uso de Fenobarbital e/ou Fenitoína como anticonvulsivantes entre pacientes do HUAC**). Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente que:

- I) O estudo se faz necessário para que se possa desenvolver um método que melhore o uso do fenobarbital como anticonvulsivantes através da dosagem laboratorial dessas substâncias no sangue de pessoas que as utilizem por tempo prolongado para prevenir convulsões. O conhecimento dos níveis do medicamento no organismo do usuário poderá ajudar o médico a, periodicamente, rever sua prescrição, aumentando ou diminuindo a dose, conforme seja necessário, sem que para isso precise ver no paciente sinais e sintomas de intoxicação (excesso da droga no organismo) ou o surgimento de convulsões (falta da droga no organismo do paciente);
- II) Serão feitas coletas de 5 ml. de sangue, em dias diferentes ao longo do período da pesquisa (dezembro/2013 –julho/2011).
- III) Essa (s) coleta(s) serão feitas apenas para este estudo e em nada influenciará (influenciarão) o meu tratamento; não vão me curar; não vão me causar nenhum problema, exceto o pequeno incômodo de dor no momento da coleta (introdução da agulha para a retirada do sangue).
- IV) A participação neste projeto não tem objetivo de me submeter a um tratamento, bem como não me acarretará qualquer ônus pecuniário com relação aos procedimentos médico-clínico-terapêuticos efetuados com o estudo;
- V) Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
- VI) A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá a interferir no atendimento ou tratamento médico;

VII) Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;

VIII) Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimento dos resultados, ao final desta pesquisa

Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

IX) Observações Complementares: _____

X) Caso me sinta prejudicado (a) por participar desta pesquisa, poderei recorrer ao CEP/HUAC (Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do Hospital Universitário Alcides Carneiro), ao Conselho Regional de Medicina da Paraíba e à Delegacia Regional de Campina Grande.

Campina Grande, de de 201_

Paciente / Responsável.....

Testemunha 1 : _____ Nome / RG / Telefone

Testemunha 2 : _____ Nome / RG / Telefone

Responsável pelo Projeto: _____

Telefone para contato: _____

APÊNDICE II - FICHA DE COLETA DE DADOS

FICHA DE COLETA DE DADOS (PIVIC – ESTUDO CLÍNICO-LABORATORIAL DO USO DE FENOBARBITAL COMO ANTICONVULSIVANTES ENTRE PACIENTES DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ALCIDES CARNEIRO – HUAC)			
NOME:			NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO:
ENDEREÇO:			CONTATO:
IDADE:	GÊNERO:	PESO:	
ESCOLARIDADE:		ESCOLARIDADE DA MÃE:	
PROFISSÃO:			
DATA AGENDADA PARA COLETA:		DATA DA COLETA:	
DIAGNÓSTICO¹:		IDADE DO DIAGNÓSTICO:	
PATOLOGIAS ASSOCIADAS:			
IDADE DA PRIMEIRA CRISE CONVULSIVA:			
DATA DA ÚLTIMA CRISE CONVULSIVA:			
LOCAL DE ACOMPANHAMENTO²:			
DATA DA ÚLTIMA CONSULTA COM NEUROLOGISTA:			
DATA DA ÚLTIMA INTERNAÇÃO NO HUAC:			MOTIVO:
IDADE DE INÍCIO DO USO DO FNOBARBITAL:			
POSOLOGIA:			
DOSE INICIAL:		DOSE ATUAL:	
TEMPO DE USO:			
DATA DA ÚLTIMA ALTERAÇÃO POSOLÓGICA:			
FARMÁCO ASSOCIADO:		POSOLOGIA:	
FARMÁCO ASSOCIADO:		POSOLOGIA:	
FARMÁCO ASSOCIADO:		POSOLOGIA:	
FARMÁCO ASSOCIADO:		POSOLOGIA:	
APRESENTOU ALGUM DESSES SINTOMAS:			
ATAXIA () FADIGA () DISARTRIA () NISTAGMO () CEFALÉIA () TONTURA () SEDAÇÃO () DEPRESSÃO () TRANSTORNOS COMPORTAMENTAIS () PREJUÍZO COGNITIVO E DA CONCENTRAÇÃO () HIPERATIVIDADE ()			
DADOS CLÍNICOS RELEVANTES:			

¹Diagnóstico contido no prontuário. ²Local onde renova a receita.

Orientador: Saulo Rios Mariz – Sayonara Maria Lia Fook.

APÊNDICE III – ARTIGO 1 - ENVIADO PARA O PERIÓDICO BMC
RESEACH NOTES

PROFILE OF USERS OF PHENOBARBITAL AT THE UNIVERSITY HOSPITAL

ALCIDES CARNEIRO, BRASIL

PERFIL DE USUÁRIOS DE FENOBARBITAL NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

ALCIDES CARNEIRO, BRASIL

Palas Atenéia Dantas de Medeiros¹
Lídia Magda Rêgo Lima²
Nícia Stellita da Cruz Soares³
Gérson Bragagnoli⁴
Saulo Rios Mariz⁵
Sayonara Maria Lia Fook⁶

1. Graduate Program in Public Health. State University of Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil.

e-mail: palas.medeiros@ig.com.br

2. Graduating in Pharmacy. Department of Pharmacy. State University of Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil.

E-mail: lilirego@hotmail.com

3. Department of Pharmacy. State University of Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil.

e-mail: ns-soares@uol.com.br

4. Center for Biological Sciences and Health, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, PB, Brazil.

e-mail: gersongb@terra.com.br

5. Center for Biological Sciences and Health, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, PB, Brazil.

E-mail: sjmariz22@hotmail.com

6. Department of Pharmacy. State University of Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil.

E-mail: sayonarafook@hotmail.com

Institution where the study was conducted: Hospital Universitário Alcides Carneiro, Campina Grande, PB, Brazil.

Funding: Proeac / Proapex (Dean of Extension and Community Affairs / Extension Projects awarded with Extension scholarship), State University OF Paraíba. Process No. 03/2011, 2011-2013.

Correspondence Address ²: Rua G. Wilson de Oliveira, 19 C, Itararé. Campina Grande - PB - Brasil. CEP: 584111-116.

E-mail: palas.medeiros@ig.com.br

ABSTRACT

Introduction: This study characterized the profile of patients treated at the “Alcides Carneiro” University Hospital, users of phenobarbital in order to support actions of therapeutic drug monitoring. **Methods:** Fifty patients were interviewed using a standardized questionnaire. **Results:** It was observed that 50% of patients have been using the drug for a long time (7.68 years on average). About 74% of respondents are under monotherapy and 59.5% of these have their seizures controlled. The patients under monotherapy have more chance of success in controlling seizures. The main anticonvulsant drug combination observed was phenobarbital with carbamazepine (66% of patients). Sedation and dizziness are among the main adverse effects, reported by 34% of patients. Monotherapy seems to be a protective factor only for adverse effect dizziness (OR=3.1). **Conclusions:** The analysis of these and other results presented in this paper may be useful in promoting rational use of anticonvulsants at the hospital.

Phenobarbital. Anticonvulsants. Epilepsy. Drug Monitoring.

Introduction

Epilepsy is a chronic neurological disease that may be progressive in relation to cognitive disorders, frequency and severity of adverse events. Its incidence varies with age, gender, ethnicity, type of epileptic syndrome and socioeconomic conditions. It is estimated that epilepsy affects between 5 and 10 per 1000 persons, being associated with co-morbidities and premature mortality¹, in which about 30 % of patients are refractory to drug therapy^{2,3}.

Drug treatment is considered the main therapeutic resource for most cases of this disease, which purpose is to prevent seizures without causing adverse effects⁴. Three criteria are important for the decision to start anticonvulsant treatment: risk of seizure recurrence, consequences of continuing seizures for the patient and the relationship between efficacy and adverse effects of the drug chosen for treatment^{2,5}.

Worldwide, phenobarbital is used as antiepileptic drug (AED), especially in developing countries at low cost. However, it is no longer considered drug of choice due to concerns about adverse effects⁶.

In Brazil, the Ministry of Health recently launched a guide with official recommendations for anticonvulsant pharmacotherapy. In this protocol, in most cases phenobarbital is no longer the drug of choice; however, it remains indicated for the treatment of focal or generalized seizures in patients of any age, including infants. In addition, the guide

indicates that this drug should be used with an initial dose of 50 mg / day, adding 50 mg / day each week until reaching seizure control, respecting the limit of 300 mg / day. In case of failure of the first drug, it should be gradually replaced by a first-choice drug, keeping monotherapy. Persisting the difficulty in controlling seizures, the combination of two anticonvulsant drugs must be used^{2,7}.

Phenobarbital is still widely used as anticonvulsant, especially in public health care, not only due to its effectiveness in controlling certain types of seizures, but also in particular due to its low cost. However, due to the pharmacokinetic variability of phenobarbital associated with its narrow therapeutic options (15 to 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$), there are significant risks for adverse effects upon prolonged use of such drug, which leads to the need for therapeutic drug monitoring⁸.

The knowledge of clinical and socioeconomic profile of patients with epilepsy under pharmacotherapy is an important initial step to support future actions of clinical and laboratory monitoring of anticonvulsants. In this context, the present study aimed to know the socioeconomic and clinical profile of epileptic patients, users of phenobarbital as anticonvulsant at the “Alcides Carneiro” University Hospital (HUAC).

Material and Methods

This research is characterized as descriptive, analytical, cross-sectional and documentary, which analyzed users of the HUAC neurology service diagnosed with epilepsy who at the time of data collection, had been using phenobarbital for over a month. Women known to be pregnant and patients who discontinued use of phenobarbital were excluded.

Data collection occurred from October 2011 to September 2012 through a retrospective study of medical records. Then, interviews were scheduled with patients who met the inclusion criteria. Patients were interviewed using a standardised questionnaire. This questionnaire has been validated for the study, design by piloto. The research variables were both socioeconomic and clinical.

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Science (SPSS) version 17.0. The research project was approved by CEPE-HUAC (Process No. 20110508) and all participants signed an informed consent.

Results and Discussion

The total of 125 patients enrolled in the service of neurologia HUAC, fifty (40%) were interviewed. Only 27 (54 %) of these were residents in Campina Grande. However, the vast majority (90 %) were from the middle semiarid region of Paraíba, including patients from Borborema (8 %) and Sertão (2 %), state of Paraíba. This finding reflects the regional impact of the neurology service provided by the HUAC. Thus, the relevance of implementing an anticonvulsant drug therapy monitoring service at HUAC as a strategy of pharmacotherapy optimization could be estimated.

Regarding gender, there was a slight predominance of females (58 %). This fact is not very relevant, considering that there are no records of a significantly higher prevalence of epilepsy among women, a result also described by another study evaluating 782 patients, which found 55% of women⁹. Other survey also showed predominance of females (56.9 %) ⁸. This higher percentage of women with epilepsy may be related to the population studied, since according to the 2010 Census of the Brazilian Institute of Geography and Statistics ¹⁰, the city of Campina Grande has 52.70% of females.

The age of patients interviewed in the study (Figure 1) showed slight predominance of children aged up to 10 years, with a relative balance in the other age groups. This age profile is ratified by the fact of knowing that although seizures can occur at any age, they occur mainly in early life. Studies have reported that up to 20 years of age, 78 % to 90 % of individuals who will be epileptic have started their seizures and, among children, 60 % had their first seizure up to the age of three, most occurring in the first year of life^{9,11}. Thus, when finding that most of our patients are children or young people, we emphasized the importance of the service offered because it is aimed at people who will live with the disease for a long time or who are at the most productive stages of their lives, including economically.

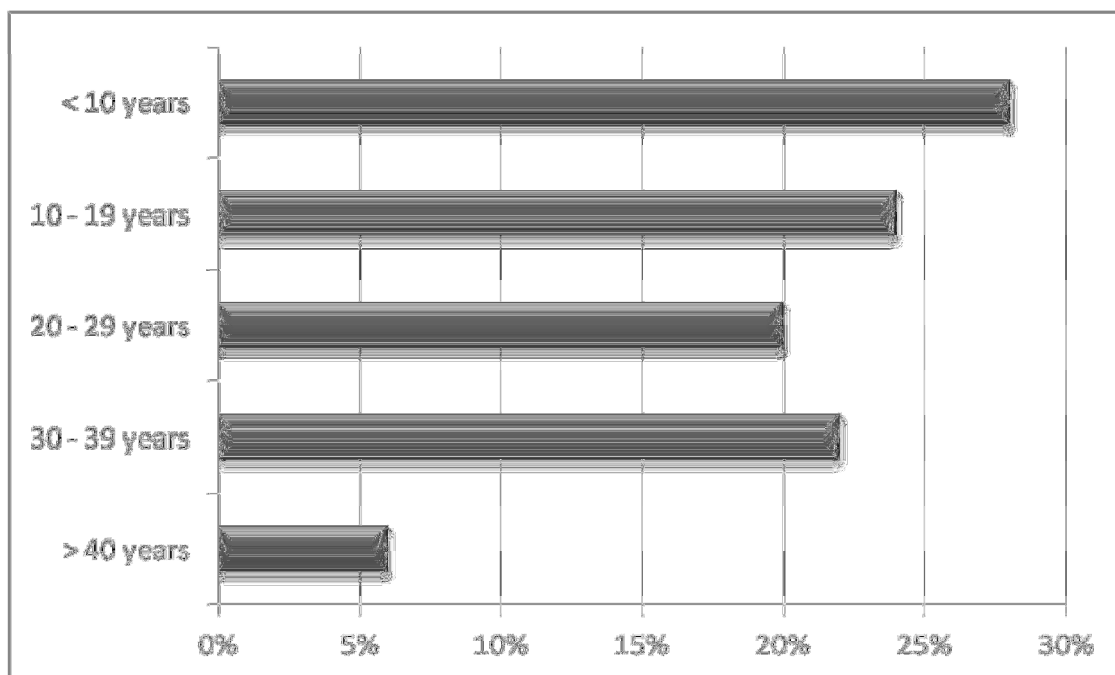


Figure 1. Percentage distribution of patients interviewed regarding age.

Regarding educational level, the sample was predominantly composed of individuals who have studied up to basic education. This result is consistent with findings of other studies^{9,11}. This can be explained by the poor socioeconomic profile of patients treated in public hospitals, which impairs their continuity in the educational system. Furthermore, the predominant educational level generates the expectation that patients have better conditions to adhere to a call for them to act in a more protagonist way in relation to treatment and relationship with the disease.

The seizure frequency in patients ranged from one seizure every two years and thirty-five seizures per day. This variability in seizure frequency among users of phenobarbital is an evidence of difficulties in drug therapy control.

According to the Ministry of Health, the patient is considered free of seizures when they do not occur for at least two year during treatment with unchanged drug dose². According to this criterion, 50 % of our patients have controlled seizures.

The official guides report that in an ideal way, patients should be treated with a single antiepileptic drug (AED). If the initial treatment is not successful, monotherapy should be maintained using another drug. In the case of persistent failure, the combination of two anticonvulsant drugs must be used^{2,7,12}.

When observing the sample data, it was observed that the majority of patients (74%)

are under monotherapy. This fact is in accordance with recommended guidelines ². Moreover, it is clear that among patients receiving monotherapy, 59.5 % had their seizures controlled; whereas among the 26 % who are under polytherapy, only 23.07 % had their seizures controlled. The most common association is with carbamazepine, occurring in 66.66 % of cases.

It is noteworthy that by correlating these two variables (combination with other anticonvulsants and seizure control), Odds Ratio of 4,400 is obtained, which means that the chances of a patient under monotherapy to present controlled seizure is 4.4 times higher compared to patients under polytherapy, confirming the inefficiency of the simultaneous use of more than one anticonvulsant drug for seizure control. This fact, observed in our patients, is not consistent with studies of Pastore et al.⁸ (2007), but is corroborated by Li et al. (2005)¹³.

The analysis of these data indicates that the treatment received by patients, although seeming appropriate, may be optimized with data of laboratory dosages of blood phenobarbital concentrations in such patients.

It is known that phenobarbital increases the biotransformation of drugs such as haloperidol, phenytoin, carbamazepine, omeprazole, prednisone (corticosteroids) and vitamin D ^{14,15}. Considering that carbamazepine is the main anticonvulsant that has been associated with phenobarbital among our patients, the importance of therapeutic drug monitoring is once again stressed.

Among the risk factors for epilepsy, the most prevalent was the use of alcohol followed by traumatic brain injury (TBI) (Figure 2), in which the vast majority of cases show no definite cause. The data obtained here are in agreement with other studies ^{11,16}.

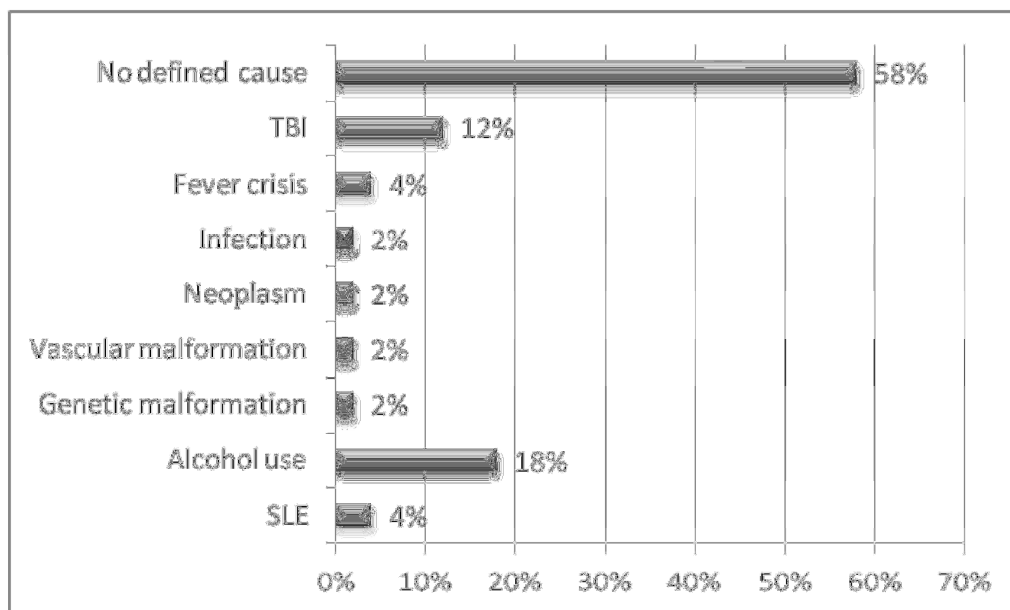


Figure 2. Percentage distribution of patients interviewed regarding risk factors.

* TBI - traumatic brain injury; SLE - systemic lupus erythematosus.

The prevalence of seizures in alcohol abusers who use phenobarbital is at least three times that of non-alcoholics and excessive alcohol intake keeps a close relationship with the occurrence of seizures¹⁷. It should be noted that the consumption of alcohol concomitantly with phenobarbital may enhance the sedative effect of the drug, since ethanol is also an inhibitor of the Central Nervous System. In addition, ethanol is also an enzyme inducer, including for phenobarbital biotransforming enzymes, which can result in loss of their biological action, thus harming the anticonvulsant effectiveness of the drug¹⁸.

These data on alcohol use and seizures once again show the importance of therapeutic drug monitoring for these patients, including associated with educational activities, since alcohol consumption is common in the population and can influence the treatment and control of seizures.

When questioning patients on adverse events related to the use of phenobarbital, the main responses are illustrated in Figure 3. Only 26 % of respondents reported no adverse effects. This fact gains greater relevance when considering the time of use of this drug, which averaged 7.77 years.

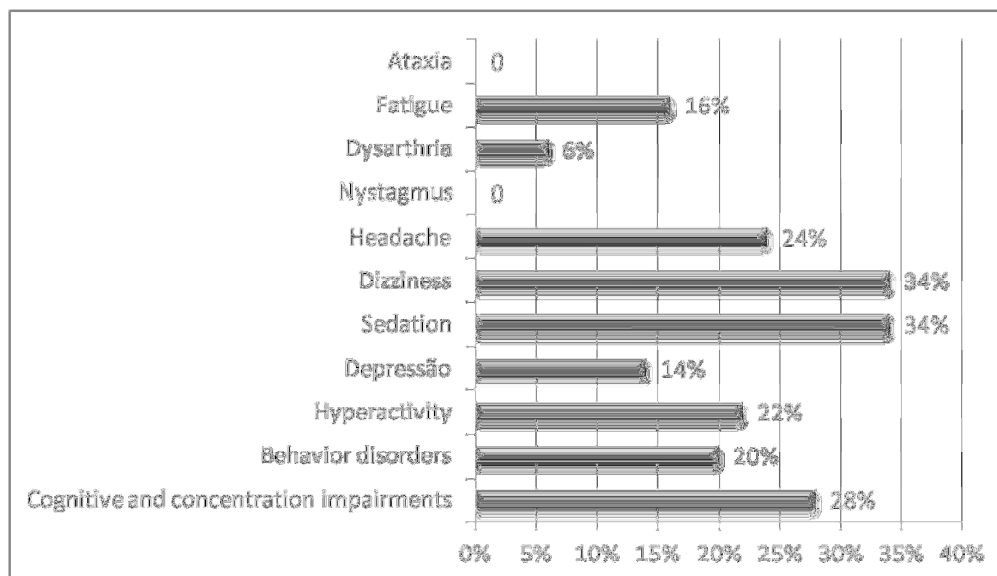


Figure 3. Percentage distribution of patients interviewed regarding problems related to the use of anticonvulsant drug.

A systematic review including twenty studies found that there was no evidence to suggest that phenobarbital causes more adverse events compared with carbamazepine, valproic acid or phenytoin ¹⁹. In another study, it was concluded that there was no evidence for an excess of adverse behavioral effects of phenobarbital over other anticonvulsant drugs ²⁰.

When analyzing the correlation between each of the adverse effects of phenobarbital to the proportion of patients under monotherapy and polytherapy, there was no statistically significant results, except for dizziness, where it was observed that monotherapy is a protective factor, with Odds Ratio of 3.1, i.e., patients on polytherapy presented risk more than three times higher to have dizziness when compared to those on monotherapy.

The time of epilepsy treatment is, in general, unpredictable. It may be interrupted due to treatment failure or complete remission of seizures. The reassessment period is three months ². Of the patients surveyed, 50 % have made use of phenobarbital for over five years (Figure 4).

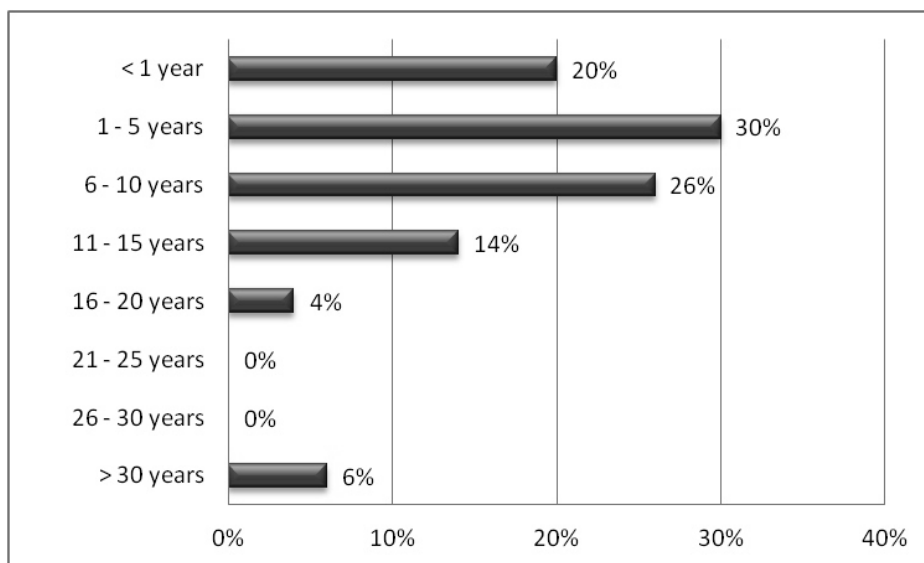


Figure 4. Percentage distribution of patients interviewed regarding the time of use of fenobarbital.

When correlating the time of use of the study drug, grouping respondents within five years of use and those that have used it for more than five years with reports of adverse effects (Table 1), no statistical significance was found ($p = 0.33$). That is, despite the prevalence of patients reporting adverse events to be 12 % higher among those who have used the drug for more than five years, one cannot say that this pattern of use is a risk factor for the onset of adverse effects.

Table 1. Relationship between time of use of phenobarbital and prevalence of adverse effects among respondents.

Time of use of phenobarbital	Adverse effects		
	YES	NO	TOTAL
Up to 5 years	68 % (17)	32 % (8)	100 % (25)
More than 5 years	80% (20)	20% (5)	100% (25)
Total	74% (37)	26% (13)	100 % (50)

Studies suggest worse quality of sleep in patients with epilepsy and alterations in the sleep-wake cycle and in the macro and microstructure of sleep. Epilepsy and sleep have several neurophysiological mechanisms in common ^{21, 22}.

Nevertheless, in the present study, 92 % of respondents reported sleeping well or very well. This fact can be explained by the fact that the majority of patients take phenobarbital

before bedtime, given that sleepiness is one of the most common effects of this drug.

Conclusion

The analysis of data collected at HUAC from 50 patients with seizures and users of phenobarbital allowed composing a profile that seems to indicate important peculiarities.

Half of patients reported controlled seizures, with the vast majority (74 %) being under monotherapy. Among these, the chance of seizure control is 4.4 times higher than those under polytherapy. Patients reported mainly dizziness (34 %) and sedation (34 %) as adverse effects, and those under monotherapy were 3.3 times less likely to have dizziness.

Thus, we believe that this study is of great use for supporting actions to optimize the use of fenbarbital in our region, both in educational as in the clinic aspect with the proposition of dosage adjustments and / or modifications in the treatment regimen adopted.

Competing interests

The authors have no affiliation with any organization with a direct or indirect financial interest in the subject matter discussed in the manuscript

Authors' contributions

PADM: contributions in inteipretação collected data and final editing of the text. LMRL: contributions in designing the research project, data collection and final wording of article. NSCS: Critical revision of the intellectual content.GB: participated in the assembly of the database and the statistical analysis of article. SEM: author of the idea that led to the work, preparation of estrututuração hypotheses and the method of research, coordination of the group that performed the work. SMLF: substantial contributions to conception of the idea of research, interpretation of data collected and the final wording of the text. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

The authors would like to thank Proeac / Proapex (UEPB) for funding this research and patients at the “Alcides Carneiro” University Hospital (UFCG).

References

1. Bartmann AP, Sander JW. Epilepsy treatment: a paradigm shift is urgently need. *Arq. Neuro-Psiquiatr.*; 2013; 71(3): 180-182.
2. Brasil. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS nº 492, de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010.
3. Maranhão VMM, Gomes EA, Carvalho PE. Epilepsia e Anestesia. *Rev. Bras. Anesthesiol.*; 2011; 61(2): 232-54.
4. Tomson T, Dahl M-L, Kimland E. Therapeutic monitoring of antiepileptic drugs for epilepsy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 5, Art. No. CD002216. DOI: 10.1002/14651858.CD002216.pub1.
5. Moreira SRG. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento. *Mental*; 2004; II(3): 107-122.
6. Nolan SJ, Tudur SC, Pulman J, Marson AG. Phenobarbitone versus phenytoin monotherapy for partial onset seizures and generalised onset tonic-clonic seizures. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 5, Art. No. CD002217. DOI: 10.1002/14651858.CD002217.pub4.
7. Bragatti JÁ, Chaves MFL, Krug BC, Amaral KM. Epilepsia. *Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas*. São Leopoldo: Editora Pallotti, 2010: 147-179
8. Pastore ME, Ofuchi AS, Nishiyama P. Monitorização terapêutica de fenobarbital. *Acta Sci. Health Sci.*; 2007; 29(2): 125-131.
9. Kodjaoglanian VL, Souza ER, Lopes JRRA, Morgado AF. Epilepsia: dados básicos de

um serviço público do Rio de Janeiro. *Cad. Saúde Pública*; 1986; 2(2): 227-240.

10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico de 2010.
11. Calvano LA, Araújo DCLA, Mendonça RLB, Xavier RC, Silva OF, Trindade Filho EM. Epidemiologia das Epilepsias na População da Cidade de Maceió – Alagoas. *Neurobiologia*;jan/mar 2010; 73(1).
12. Rocha GP,Batista BH, Nunes ML. Orientações ao pediatra sobre o manejo das drogas psicoativas e antiepilépticas. *J. Pediatr.*; 2004; 80(2): 45-55.
13. Li ML, Fernandes PT, Mory S, et al. Manejo da epilepsia na rede básica de saúde no Brasil: os profissionais estão preparados? *Pan.Am. J.Public Health*; 2005; 18: 296–302.
14. Bortolini LGC, Carolina AM, Kulak CAM, Borba VZC, Silvado CE, Boguszewski CL. Efeitos endócrinos e metabólicos das drogas antiepilépticas. *Arq. Bras.Endocrinol.Metab.*; 2009; 53(7).
15. Ross JB, Frank IT. Fármacos e o Tratamento dos Transtornos Psiquiátricos. Brunton LL. Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil 2007: 365-390.
16. Rigatti M, Trevisol-Bittencourt PC. Causas de epilepsia tardia em uma clínica de epilepsia do estado de Santa Catarina. *Arq. Neuro-Psiquiatr.*;1999; 57: 787-792.
17. Palmi A. Impacto do uso e do abuso de álcool nas epilepsias e nas crises epiléticas: implicações terapêuticas. *Rev. bras. clín. ter.*; 2007; 33(1): 9-14.
18. Griffin EA, Lowenstein DH. Farmacologia da Neurotransmissão elétrica anormal no Sistema Nervoso Central. In: Griffin EA, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. Princípios de Farmacologia – A base fisiopatológica da Farmacoterapia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009: 203-216.
19. Zhang LL, Zeng LN, Li YP. Side effects of phenobarbital in epilepsy: a systematic review. *Epileptic Disord.*; 2011; 13(4): 349-365.
20. Pal DK. Phenobarbital for childhood epilepsy: systematic review. *PediatrPerinat Drug Ther.*; 2006; 7(1): 31–42.

21. Vidotto GAF, Liberalesso PBN, Farias AC, Jurkiewicz AL, Zeigelboim BS, Löhr Júnior A. Estudo Comparativo Entre a Qualidade do Sono em Crianças de 7 a 15 anos com Epilepsia Clinicamente. *J. epilepsy clin. Neurophysiol.*; 2008; 14(4): 156-161.

22. Barreto JRS, Fernandes RMF, Sakamoto AC. Correlation of sleep macrostructure parameters and idiopathic epilepsies. *ArqNeuropsiquiatr.*; 2002; 60(2-B): 353-357.

APÊNDICE IV – RESUMO PUBLICADO XVIII CONGRESSO
BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA, 2013.

**PERFIL DE USUÁRIOS DE FENOBARBITAL NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
ALCIDES CARNEIRO (HUAC).**

FOOK, S. M. L.¹; LIMA, L. M. R.¹; MEDEIROS, P.A.D.²; SOARES, N.S.C.¹;
BRAGAGNOLI, G.³; MARIZ, S.R.³.

¹ Departamento de Farmácia. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB; ² Programa de Pós-graduação em Saúde Pública. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB; ³ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB.

Introdução: A epilepsia é uma doença neurológica crônica sendo que de 0,5 a 1,0% da população mundial apresenta epilepsia ativa^{1, 2}. O tratamento medicamentoso é o principal recurso para o controle das convulsões. Entre os fármacos anticonvulsivantes, o fenobarbital ainda é muito usado principalmente na rede pública pela sua eficácia em controlar alguns tipos de crises convulsivas e também pelo seu baixo custo¹.

Objetivo: Caracterizar o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes atendidos no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC), que usem fenobarbital como anticonvulsivante, a fim de subsidiar futuras ações de monitorização terapêutica.

Materiais e Métodos: Estudo descritivo, transversal e documental, do qual participaram pacientes epiléticos atendidos pelo serviço de neurologia do HUAC e que, no momento da coleta de dados, usavam fenobarbital por mais de um mês. Foram excluídas mulheres grávidas. No período de outubro de 2011 a setembro de 2012 entrevistaram-se 50 pacientes. As variáveis da pesquisa foram socioeconômicas e clínicas. O projeto foi aprovado pelo CEPE-HUAC (processo nº 20110508).

Resultados e Discussão: Observou-se um predomínio do gênero feminino (58%); de pacientes com menos de 10 anos (28%) e que estudaram até o ensino fundamental (64%). O tempo médio de uso do fenobarbital foi de 7,68 anos. Mais da metade dos entrevistados (74%) está sob monoterapia e 59,5% destes possuem suas crises controladas. Entre os pacientes sob politerapia (26%) o índice de controle das crises é de 23,%. Ao calcularmos o *Odds Ratio* para essas duas variáveis obtivemos um valor de 4,4, o que significa que a chance de um paciente em monoterapia apresentar controle das crises é mais do que 4 vezes maior que um paciente em politerapia, sugerindo a ineficiência da associação medicamentosa em tais casos. A principal associação observada foi: fenobarbital com carbamazepina (66,66%). Entre os efeitos adversos relatados destacam-se sedação e tontura (34%). A monoterapia parece se constituir como fator de proteção apenas para o efeito adverso “tontura” (*Odds Ratio* de 3,15).

Conclusão: A análise dos resultados poderá ser útil no direcionamento de estratégias de monitorização terapêutica do fenobarbital para a prevenção de problemas relacionados ao seu uso e promoção do uso racional de anticonvulsivantes no HUAC.

Referências:

1. BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria SAS-MS n.492 de 23 de setembro de 2010. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – epilepsia. 2010.
2. MARANHÃO, V. M. M.; GOMES, E. A.; CARVALHO, P. E. Epilepsia e Anestesia. Revista Brasileira de Anestesiologia. v.61, n. 2, p. 232-254, mar/abril. 2011.

ANEXO

ANEXO A – DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO
COMITÊ DE ÉTICA



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS - CEP
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ALCIDES CARNEIRO - HUAC



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que em reunião de 31/ 08/ 2011 foi aprovado o **Processo nº. 20110508 – 028** intitulado: **Estudo Clínico – Laboratorial do uso de Fenobarbital como anticonvulsivante entre pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC).**

Projeto a ser realizado no período de: Setembro de 2011 a Julho de 2012.

Estando o pesquisador ciente de cumprir integralmente os itens da Resolução nº. 196/ 96 do Conselho Nacional de Saúde – CNS, que dispõe sobre Ética em Pesquisa que envolve seres humanos, podendo sofrer penalidades caso não cumpra com um dos itens da resolução supra citada.

Após conclusão da pesquisa deve ser encaminhado ao CEP/ HUAC, em 30 dias (trinta dias), relatório final de conclusão, antes de envio do trabalho para publicação. Haverá apresentação pública do trabalho no Centro de Estudos HUAC em data a ser acordada entre pesquisador e CEP/ HUAC.

Karynna Magalhães Barros da Nóbrega
Coordenadora CEP/ HUAC/ UFCG.

Campina Grande - PB, 02 de Setembro de 2011.

Rua.: Dr. Carlos Chagas, s/ n, São José, Campina Grande – PB.
Telefone.: (83) 2101 – 5545. E-mail.: cep@huac.ufcg.edu.br

ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1 AO PERIODICO BMC RESEARCH NOTES

