

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS

MESTRADO PROFISSIONAL EM PESQUISA CLÍNICA

FLÁVIA REGINA MEDEIROS DA SILVA

DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO MÉTODO QUANTITATIVO ECO G6PD
***Point of Care* EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS**

Rio de Janeiro

2022

FLÁVIA REGINA MEDEIROS DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO MÉTODO QUANTITATIVO ECO G6PD
Point of Care EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) para obtenção do grau de Mestre em Pesquisa Clínica.

Orientadores:

Prof. Dra. Simone da Costa Cruz Silva

Prof. Dr. Alexandre Gomes Vizzoni

Rio de Janeiro

2022

FLÁVIA REGINA MEDEIROS DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO MÉTODO QUANTITATIVO ECO G6PD
Point of Care EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) para obtenção do grau de Mestre em Pesquisa Clínica.

Orientadores:

Prof. Dra. Simone da Costa Cruz Silva

Prof. Dr. Alexandre Gomes Vizzoni

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos de Abreu Almeida (Presidente)
Doutor em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - FIOCRUZ

Prof. Dra. Yasmine Rangel Vieira (Membro e Revisora)
Doutora em Biologia Parasitária
Instituto Bio-Manguinhos - FIOCRUZ

Prof. Dra. Helena Keiko Toma (Membro)
Doutora em Biologia Parasitária
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Dra. Renata Monteiro Maia (Membro)
Doutora em Biologia Celular e Molecular
Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Ao meu filho, Miguel Henrique.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por ter me sustentado e permitido chegar até aqui, apesar dos percalços.

À minha família, especialmente minha mãe pela ajuda com o Miguel nos momentos necessários.

Ao meu filho Miguel, que apesar de pequeno, muito me incentivou e se privou principalmente de meu carinho e atenção em alguns momentos.

À minha vizinha Isaura, que desde muito cedo me incentivou e mostrou que qualquer mudança que eu almejasse na vida, só viria através do estudo e conhecimento.

Às Dras. Helena Keiko e Yasmine Rangel pelas valiosas contribuições que só fizeram engrandecer o nosso trabalho.

Ao amigo Raul Leal, sempre disposto ajudar, além de sempre ter uma palavra de carinho e incentivo.

Aos professores do Mestrado Profissional, pelos ensinamentos, empenho e dedicação.

Aos amigos da Agência Transfusional do INI/Fiocruz, Fernando, Dra. Daniela Palheiro e Dra. Joana Bokel por todo apoio e incentivo. Especialmente ao meu chefe e orientador Dr. Alexandre Vizzoni, por todo incentivo, ajuda e apoio incondicional que foram imprescindíveis para realização deste projeto.

À minha orientadora Dra. Simone da Costa Cruz Silva, pela orientação e pela imensa e valorosa contribuição e ensinamentos.

Gratidão!

“Todo progresso acontece fora da
zona de conforto”.

(Michael John Bobak)

SILVA, F.R.M. DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO MÉTODO QUANTITATIVO ECO G6PD *Point of Care* EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS. Rio de Janeiro, 2022. 73 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

RESUMO

A deficiência de G6PD afeta cerca de 500 milhões de pessoas em todo o mundo e é prevalente em muitos ambientes endêmicos de malária. Pessoas com deficiência de G6PD correm risco de hemólise quando expostas a certos medicamentos, incluindo medicamentos de 8-aminoquinolina usados para tratar a *malária por Plasmodium vivax*. O aumento do acesso aos testes para deficiência de G6PD no local de atendimento ou próximo é fundamental para expandir o tratamento seguro da malária por *P. vivax*. O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho de um teste quantitativo para deficiência de G6PD, o ECO G6PD *Point of Care*, em um local de referência para tratamento de doenças infectocontagiosas, principalmente de malária, no Rio de Janeiro. O teste foi avaliado em amostras de sangue venoso de 125 indivíduos após cumprirem critérios de inclusão no estudo. Os resultados mostram que o teste teve uma sensibilidade de 80%, especificidade de 96,3%, valor preditivo positivo de 75%, valor preditivo negativo de 97,2% e uma acurácia de 94,4%, demonstrando um desempenho superior ao teste de referência em sua capacidade de diagnosticar a deficiência de G6PD. O teste STANDARD G6PD é uma ferramenta promissora para auxiliar na detecção da deficiência de G6PD, principalmente em locais de difícil acesso ou em situações em que o resultado do exame seja um critério valioso para a tomada de decisão clínica no atendimento de enfermidades infecciosas.

Palavras-chave: Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase; Anemia hemolítica, Diagnóstico laboratorial; Favismo.

SILVA, F.R.M. DETERMINING THE ACCURACY OF THE ECO G6PD QUANTITATIVE *POINT OF CARE* METHOD IN PATIENTS WITH INFECTIOUS DISEASES. Rio de Janeiro, 2022. 73 p. Dissertation (Professional Master in Clinical Research in Infectious Diseases) – National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation.

ABSTRACT

G6PD deficiency affects about 500 million people worldwide and is prevalent in many malaria-endemic areas. People with G6PD deficiency are at risk of hemolysis when exposed to certain medications, including 8-aminoquinoline drugs used to treat *Plasmodium vivax* malaria. Increasing access to testing for G6PD deficiency at or near the point of care is critical to expanding the safe treatment of *P. vivax* malaria. The objective of this study was to evaluate the performance of a semiquantitative test for G6PD deficiency, the ECO G6PD *Point of Care*, in a reference site for the treatment of infectious diseases, especially malaria, in Rio de Janeiro. The test was evaluated in venous blood samples from 125 individuals after meeting study inclusion criteria. The results show that the test had a sensitivity of 80%, specificity of 96.3%, a positive predictive value of 75%, a negative predictive value of 97.2%, and an accuracy of 94.4%, demonstrating a higher performance to the reference test in its ability to diagnose G6PD deficiency. The STANDARD G6PD test is a promising tool to aid in the detection of G6PD deficiency, especially in hard-to-reach locations or in situations where the test result is a valuable criterion for clinical decision making in the care of infectious diseases.

Keywords: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; Hemolytic anemia; Laboratory diagnosis; Favism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 – Síntese de NADPH pela via das pentoses por ação da enzima G6PD e 6-fosfogluconato desidrogenase	15
Figura 2 – Localização do gene G6PD no cromossomo X	16
Figura 3 – Genética da deficiência de G6PD	17
Figura 4 – Ação da G6PD no processo de eliminação do peróxido de hidrogênio nas hemácias	18
Figura 5 – Corpos de Heinz: precipitados de hemoglobinas desnaturadas no interior das hemácias em resposta ao estresse oxidativo	19
Figura 6 – Distribuição epidemiológica global da deficiência de G6PD	20
Figura 7 – Conversão da hemoglobina em metahemoglobina e reconversão pela ação do azul de metileno através do Método de Brewer	31
Figura 8 – Interpretação visual do método de Brewer	40
Figura 9 – Representação do teste SD Biosensor STANDARD G6PD e principais recursos na tela do aparelho após a finalização do teste: atividade enzimática da G6Pd normalizada pela hemoglobina, concentração da hemoglobina da amostra analisada, data da execução do teste e código numérico que armazena na memória do dispositivo os resultados realizados previamente, permitindo a captura das informações.	40
Figura 10 – Demonstração do Método ECO G6PD <i>Point of Care</i>	42
Figura 11 – Principais indicações clínicas para solicitação do teste de deficiência de G6PD	46

QUADROS

Quadro 1- Agentes capazes de causar hemólise em portadores de deficiência de G6PD	24
Quadro 2 – Classificação da atividade de G6PD segundo à OMS	26
Quadro 3 – Distribuição das alíquotas de amostras e reagentes no teste de Brewer.	39
Quadro 4 – Caracterização da deficiência de G6PD conforme valor de U/g Hb encontrado no teste.	42

TABELAS

Tabela 1 – Graus de intensidade do índice Kappa.	43
Tabela 2 – Análise descritiva dos participantes do estudo.	45
Tabela 3 – Desempenho diagnóstico da deficiência de G6PD entre os sexos	47
Tabela 4 – Tabela de contingência da análise comparativa entre o método de Brewer e o G6PD Point of Care no diagnóstico da deficiência de G6PD.	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetil salicílico
AHA	Anemia hemolítica aguda
AHAI	Anemia hemolítica autoimune
AHNE	Anemia hemolítica não esferocítica
ATP	Adenosina trifosfato
BCIP	5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-cético
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GSHS	Glutathiona oxidada
GSH	Glutathiona reduzida
Hb	Hemoglobina
IC	Intervalo de confiança
INI	Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
µL	Microlitros
NADP	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida, forma reduzida
NBT	Nitro azul tetrazólio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
POC	<i>Point of Care</i>
POP	Procedimento Operacional Padrão
SGAR	Serviço de Gestão de Amostras e Resultados
SH	Grupo sulfidril
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TQDR	Teste qualitativo de diagnóstico rápido
U/g	Unidade por grama
VVP	Valor preditivo positivo
VPN	Valor preditivo negativo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	FUNÇÃO DA G6PD	14
1.2	ESTRUTURA E GENÉTICA DA G6PD	16
1.3	PAPEL DA G6PD NAS HEMÁCIAS	17
1.4	EPIDEMIOLOGIA DA DEFICIÊNCIA DE G6PD	19
1.4.1	Epidemiologia da deficiência de G6PD no Brasil	21
1.5	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DEFICIÊNCIA DE G6PG	22
1.5.1	Anemia hemolítica aguda (AHA)	22
1.5.1.1	Favismo	22
1.5.1.2	Anemia hemolítica aguda causada por medicamentos	23
1.5.1.3	Anemia hemolítica causada por infecções	25
1.5.1.4	Anemia hemolítica não esferocítica (AHNE)	25
1.5.1.5	Icterícia neonatal	26
1.6	CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DE G6PD SEGUNDO A OMS	26
1.6.1	Classe I	27
1.6.2	Classe II	27
1.6.3	Classe III	27
1.6.4	Variante classe IV	28
1.6.5	Variante Classe V	28
1.7	DIAGNÓSTICO	28
1.7.1	Teste de Brewer	30
1.7.2	Ensaio citoquímico	31
1.7.3	Ensaio espectrofotométrico	31
1.7.4	<i>Fluorescent spot test</i>	31
1.7.5	Análise por biologia molecular	32
1.7.6	BinaxNow G6PD (Iverness Medical)	32
1.7.7	Carestart G6PD (Acess Bio)	32
1.7.8	ECO G6PD <i>Point of Care</i>	33
2	JUSTIFICATIVA	34
3	OBJETIVOS	36
3.1	OBJETIVO PRINCIPAL	36

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4 METODOLOGIA	37
4.1 DESENHO DO ESTUDO	37
4.2 TAMANHO AMOSTRAL.....	377
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	37
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	38
4.5 COLETA DAS AMOSTRAS	38
4.6 DETERMINAÇÃO LABORATORIAL DA DEFICIÊNCIA DE G6PD	39
4.6.1 Técnica do Método de Brewer.....	39
4.6.1.2 Interpretação dos Resultados.....	39
4.6.2 Método ECO G6PD <i>Point of Care</i>	40
4.6.2.1 Técnica do método ECO G6PD <i>Point of Care</i>	41
4.6.3 Análise dos dados.....	43
4.7 ASPECTOS ÉTICOS	43
5 RESULTADOS	44
5.1 DADOS DEMOGRÁFICOS	44
5.2 TESTES LABORATORIAIS	47
6 DISCUSSÃO.....	50
7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	54
8 CONCLUSÃO.....	55
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXO A	61
APÊNDICE A	63
APÊNDICE B	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 FUNÇÃO DA G6PD

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é uma enzima citoplasmática, importante no metabolismo das hemácias e responsável pela manutenção de sua integridade funcional. A deficiência de G6PD afeta aproximadamente 500 milhões de pessoas em todo o mundo (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020a; PAKPARNICH et al., 2021a; ZOBRIST et al., 2021).

Descrita pela primeira vez em 1956, a deficiência de G6PD foi detectada em negros americanos que apresentaram crise hemolítica após uso do antimalárico primaquina. O sintoma observado foi de hemólise intravascular em 10% dos soldados negros e cerca de 2% nos soldados de origem mediterrânea (CARSON et al., 1956).

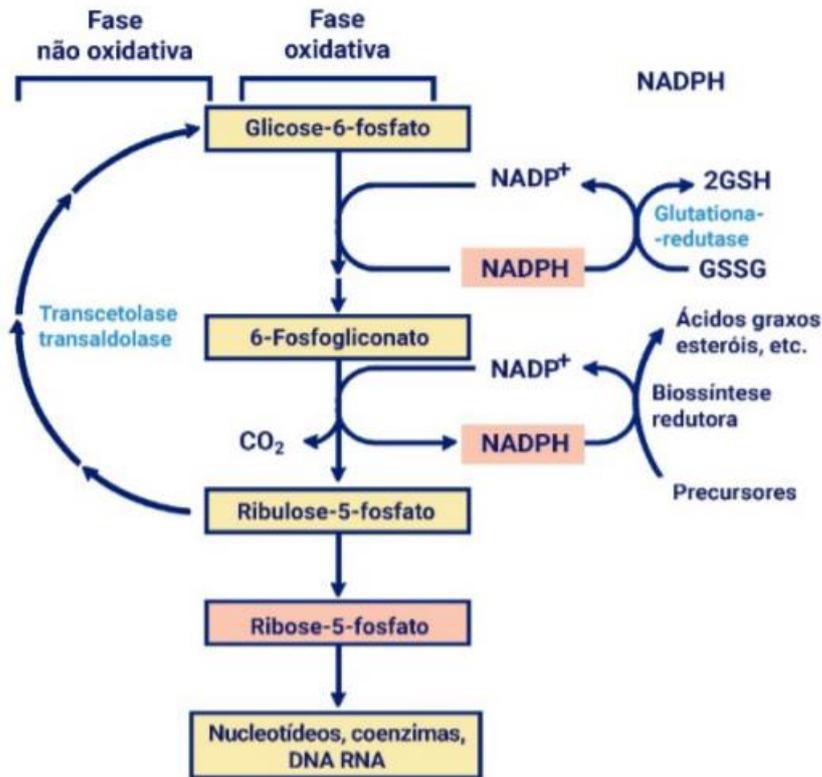
Geralmente a glicose-6-fosfato é degradada pela via glicolítica até piruvato, sendo oxidada pelo ciclo do ácido cítrico, culminando com a formação de ATP. Entretanto, a glicose-6-fosfato participa de outra via catabólica, sintetizando pentose-fosfato e NADPH (Nicotinamida adenina dinucleotídeo-fosfato, forma reduzida) através da via das pentoses-fosfato (Figura 1), ou via do fosfogliconato ou ainda via da hexose-monofosfato (LUZZATTO; NANNELLI; NOTARO, 2016).

A principal função da G6PD é a participação na defesa antioxidante, atuando na reação de redução do NADPH que é um doador de íons hidrogênios, e da conversão da glutatona oxidada (GSOS) para sua forma reduzida (GSH) (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

A GSH é de extrema importância para defesa antioxidante. Ela reage com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) mantendo os níveis de grupo tiol da hemoglobina e

outras proteínas no estado reduzido, mantendo assim a integridade da célula (ARESE et al., 2012).

Figura 1 – Síntese de NADPH pela via das pentoses por ação da enzima G6PD e 6-fosfogluconato desidrogenase.



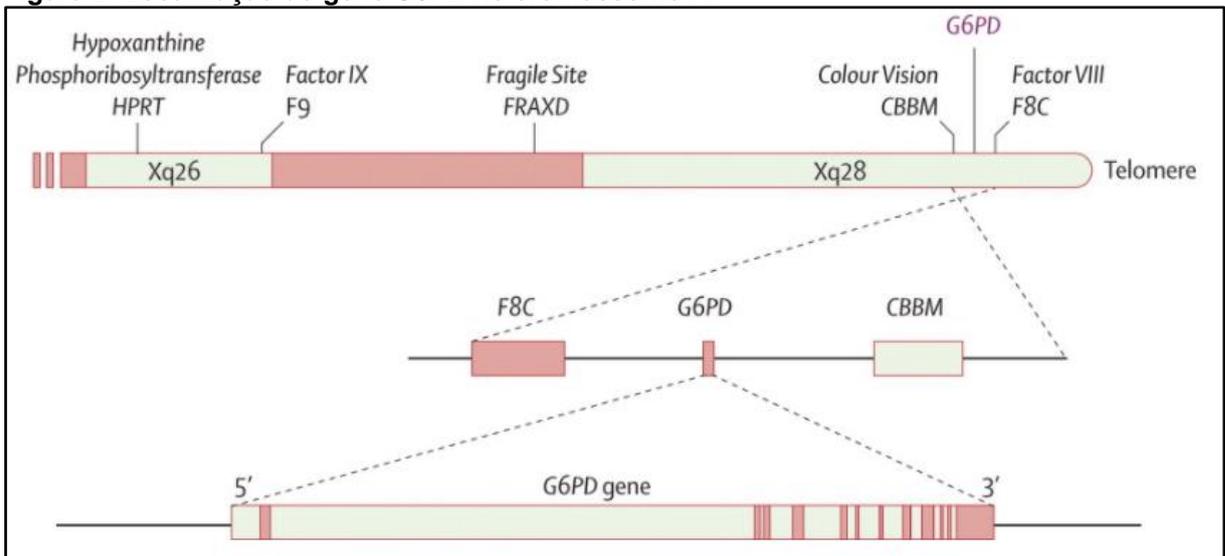
Fonte: Adaptado de GÓMEZ-MANZO et al., 2016.

A distribuição das variantes de G6PD está relacionada a grupos étnicos em associação à localização geográfica. Estudos recentes relataram altas frequências na África, Ásia, região do Mediterrâneo e Oriente Médio. Considerando o alto índice de imigrações, altos índices também foram relatados na América do Norte e do Sul (BAHK et al., 2021).

1.2 ESTRUTURA E GENÉTICA DA G6PD

A G6PD é um monômero de 514 aminoácidos cujo gene está localizado na região telomérica do braço longo do cromossomo sexual X (Figura 2), na região 2 da banda 8 (Xq28). O gene consiste em 13 éxons e 12 íntrons (ARUNACHALAM et al., 2020).

Figura 2- Localização do gene G6PD no cromossomo X.



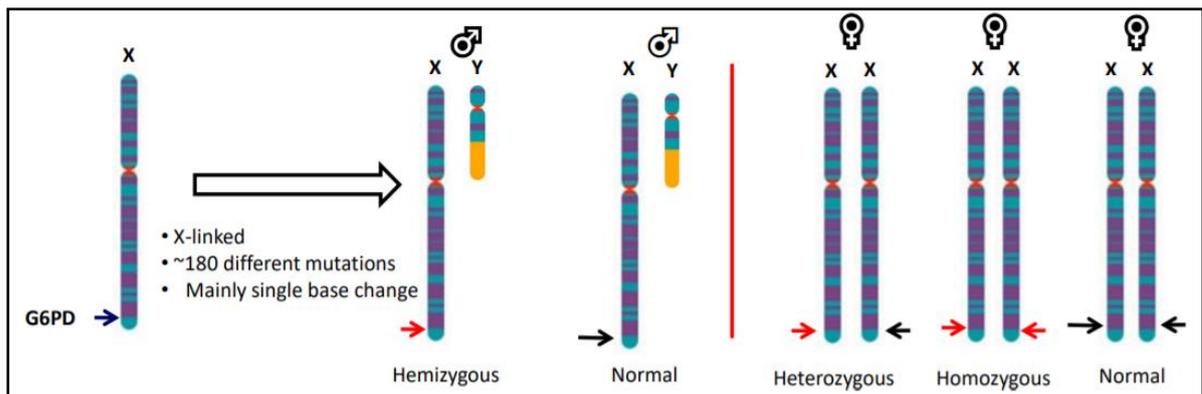
Fonte: CAPPELLINI; FIORELLI, 2008a.

Por estar relacionada ao cromossomo X, a deficiência de G6PD afeta geralmente o sexo masculino que contém apenas um alelo para o gene G6PD, sendo considerado hemizigotos, podendo ainda ser hemizigoto normal ou deficiente. Já o sexo feminino, por possuir 2 cromossomos X, podem apresentar 3 genótipos distintos, homocigoto normal (tipo selvagem), e deficiente heterocigoto ou homocigoto (FERREIRA et al., 2021).

Mulheres heterocigotas possuem duas populações de hemácias distintas, podendo cada hemácia apresentar atividade enzimática normal ou deficiente; assim, após um evento hemolítico, apenas a população de atividade deficiente será degradada (KOROMINA et al., 2021a).

São mais de 200 genótipos de mutações para deficiência de G6PD com importância clínica descritos, gerando uma enzima instável, o que pode acarretar hemólise de acordo com a expressão de três diferentes alelos: homocigoto, hemizigoto e heterocigoto (Figura 3). A hemólise causada pela deficiência de G6PD pode ser considerada leve como no caso da variante africana, até extremamente severa, como na variante Mediterrânea e da Mahidol (CHU et al., 2018)

Figura 3 - Genética da deficiência de G6PD.



Fonte: WHO (2018).

A maioria das mutações da G6PD são do tipo *missense*, acarretando substituição dos aminoácidos, comprometendo a sua estabilidade, ou diminuindo sua atividade catalítica, ou ainda ambas simultaneamente (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020b).

1.3 PAPEL DA G6PD NAS HEMÁCIAS

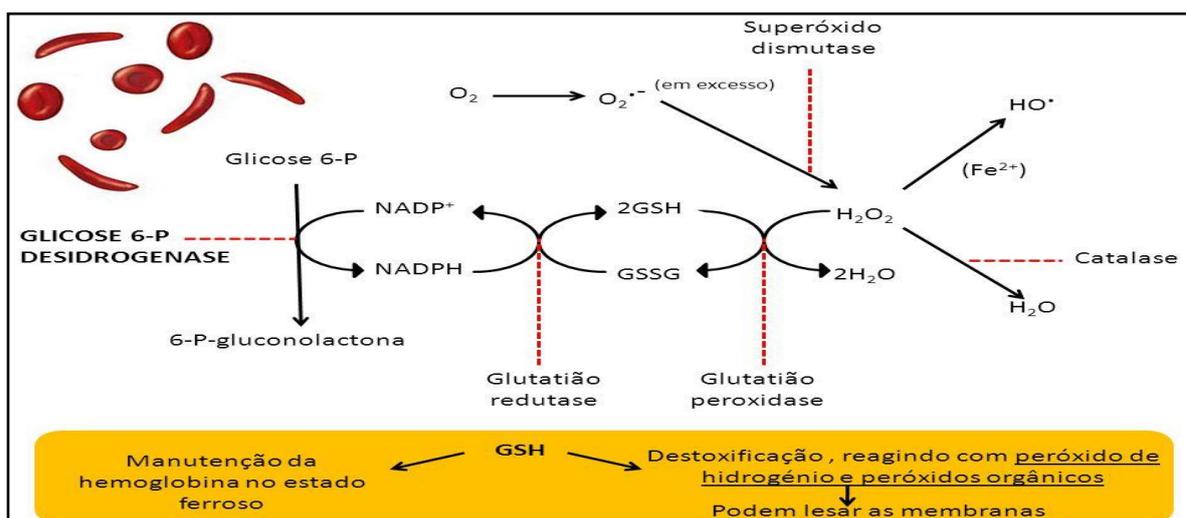
Apesar da ampla distribuição no organismo e tecidos, é no metabolismo das hemácias que a enzima G6PD exerce a função mais importante, atuando na via metabólica para produção de energia e síntese de substância redutora essencial

(NADPH) para proteção da integridade das hemácias contra agentes oxidantes (BELFIELD; TICHY, 2018).

As hemácias maduras não conseguem obter energia, sintetizar ácidos nucleicos e proteínas como as outras células do corpo; isto ocorre pelo fato de não terem núcleo e perderem as mitocôndrias durante o seu amadurecimento. Assim, as hemácias utilizam uma via alternativa para obtenção de energia, através da quebra da glicose. Dessa forma, conseguem manter os níveis de ATP e de poder redutor para realizar suas funções vitais (ACOSTA SÁNCHEZ; NÚÑEZ; SUÁREZ LUENGO, 2003).

A G6PD catalisa a primeira etapa da via das pentoses, atuando através da redução do NADP à NADPH, e com a síntese e manutenção dos níveis de glutatona no estado reduzido (GSH), por meio da glutatona redutase (figura 4). É através desta via que as hemácias possuem a única fonte de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). Com a diminuição dos níveis de NADPH nas hemácias, e consequente queda dos níveis de GSH, as hemácias ficam vulneráveis ao estresse oxidativo causados pelas espécies reativas de oxigênio e/ou radicais livres. (CONITEC, 2018).

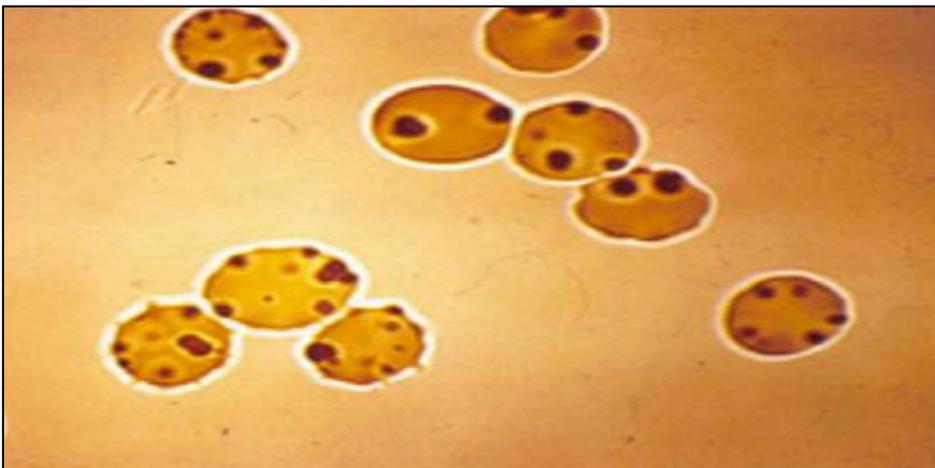
Figura 4- Ação da G6PD no processo de eliminação do peróxido de hidrogênio nas hemácias.



Fonte: Adaptado de HARCKE; RIZZOLO; HARCKE, 2019.

A principal alteração metabólica observada na deficiência da enzima é a hemólise aguda que pode ser desencadeada por infecções e algumas substâncias com propriedades oxidativas (KOROMINA et al., 2021b). Os danos observados refletem a fragilidade celular ao estresse oxidativo, com dano aos lipídios da membrana dos eritrócitos, particularmente suscetíveis por serem ricos em grupos sulfidril (SH), formando produtos dissulfetos que levam à desnaturação de proteínas dessa membrana e dano à hemoglobina. A hemoglobina desnaturada se precipita no interior da hemácia formando os corpúsculos de Heinz (Figura 5) com consequente hemólise (DALLLOL et al., 2012; LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020a).

Figura 5 – Corpos de Heinz: precipitados de hemoglobinas desnaturadas no interior das hemácias em resposta ao estresse oxidativo.



Fonte: LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020b.

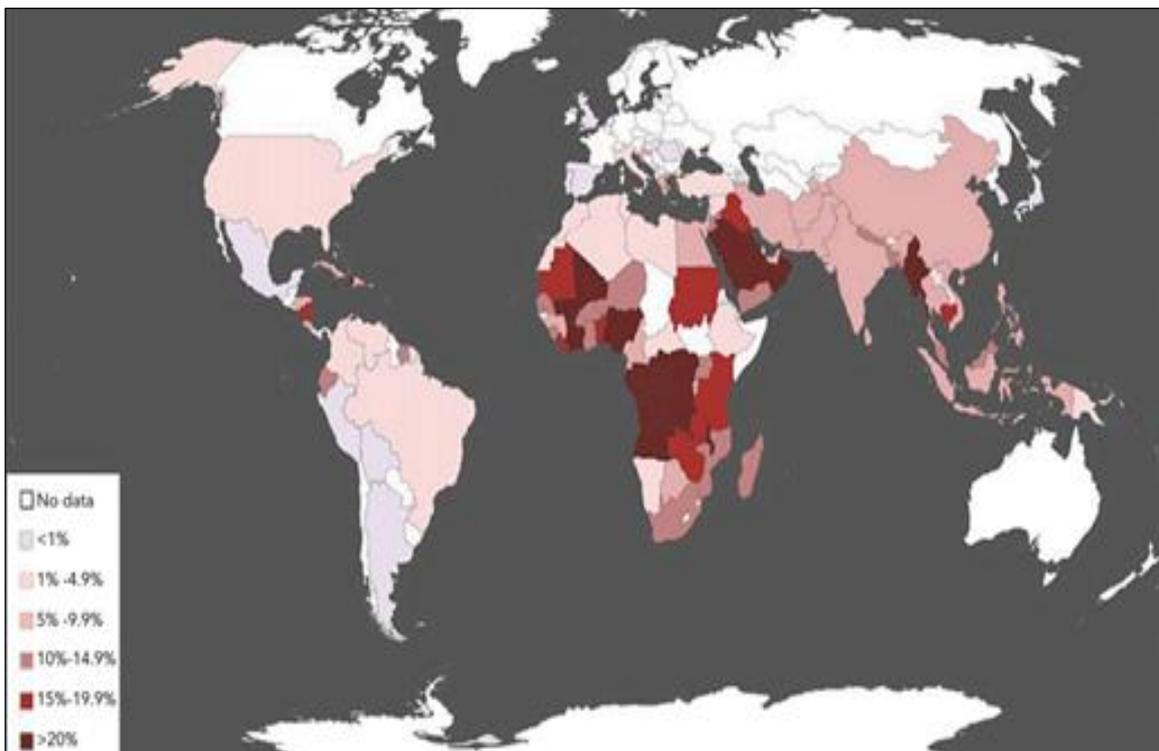
1.4 EPIDEMIOLOGIA DA DEFICIÊNCIA DE G6PD

As variantes deficientes de G6PD são amplamente distribuídas ao redor do mundo (Figura 6), estimando que cerca de 500 milhões de pessoas carregam uma mutação para G6PD deficiente (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020a; PAKPARNICH et al., 2021a; ZOBRIST et al., 2021). A maior prevalência é encontrada nas ilhas do

pacífico central e do sul e sudeste da Ásia, Oriente médio, África e sul da Europa; entretanto, em decorrência da imigração, alelos deficientes são bastante prevalentes nas Américas do Norte e do Sul e Norte da Europa (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

A frequência média da deficiência de G6PD em países endêmicos de malária é estimada em 8%. Entre todas as deficiências conhecidas, as variantes G6PD A e G6PD Mediterrânea foram relatadas como sendo detectadas com maior frequência e são as principais responsáveis pela ocorrência de eventos hemolíticos (FRANK, 2005). A variante G6PD A é o alelo mais predominante no continente africano, enquanto que o alelo G6PD Mediterrâneo é mais frequente na Ásia Ocidental (HOWES et al., 2013c).

Figura 6 – Distribuição epidemiológica global da deficiência de G6PD.



Fonte: Luzzatto et al., 2020.

Diferentes alelos deficientes são encontrados nas áreas endêmicas de malária, com exceção da África, a qual apresenta 90% da variante A- que também é

encontrada com bastante prevalência na Itália, América do Norte e do Sul, nas Índias Ocidentais, Espanha e Portugal e onde houver a presença de imigrantes africanos. A segunda variante mais encontrada é a mediterrânea, prevalente nos países que circundam o mediterrâneo e ainda em Israel, Oriente Médio, Índia e Indonésia (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008; HOWES et al., 2013a).

1.4.1 Epidemiologia da deficiência de G6PD no Brasil

Pesquisa recente com 1.222 doadores de sangue no município de Manaus demonstrou através de análise molecular, mutações para deficiência de G6PD em 101 deles. As variantes A376G e G202A foram confirmadas por RT-PCR em 95 casos, sendo as mais prevalentes na região (FERREIRA et al., 2021).

Estudo realizado pelo Hospital Albert Einstein em uma maternidade do estado do Espírito Santo avaliou a prevalência e os polimorfismos G202A, A376G e C563T em 1.000 amostras através de teste quantitativo enzimático colorimétrico utilizando kit comercial (INTERCIENTÍFICA® NeoLISA G6PD, São José dos Campos, SP, Brasil). e utilizando biologia molecular por reação em cadeia da polimerase (PCR) para caracterização das variantes deficientes. Identificou-se que 25 pacientes apresentavam a deficiência de G6PD, representando 2,5% de prevalência, sendo todos do sexo masculino. Já a variante G6PD A- (A376G e G202A) que representa a variante africana tipo A- foi encontrada em 100% das amostras testadas como positivas para deficiência de G6PD (PEREIRA et al., 2019).

Outra pesquisa realizada na cidade de Araraquara, estado de São Paulo, com 5.087 doadores de sangue do sexo masculino, onde os supostos portadores da deficiência foram identificados através do método qualitativo de Brewer e

com diagnósticos confirmados através do teste de Beutler (método que averigua a presença ou ausência de galactosemia), métodos moleculares evidenciaram a prevalência de 1,75% (n=89) de deficientes em G6PD, dentre eles 86 (96,6%) apresentaram a variante G6PD A- (A376G e G202A) e apenas 3 (3,4%) amostras apresentaram a variante (C563T) mediterrânea (DE PAULA FERREIRA; LEITE; LEITE, 2014) .

Os estudos corroboram com trabalhos realizados anteriormente na população brasileira e demonstram que a prevalência da deficiência de G6PD no Brasil pode variar de 1 a 10% de acordo com a região, e confirma que a maior prevalência da variante G6PD no Brasil é a variante G6PD A- do tipo africana (PEREIRA et al., 2019).

1.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DEFICIÊNCIA DE G6PD

A grande maioria dos portadores da deficiência de G6PD são assintomáticos, independente do grau de deficiência, até que expostos a fatores desencadeantes, com exceção dos portadores de anemia hemolítica não esferocítica (AHNE), que apresentam anemia crônica. Portadores da deficiência de G6PD podem desenvolver anemia hemolítica aguda por três gatilhos: favismo, infecções e medicamentos (LUZZATTO, 2006).

1.5.1 Anemia hemolítica aguda (AHA)

1.5.1.1 Favismo

Considerado o principal gatilho para crises hemolíticas em portadores de deficiência de G6PD, o consumo de feijão fava (*Vicia faba*), conhecido como favismo, foi inicialmente observado no mediterrâneo, oriente médio e norte da África, onde a

fava é muito consumida, sendo associada a variante mediterrânea. O favismo é causado pelas agliconas divicina e isouramil que são metabólitos dos glicosídeos de piridina, vicina e convicina (MASON; BAUTISTA; GILSANZ, 2007).

Os sintomas são palidez, icterícia, dor abdominal ou lombar, podendo apresentar febre, aumento do baço, anemia de moderada a muito grave, geralmente normocítica e normocrômica e urina escura (hemoglobinúria). A hemólise geralmente é intravascular. Os exames laboratoriais podem revelar leucocitose com aumento de neutrófilos, anemia com presença de corpos de Heinz nas hemácias, baixa ou indetectável haptoglobina, concentração de bilirrubina não conjugada e lactato desidrogenase elevados, indicando que a hemólise extravascular também pode ocorrer (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020b).

1.5.1.2 Anemia hemolítica aguda causada por medicamentos

O segundo gatilho para as crises de anemia hemolítica aguda é o uso de determinados medicamentos (Quadro 1). Os sintomas apresentados são semelhantes ao favismo.

A primaquina foi utilizada após grande necessidade do uso de um fármaco que prevenisse a recaída de malária após a guerra do pacífico, sendo utilizada pelas tropas americanas desde a guerra da Coréia, é um 8-aminoquinolina conhecida como o principal medicamento capaz de desencadear crises hemolíticas (BAIRD; HOFFMAN, 2004). Porém é a única desta classe utilizada atualmente em todo Brasil contra a recidiva de *Plasmodium Vivax*, causada pelos hipnozoítos (forma latente responsável pela recidiva de malária) que emergem do fígado, já que a tafenoquina encontra-se em fase de implementação gradual no país (BRITO-SOUSA et al., 2019).

Quadro 1 – Agentes capazes de causar hemólise em portadores de deficiência de G6PD.

Categoria	Podem ser usados com cuidado	Devem ser evitados
Analgésicos e antipiréticos	Acetaminofeno, acetofenatidina, AAS, aminopiridina, antipirina, fenacetina, paracetamol	Acetanilida, matamizol, flutane, Ácido aminosalicílico
Antiarrítmicos	Procainamida	Quinidina
Ante-helmíntico		Piperazina
Anti-hipertensivo		Captopril, maleato de inalapril, cloridrato de hidralazina
Antimaláricos	Cloroquina, pirimetamina, quinacrina, quinino	Hidroxicloroquina, mefloquina, pamaquina, pentaquina, primaquina, quinocida
Antianginosos		Mononitrato de isossorbida, dinitrato de isossorbida, nitroglicerina
Antibacterianos	Ácido p-aminobenzóico, isoniazida, trimetopina, estreptomicina	Ácido nalidíxico, Cloranfenicol, dapsona, ciprofloxacino, fenazopiridina, uraltodona, furmetonol, Nitrofurantoína, nitrofurazona, norfloxacino, ofloxacino, Cotrimoxazol.
Antiepilético	Fenitoína	
Antiparkinsoniano	L-Dopa	
Antiprotozoário		Furazolina
Antisépticos		Azul de metileno
Antitóxicos		Dimercaprol
Anti-inflamatório		Probenicida
Anti-histamínicos	Astemizol, azatadina, bronfeniramina, cetirizina, clorfeniramina, ciproptadina, difenidramina, dexclorfeniramina, elastina, hidroxizina, loratadina, mequitazina	
Citostáticos	Doxorrubicina	
Contrates		Azul de toluidina
Estrogênio		Mestranol
Sulfonamidas e sulfonas		sulfacetamida, sulfametoxazol, sulfametoxipirimidina, sulfapiridina, sulfassalazina, diaminodifenilsulfona,

	Sulfisoxazole, sulfadiazina, sulfametoxipiridazina	dapsona, sulfanilamida, sulfamerazina, sulfatiazole, sulfoxone, tiazolsufona
Vitaminas	Vitamina c	vitamina K1, vitamina K3
Alimentos de uso doméstico		corantes, grão de fava, naftaleno

Fonte: GARCIA et al., 2021; WARNY et al., 2015; YOUNGSTER et al., 2010.

1.5.1.3 Anemia hemolítica causada por infecções

A infecção é o terceiro gatilho para desencadear a anemia hemolítica aguda, porém os casos são mais raros, a não ser em caso de infecção bacteriana grave. (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020b).

A infecção causada pelos vírus das hepatites A e B, citomegalovírus, pneumonia e febre tifoide podem causar hemólise nos portadores da deficiência de G6PD, sendo a gravidade determinada por fatores como administração concomitante com outras medicações, função hepática e idade (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

1.5.1.4 Anemia hemolítica não esferocítica (AHNE)

Algumas variantes da deficiência de G6PD podem causar anemia hemolítica não esferocítica crônica, que se caracteriza por anemia crônica e geralmente é descoberta durante a infância. Considerada pela Organização mundial da Saúde (OMS) como variante tipo I, o diagnóstico é clínico e geralmente o portador apresenta história de icterícia neonatal grave e anemia crônica exacerbada pelo estresse oxidativo, podendo necessitar de transfusão de sangue (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

1.5.1.5 Icterícia neonatal

Geralmente se manifesta no período neonatal. A chance do neonato com deficiência de G6PD apresentar icterícia neonatal é bem maior que os que apresentam G6PD normal. A icterícia nos bebês deficientes de G6PD pode ser bem mais grave, principalmente nos casos dos prematuros, com infecções ou fatores ambientais como uso de naftalina. A icterícia neonatal em portadores da deficiência de G6PD sem tratamento adequado pode ser grave e causar sequelas neurológicas irreversíveis (LUZZATTO, 2006).

1.6 CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DE G6PD SEGUNDO A OMS

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a G6PD de acordo com a atividade enzimática, variando de <1% a mais de 150%, correspondendo as classes I-V (Quadro 2), nas quais as classes I, II e III são consideradas em risco de eventos hemolíticos (WHO WORKING GROUP, 1989).

Quadro 2 – Classificação da atividade de G6PD segundo a OMS.

CLASSE	CLÍNICA	ATIVIDADE ENZIMÁTICA	% DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA
I	Anemia hemolítica não esferocítica	Muito deficiente	<10%
II	Hemólise	Muito deficiente	<10%
III	Hemólise	Moderadamente deficiente	10 a 60%
IV	Normal	Normal	>85%
V	Normal	Aumentada (< 150%)	>150%

Fonte: Elaborado pela autora.

A gravidade dos sintomas clínicos e o tratamento necessário dependem do grau de deficiência enzimática, da natureza e dose total do agente oxidativo, tempo de exposição, presença de estresses oxidativos adicionais e fatores pré-existentes como idade, concentração da hemoglobina e infecção concomitante (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

1.6.1 Classe I

Caracterizada como deficiência severa, apresentam substituição de um ou mais aminoácidos, perto do sítio de ligação com o NADP, o que prejudica a estabilidade estrutural da enzima. Como exemplos G6PD Bangkok (Lys275Asn), Bangkok noi (Phe501CYS), entre outras (PAKPARNICH et al., 2021b). Os portadores da deficiência classe I apresentam quadro de AHNE crônica, com as hemácias apresentando meia vida menor que o normal, mesmo não sendo expostos ao estresse oxidativo, sendo necessário suporte transfusional (PETERS; NOORDEN, 2009) .

1.6.2 Classe II

Considerada deficiência grave com até 10% de atividade enzimática, também afeta a estabilidade da enzima, a variante Mahidol (Gly163Ser) e Mediterrânea (Ser188F) são exemplos da classe. Portadores com múltiplas mutações como Mahidol + Viangchan (Gly163Ser +Val291Met) apresentam atividade enzimática muito menor quando comparados a portadores com uma única substituição de aminoácido (PAKPARNICH et al., 2021b).

1.6.3 Classe III

Considerada deficiência moderada por apresentar de 10 a 60% de atividade enzimática, a variante africana ou A-, é responsável por cerca de 90% da deficiência

na África e apresenta grande importância pela sua alta prevalência no Brasil. Outra representante da classe é variante Seattle (D282H) (CAPPELLINI; FIORELLI, 2008).

1.6.4. Variante classe IV

Portadores da classe IV apresentam atividade enzimática ligeiramente diminuída, representada pela variante B, considerada o “tipo selvagem” da enzima, não apresentando substituição de aminoácidos (COMPRI; SAAD; RAMALHO, 2000).

1.6.5 Variante Classe V

Pouco relatada a variante de classe V apresenta atividade aumentada, como exemplo a variante Verona (COMPRI; SAAD; RAMALHO, 2000).

1.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da deficiência de G6PD se baseia na síntese de NADPH, a partir de NADP e G6P. Porém, as variantes com baixa atividade enzimática são facilmente detectadas, ao contrário das variantes com atividade intermediária; que neste caso, as ferramentas de biologia molecular podem ser utilizadas como diagnóstico (ARESE et al., 2012).

O estado de deficiência de G6PD de um indivíduo pode ser caracterizado pelo genótipo ou pelo fenótipo (homozigoto, heterozigoto ou hemizigoto). Existem ferramentas cada vez mais eficazes para a genotipagem de G6PD, tanto em termos de custo quanto de pontualidade (ZHANG et al., 2015). Para os indivíduos do sexo masculino, o genótipo é suficiente para atribuir inequivocamente um fenótipo. Para mulheres, o genótipo de mulheres heterozigotas para um alelo G6PD normal e G6PD deficiente não pode ser classificado fenotipicamente de forma inequívoca, pois suas

atividades enzimáticas no sangue podem variar entre 20-80% de um valor normal, com a maioria perto da faixa de atividade normal de 50% (ANDERLE et al., 2018).

O padrão de referência mais comumente utilizado para medição da atividade de G6PD é um ensaio espectrofotométrico quantitativo (PFEFFER et al., 2020; ROPER et al., 2020). Este teste é complexo, exigindo infraestrutura laboratorial (por exemplo, equipamentos, eletricidade, luz fluorescente) e pessoal experiente para ser implementado – tornando-o inacessível para a maioria dos casos de uso próximo ao paciente, principalmente em ambientes endêmicos de malária.

O teste mais utilizado é o teste qualitativo de ponto fluorescente (*fluorescent spot test*), que é mais barato e mais simples de operar. O princípio do teste de ponto fluorescente depende da fluorescência do NADPH sob luz UV de onda longa. A redução de NADP^+ a NADPH ocorre na presença de G6PD e a taxa de formação de NADPH é proporcional à atividade de G6PD. No entanto, ainda existem limitações notáveis com este teste, que requer uma cadeia de frio, alguma infraestrutura laboratorial e pessoal treinado. Para preencher essa lacuna de diagnóstico e aproximar o teste da deficiência de G6PD do paciente, novos testes no local de atendimento estão se tornando cada vez mais disponíveis (ANDERLE et al., 2018; LEY et al., 2017).

Esses testes incluem biossensores quantitativos ou semiquantitativos que fornecem uma medição numérica da atividade enzimática em um leitor digital (ALAM et al., 2018; BANCONE et al., 2018; PAL et al., 2019), bem como testes qualitativos de diagnóstico rápido (TQDR) também denominados *Point of Care* (POC), que fornecem avaliações binárias ou categóricas do status de G6PD que são interpretados visualmente. É importante ressaltar que os TQDR só são capazes de identificar deficiências graves (<30% de atividade), enquanto os biossensores quantitativos ou

semiquantitativos podem discriminar toda a gama de deficiências e, portanto, identificar mulheres heterozigotas com *status* intermediário de G6PD (LEY et al., 2017).

Diversos testes são utilizados para a determinação da deficiência de G6PD de acordo com a infraestrutura local, os recursos disponíveis e os objetivos propostos na execução do teste. Os principais são:

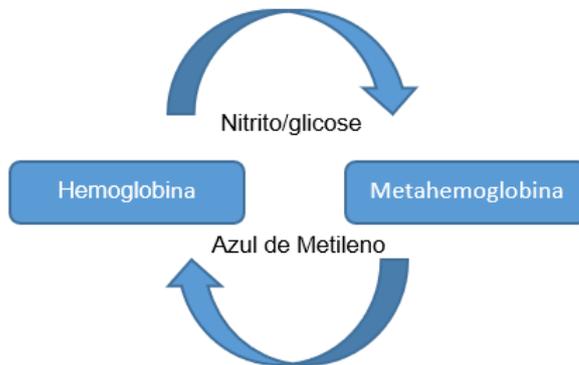
1.7.1 Teste de Brewer

Padronizado em 1962 por Brewer et al., o método é qualitativo baseado na atividade enzimática através da redução da metemoglobina, e não é capaz de detectar a deficiência em indivíduos heterozigotos (BREWER; TARLOV; ALVING, 1962).

A G6PD catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato para 6-fosfogliconato (6PG), reduzindo a nicotina-adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) a NADPH. Assim os indivíduos com a enzima G6PD presente na amostra, realizam a oxidação da hemoglobina para metahemoglobina na presença do nitrito de sódio, e com ação do azul de metileno, que funciona como estimulador das vias das pentoses, converte a metahemoglobina em hemoglobina, o que resulta em uma cor avermelhada pela presença de hemoglobina presente na amostra.

Nos casos dos indivíduos portadores da deficiência de G6PD, há a conversão de hemoglobina em metahemoglobina (Figura 7), porém o azul de metileno não estimula a via das pentoses por falta de aporte de NADPH. Dessa forma, a reconversão de metahemoglobina em hemoglobina não acontece, resultando em uma cor acastanhada devido a presença da metahemoglobina na amostra.

Figura 7 – Conversão da hemoglobina em metahemoglobina e reconversão pela ação do azul de metileno através do Método de Brewer.



Fonte: Elaborado pela autora.

1.7.2 Ensaio citoquímico

Desenvolvido em 1968, é confiável para detecção de todas as formas da deficiência. Confiável por demonstrar a atividade de G6PD em células individualmente. Entretanto, como é composto por várias etapas, torna-se extremamente demorado e propenso a erros (PETERS; NOORDEN, 2009).

1.7.3 Ensaio espectrofotométrico

Requer equipamento específico, apresenta 11% de sensibilidade para detecção de heterozigotos, são úteis para detecção de homens hemizigotos e mulheres homozigotas (PETERS; NOORDEN, 2009).

1.7.4 *Fluorescent spot test*

O teste rápido *fluorescent spot test*, apresenta ampla utilização devido a sua sensibilidade e especificidade. O teste se baseia em uso de papel de filtro, onde ocorre fluorescência de NADPH após adição de G6P e NADP. Como desvantagem o método

requer equipamentos adequados como cadeia de frio, o que torna o teste inadequado para trabalho de campo (PIENTHAI et al., 2019).

1.7.5 Análise por biologia molecular

A análise de caracterização molecular se mostra eficiente especialmente na identificação dos vários tipos de mutações, tem a vantagem de poder ser realizado com DNA armazenado, e ainda evita o problema causado pela reticulocitose, onde o excesso de hemácias jovens em atividade pode causar um resultado falso-negativo. Tem como inconveniente o tempo de execução do procedimento, além de exigir pessoal treinado e ampla estrutura laboratorial, podendo ainda não identificar mutações com baixa frequência (LUZZATTO; ALLY; NOTARO, 2020b).

1.7.6 BinaxNow G6PD (Iverness Medical)

Novas tecnologias "*Point of care*" foram implementadas para detecção de deficiência de G6PD, como o BinaxNow G6PD (Iverness Medical). Se trata de um método cromatográfico enzimático qualitativo, que preconiza temperatura entre 18 e 25°C para sua execução, além de coleta de sangue venoso, o que causa uma série de problemas operacionais impossibilitando seu uso em países de área endêmica de malária (OSORIO et al., 2015).

1.7.7 Carestart G6PD (Acess Bio)

O Carestart G6PD (Acess Bio), é um teste rápido, barato e de simples manuseio. Sua principal vantagem sobre o BinaxNow é que permite utilizar sangue capilar e não há limitação de temperatura para sua implementação. É um método baseado na redução do nitro azul tetrazólio (BRITO et al., 2016).

1.7.8 ECO G6PD *Point of Care*

O SD Biosensor (Suwon, Coréia do Sul) ECO G6PD *Point of Care*, é um teste enzimático colorimétrico, que se baseia na formação de NADPH pela G6PD. Apresenta como vantagem a simples execução, preço acessível (em torno de R\$32,00/teste), não há necessidade de corrente elétrica considerando que sua alimentação ocorre por duas pilhas AA e fornece resultados quantitativos e concentração total de hemoglobina em 2 minutos, permitindo ainda identificar mulheres heterozigotas portadoras de deficiência de G6PD (PAL et al., 2019).

O benefício dos produtos quantitativos instrumentados é que eles podem abordar a variação de temperatura inerente da enzima por meio da correção de temperatura, mantendo sua precisão e, portanto, uso em uma faixa de temperatura mais ampla, em contraste com os testes qualitativos. O diagnóstico da deficiência de G6PD na triagem neonatal por testes quantitativos são cada vez mais relevantes por fornecer padronização dos resultados entre homens e mulheres, esse método também é recomendado aos pacientes em uso de primaquina em altas doses e a droga antimalárica Tafenoquina (DOMINGO et al., 2019).

2 JUSTIFICATIVA

Partindo da premissa que o Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, unidade técnico-científica da FIOCRUZ (INI/FIOCRUZ), atende portadores de doenças infecciosas onde a prescrição de medicamentos oxidantes como a primaquina, sulfonamidas, sulfonas, entre outros, podem ativar gatilhos hemolíticos, desencadeando um quadro de anemia hemolítica aguda (AHA) nos portadores de deficiência de G6PD, há uma grande necessidade de validação de novas ferramentas de diagnóstico que sejam rápidas, eficientes e confiáveis para detecção dessa deficiência, a fim de evitar a piora do quadro clínico, acentuando a anemia já causada pela doença de base, como no caso da malária.

O INI/FIOCRUZ atualmente utiliza o método quantitativo de Brewer como padrão de referência. Trata-se de um método considerado simples, entretanto, tem um longo período de execução, além de apresentar um resultado de leitura subjetiva por se tratar de leitura visual, o que por vezes leva à discordância entre os laboratoristas.

O ECO G6PD *Point of care* é um sistema rápido, simples, confiável, que fornece resultados quantitativos em apenas 2 minutos. O teste auxilia na identificação de portadores de deficiência de G6PD, fornecendo acesso ao diagnóstico e permitindo decisões imediatas de tratamento.

A principal vantagem do método quantitativo ECO G6PD *Point of care* quando comparado ao método quantitativo de Brewer, é o fato de detectar heterozigotos. Estudos relatam que mulheres heterozigotas em uso de doses diárias de primaquina apresentam risco potencial de desencadear hemólise clinicamente significativa quando testadas como fenotipicamente normais nos testes qualitativos.

Portanto, a identificação de marcadores biológicos por métodos rápidos e de fácil execução, que identifiquem pacientes com maior risco para apresentar eventos hemolíticos decorrentes da deficiência de G6PD em pacientes com doenças infecciosas possibilitará um melhor acompanhamento clínico destes indivíduos, assim como o início de medidas terapêuticas adequadas, como por exemplo, a substituição do fármaco.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Determinar a acurácia do método diagnóstico ECO G6PD *Point of care* para detecção da deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a concordância entre o método quantitativo (ECO G6PD *Point of Care*) e o método qualitativo da redução de metahemoglobina (Teste de Brewer) na detecção da deficiência de G6PD;
- Avaliar a acurácia do método quantitativo (ECO G6PD *Point of Care*) na detecção da deficiência de G6PD utilizando o método qualitativo da redução de metahemoglobina (Teste de Brewer) como padrão de referência;
- Estimar a prevalência da deficiência de G6PD nos pacientes portadores de doenças infecciosas atendidas no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas no período de maio de 2020 a dezembro de 2021;
- Elaborar um Procedimento Operacional Padrão (POP), descrevendo a metodologia e aplicabilidade do teste do método quantitativo (ECO G6PD *Point of Care*).

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de estudo seccional de validação diagnóstica para avaliar a acurácia do método diagnóstico ECO G6PD *Point of Care* na detecção da deficiência de G6PD, seguindo as recomendações contidas no STARD (*Standards for Reporting Diagnostic accuracy studies*) (KOREVAAR et al., 2016).

As análises qualitativas da redução de meta-hemoglobina (Teste de Brewer) e as análises quantitativas (ECO G6PD *Point of Care*) foram realizadas na Agência Transfusional do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/INI-FIOCRUZ no período de maio de 2020 a dezembro de 2021.

4.2 TAMANHO AMOSTRAL

Para a avaliação de acurácia do método diagnóstico ECO G6PD *Point of Care* para detecção da deficiência de G6PD foram necessárias 125 amostras sanguíneas. O cálculo do n amostral foi realizado no programa WinPepi versão 11.63, com nível de confiança de 95%, desvio padrão de 5% e prevalência estimada da deficiência de G6PD de 8,0%.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo:

- Pacientes com idade mínima de 18 anos;
- Matriculados e em acompanhamento no INI/FIOCRUZ;
- Concordaram com o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APENDICE A).

4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Considerando que alguns parâmetros laboratoriais podem interferir no resultado do teste ECO G6PD *Point of Care*, foram excluídos pacientes que apresentaram os seguintes resultados laboratoriais:

- Nível de hemoglobina < 7,0 g/dL;
- Valor de bilirrubina > 5,0 mg/dL;
- Nível de triglicerídeos > 500 mg/dL.

4.5 COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta de amostras foi realizada pelo Serviço de Gestão de Amostras e Resultados (SGAR) do INI/Fiocruz. Foram coletadas amostras de sangue total em anticoagulante ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA) para as quais foi solicitado o teste qualitativo de Brewer. A inclusão na rotina foi realizada conforme demanda da Agência Transfusional (AT).

Após assepsia do local da punção com álcool 70% a coleta foi realizada com tubos a vácuo de 2 ou 3 mL e agulhas descartáveis 25mm x 7mm. Foi realizada a punção venosa periférica na fossa antecubital das veias antecubital média, cefálica e basílica. A identificação dos tubos foi realizada com etiquetas contendo códigos de barras e, posteriormente, as amostras foram encaminhadas à Agência Transfusional, onde foram cegadas e posteriormente realizados os testes quantitativos com o novo método ECO G6PD *Point of care* em paralelo ao método qualitativo de Brewer, método já utilizado pelo serviço.

4.6 DETERMINAÇÃO LABORATORIAL DA DEFICIÊNCIA DE G6PD

4.6.1 Técnica do Método de Brewer

Foram utilizados 3 tubos de ensaios, identificados como amostra propriamente dita (A), um de controle negativo (CN), e por último o controle positivo (CP). Em seguida foi realizada a pipetagem de 200µL de amostra de sangue total em um dos tubos (A). O controle negativo (CN) recebeu somente a amostra de sangue total, o controle positivo (CP) recebeu ainda 10 µL de nitrito de sódio-glicose, e o tubo da amostra propriamente dita (A) recebeu 20µL de nitrito de sódio-glicose, além de 20µL de azul de metileno (Quadro 3).

Quadro 3 – Distribuição das alíquotas de amostras e reagentes no teste de Brewer.

REAGENTE	AMOSTRA (A)	CONTROLE NEGATIVO (CN)	CONTROLE POSITIVO (CP)
NITRITO DE SÓDIO-GLICOSE	20µL	-	10µL
AZUL DE METILENO	20µL	-	-
AMOSTRA DE SANGUE	200µL	200µL	200µL

Fonte: Elaborado pela autora.

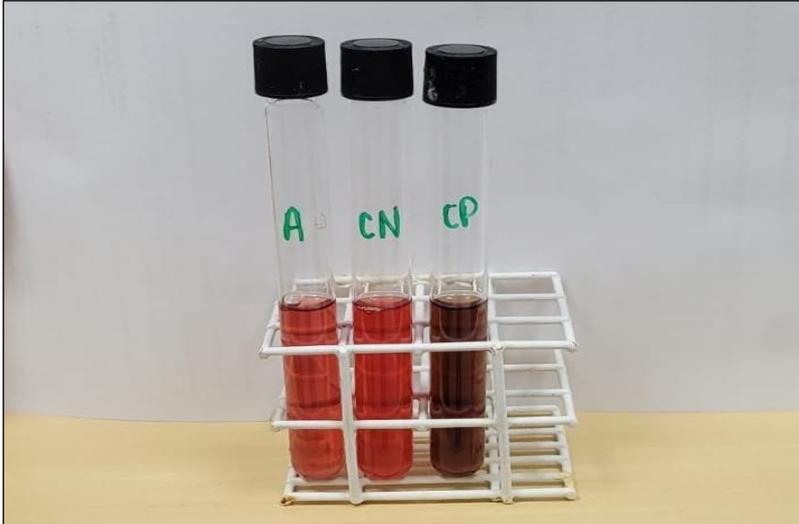
Após a pipetagem, os tubos foram homogeneizados e incubados em banho maria por 3 horas a 37°C. Findado este prazo, foram adicionados 10 mL de água destilada em cada um dos tubos. Os mesmos foram homogeneizados e as reações comparadas visualmente de acordo com as colorações apresentadas.

4.6.1.2 Interpretação dos Resultados

O controle negativo apresenta coloração avermelhada pela presença de hemoglobina, após reconversão da metahemoglobina, enquanto o controle positivo não reconverte a metahemoglobina por falta de aporte de NADPH apresentando

coloração acastanhada devido a presença de metahemoglobina na amostra. A amostra é sempre comparada com a coloração dos tubos de controle positivo e controle negativo (Figura 8).

Figura 8 – Interpretação visual do método de Brewer de uma amostra com resultado negativo.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.6.2 Método ECO G6PD *Point of Care*

Para o método quantitativo, foi utilizado o teste ECO G6PD *Point of care* (SD Biosensor, Suwon, Coreia do Sul). O ECO G6PD *Point of Care* é um método quantitativo enzimático colorimétrico para detecção da atividade enzimática de G6PD e da concentração total de hemoglobina. É um kit composto por uma tira-teste, tampão de extração, pipeta capilar de 10 μ L, *chip* e o aparelho analisador.

O teste se baseia quantitativamente na produção de NADPH pela G6PD, com o BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolilfosfato) e NBT (nitro azul tetrazólio) sendo reduzidos na presença da diaforase e produzindo uma cor violeta que é diretamente proporcional à concentração de G6PD na amostra. A intensidade da cor é medida verificando a fotometria de refletância do BCIP e NBT reduzidos. Os resultados são expressos em U/g Hb no leitor do aparelho (Figura 9) em apenas 2 minutos.

Figura 9 – Representação do teste SD Biosensor STANDARD G6PD e principais recursos apresentados na tela do aparelho após a finalização do teste: atividade enzimática da G6PD normalizada pela hemoglobina, concentração da hemoglobina da amostra analisada, data da execução do teste e código numérico que armazena na memória do dispositivo os resultados realizados previamente, permitindo a captura das informações.



Fonte: Adaptado de GERTH-GUYETTE et al., 2021.

4.6.2.1 Técnica do método ECO G6PD *Point of Care*

Para o teste (Figura 10), após os procedimentos de biossegurança e verificação da temperatura ideal para o teste (15 a 40°C), adotaram-se os seguintes passos:

- 1) Certificar que o aparelho analisador está ligado e inserir no local indicado o chip de código específico do lote para calibrar o instrumento;
- 2) Abrir a embalagem de alumínio, retirar a tira-teste e inserir na parte inferior do analisador;
- 3) Homogeneizar a amostra de sangue total previamente coletada (para testes com punção venosa ou capilar) e pipetar 10 μ L da amostra teste com auxílio da pipeta capilar na solução tampão de extração;

4) Homogeneizar a suspensão de 8 a 10 vezes e retirar 10 μ L da solução (sangue total + solução tampão de extração) com o auxílio de uma nova pipeta capilar e inserir no *strip*-teste;

5) Por fim, fechar a tampa da câmara de medição imediatamente após aplicação da amostra e aguardar 2 minutos até que o resultado apareça no visor do analisador.

Figura 10 – Demonstração do Método ECO G6PD *Point of Care*



Fonte: Adaptado de GERTH-GUYETTE et al., 2021.

A interpretação dos resultados foi realizada conforme os valores recomendados pelas instruções do fabricante, apresentada no quadro 4.

Quadro 4: Caracterização da deficiência de G6PD conforme valor de U/g Hb encontrado no teste.

Homens	
Deficientes	<3.9 U/g Hb
Normal	\geq 4.0 U/g Hb
Mulheres	
Deficientes	\leq 3.9 U/g Hb
Intermediário*	4.0 - 6.0 U/g Hb
Normal	>6.0 U/g Hb

* Heterozigotas.

Fonte: Elaborado pela autora.

4.6.3 Análise dos dados

Foi organizado um banco de dados no programa *Statistical Package for Social Sciences* versão 20 (SPSS® 20) que também foi utilizado para as análises estatísticas. Foram coletados dados demográficos e socioeconômicos sempre que disponíveis. Foram descritas as frequências simples das variáveis categóricas.

A comparação das variáveis categóricas, segundo os diferentes grupos, foi feita por teste qui-quadrado de Pearson com correção de Yates ou tabelas formadas por duas linhas e duas colunas (2x2). Para avaliar a concordância entre os dois métodos diagnósticos foi utilizado o coeficiente Kappa. Os valores de Kappa foram interpretados de acordo com a proposição de Landis e Koch (tabela 1).

Tabela 1 – Graus de intensidade do índice Kappa.

K	Interpretação
< 0	pobre
0.00 – < 0,20	discreta
0.20 – < 0.40	regular
0.40 – < 0.60	moderada
0.60 – < 0.80	substancial
0.8 – < 1.00	quase perfeita
1.00	perfeita

Fonte: Adaptado de LANDIS e KOCH, 1977.

Características inerentes aos testes empregados como sensibilidade, especificidade, eficiência (acurácia total), valores preditivos positivo e negativo foram calculados, considerando o método de Brewer como método de referência.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa em seres humanos do INI/FIOCRUZ sob o CAAE 04867118.8.0000.5262 e parecer nº 3.989.125 (ANEXO A).

5 RESULTADOS

O estudo incluiu um total de 125 participantes, todos pacientes atendidos pelo INI/Fiocruz no período de maio de 2020 a dezembro de 2021. Os testes foram executados mediante solicitação médica para investigação da deficiência de G6PD. Os ensaios foram realizados pelo laboratório da Agência Transfusional do INI-FIOCRUZ.

5.1 DADOS DEMOGRÁFICOS

Foram obedecidos os critérios de inclusão e exclusão, e os indivíduos apresentaram idades compreendidas entre 18 e 78 anos com média de idade de 43,9 ± 14,1 anos. A maioria dos participantes do estudo (69,6%) era do sexo masculino e 30,4% pertenciam ao sexo feminino (Tabela 2). Os pacientes pertencentes a faixa etária entre 33 e 43 anos apresentaram menor frequência (n=29; 23,2%) na participação do estudo, embora, muito próxima das demais faixa etárias (25,6%).

A raça parda teve maior prevalência (55,2%) entre os participantes do estudo, embora não apresentasse significância estatística quando comparada com o diagnóstico da deficiência de G6PD realizada pelo ECO *Point of care* (p=0,132) ou pelo teste de Brewer (p=0,099).

Em relação ao nível de escolaridade dos participantes do estudo, observou-se uma maior predominância de indivíduos com ensino fundamental (n= 67; 53,6%) e ensino médio (n= 42; 33,6%), respectivamente. Quanto à naturalidade dos pacientes, a região Sudeste apresentou maior frequência (n=106; 83,2%), sendo mais prevalente o número de participantes com naturalidade no estado do Rio de Janeiro (n= 94; 75,2%), São Paulo (n=7; 5,6%) e Minas Gerais (n=3; 2,4%).

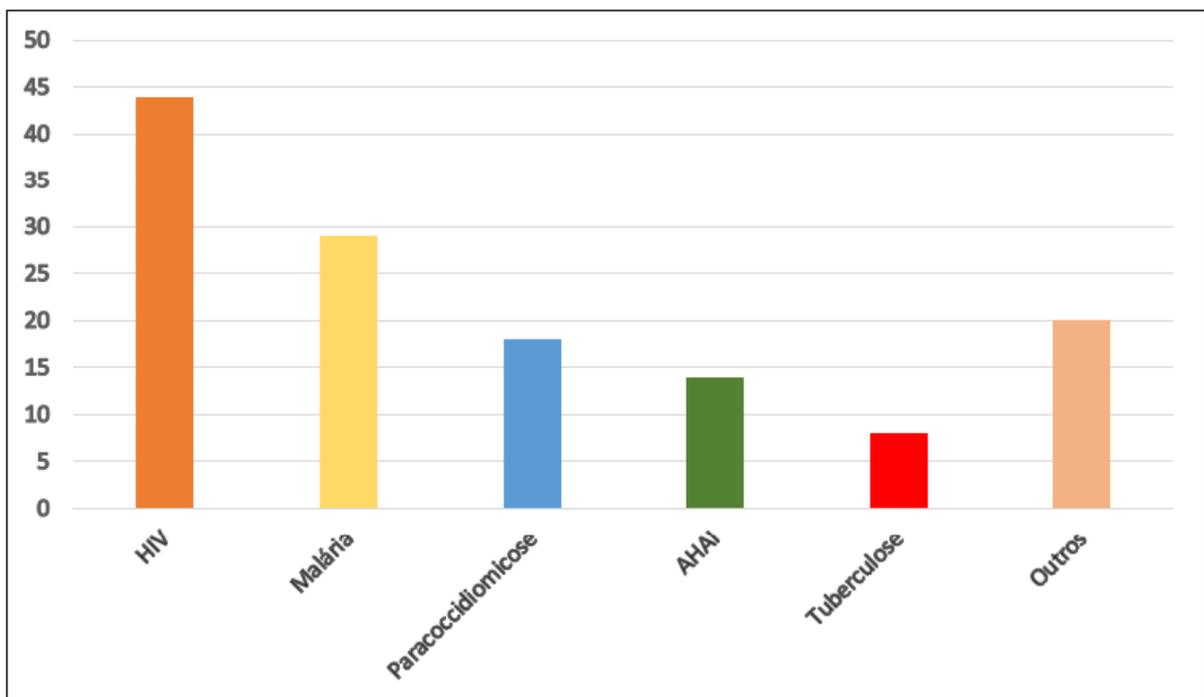
Tabela 2 – Análise descritiva dos participantes do estudo.

Variável		G6PD deficiente	G6PD normal	p valor
Gênero	n (%)	n (%)	n (%)	
Masculino	87 (69,6)	9 (56,3)	78 (71,6)	
Feminino	38 (30,4)	7 (43,2)	31 (28,4)	0,214
Total	125 (100,0)	16 (100,0)	109 (100,0)	
Faixa etária				
18-32	32 (25,6)	4 (25,0)	28 (25,7)	
33-43	29 (23,2)	4 (25,0)	25 (22,9)	
44-53	32 (25,6)	5 (31,3)	27 (24,8)	0,898
54-78	32 (25,6)	3 (18,7)	29 (26,6)	
Total	125 (100,0)	16 (100)	109 (100,0)	
Raça				
Branca	36 (28,8)	8 (50,0)	28 (25,7)	
Negra	20 (16,0)	2 (12,5)	18 (16,5)	
Parda	69 (55,2)	6 (37,5)	63 (57,8)	0,132
Total	125 (100,0)	16 (100,0)	109 (100,0)	
Escolaridade				
Analfabeto	1 (0,8)	0 (0)	1 (100)	
Fundamental	67 (53,6)	9 (56,3)	58 (86,6)	
Ensino médio	42 (33,6)	3 (18,8)	39 (92,9)	0,266
Ensino superior	15 (12,0)	4 (25,0)	11 (10,1)	
Total	125 (100,0)	16 (100,0)	109 (100,0)	

Fonte: Elaborado pela autora.

Diversas indicações clínicas foram evidenciadas na solicitação do exame da deficiência de G6PD (Figura 11), sendo a infecção pelo HIV (n=44; 35,2%) e a suspeita de malária (n=29; 23,2%) as mais frequentes. A paracoccidiomicose (n=18; 14,4%), anemia hemolítica autoimune (AHAI) (n=14; 11,2%) e tuberculose (n=8; 6,4%) também motivaram o diagnóstico da deficiência de G6PD. Outras patologias como a Histoplasmose, hanseníase, HTLV, aspergilose e COVID-19 também foram identificadas no estudo como patologias de base do paciente durante a solicitação do teste para deficiência de G6PD, embora não apresentassem frequência maior que 2,0%.

Figura 11: Principais indicações clínicas para solicitação do teste de deficiência de G6PD



Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 TESTES LABORATORIAIS

Dos 125 pacientes analisados para o método quantitativo de Brewer, 15 amostras (12%) foram consideradas positivas para deficiência de G6PD, das quais 8 amostras pertenciam ao sexo masculino e 7 ao sexo feminino. De forma muito semelhante, das amostras analisadas pelo método ECO G6PD *Point of care*, 16 (12,8%) foram positivas para deficiência de G6PD, sendo 9 do sexo masculino e 7 do sexo feminino. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa em relação ao sexo e aos métodos utilizados (Tabela 3).

Tabela 3 – Desempenho diagnóstico do método para deficiência de G6PD entre os sexos.

Variável	G6PD (Brewer)		p valor	G6PD <i>Point of Care</i>		p valor
	Deficiente	Normal		Deficiente	Normal	
Masculino	8	79	0,144	9	78	0,214
Feminino	7	31		7	31	
Total	15	110		16	109	

Fonte: Elaborado pela autora.

Para avaliar as características inerentes ao método ECO G6PD *Point of Care*, o ensaio de Brewer foi utilizado como padrão de referência.

A tabela 4 expressa os resultados comparativos entre o método de Brewer e a metodologia G6PD *Point of Care*. A partir dela, foi possível calcular resultados gerados para especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia diagnóstica.

Tabela 4 – Tabela de contingência da análise comparativa entre o método de Brewer e o G6PD *Point of Care* no diagnóstico da deficiência de G6PD.

G6PD <i>Point of Care</i>	Brewer		Total	P valor
	Deficiente	Normal		
Deficiente	12 (a)	4 (b)	16 (a+b)	<0,001
Normal	3 (c)	106 (d)	109 (c+d)	
Total	15 (a+c)	110 (b+d)	125 (a+b+c+d)	

Fonte: Elaborado pela autora.

O valor da sensibilidade (S) foi obtido através da razão entre o total de amostras positivas para ambos os testes (a) pelo total de amostras positivas encontradas no estudo (a+c); ($S=a/a+c$), garantindo ao teste ECO G6PD *Point of Care* uma sensibilidade de **80,0%** (IC 51,9% – 95,6%). A especificidade (E) encontrada foi de **96,4%** (IC 90,9% – 99,0%), tendo sido determinada pela razão entre o total de amostras negativas para ambos os testes (d) e o total de amostras negativas encontradas no estudo (b+d); ($E= d/b+d$).

O valor preditivo positivo foi determinado através da razão de doentes (a) entre todos os indivíduos com teste positivo (a+b); ($VPP= a/a+b$). Ele expressa a probabilidade de um paciente com teste positivo ter a doença, cujo resultado encontrado foi de **75,0%** (IC 52,59% – 89,03%). De forma semelhante, o valor preditivo negativo foi determinado pela proporção de indivíduos saudáveis (d) entre todos os indivíduos com teste negativo (c+d); ($VPN= d/c+d$). Ele expressa a probabilidade de um paciente com teste negativo não ter a doença, tendo sido encontrado um resultado igual a **97,2%** (IC 92,7% – 98,9%).

A acurácia (A) foi determinada através da probabilidade de o teste fornecer resultados corretos, ou seja, ser positivo nos doentes e negativo nos não doentes. Expresso de outra forma é a probabilidade dos verdadeiros positivos e verdadeiros

negativos (a+d) como uma proporção de todos os resultados (a+b+c+d) e foi calculado como $A = (a+d) / (a+b+c+d)$. Diante dos resultados obtidos, o método ECO G6PD *Point of Care* apresentou uma acurácia total de **94,4%** (IC 92,7% – 98,9%).

Para avaliar a concordância observada entre o método de Brewer e o ECO G6PD *Point of Care* foi calculado o índice kappa, que apresentou uma concordância substancial com índice de **0,742**.

A prevalência da deficiência de G6PD em pacientes portadores de doenças infecciosas no INI-FIOCRUZ no período de maio de 2020 a dezembro de 2021, determinada pelo teste ECO G6PD *Point of Care* foi de **12,8%** (IC 6,8% – 19,2%).

O Procedimento operacional padrão (POP.AT.039) teve sua emissão em 28/12/2021 com o título “ECO G6PD *Point of care*” e, após aprovação da chefia imediata do serviço passou a vigorar, estabelecendo a técnica do método quantitativo para deficiência da G6PD como padrão de referência no INI-FIOCRUZ.

6 DISCUSSÃO

A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase é uma deficiência enzimática comum, prevalente em muitos países onde a malária é endêmica.

Primaquina e tafenoquina (drogas 8-aminoquinolinas) são usadas para eliminar hipnozoítas latentes em estágio hepático e prevenir infecções recorrentes por malária por *Plasmodium vivax* (*P. vivax*). Pacientes com deficiência de G6PD apresentam risco aumentado de eventos hemolíticos agudos após a exposição a esses medicamentos, o que limita seu uso clínico mais amplo (HOWES et al., 2013b). Como tal, a disponibilidade de testes para deficiência de G6PD no local de atendimento aos pacientes beneficia muito o aumento do acesso seguro às 8-aminoquinolinas (BAIRD, 2015). As diretrizes atuais da OMS para o tratamento da malária recomendam que o teste de G6PD seja realizado antes da prescrição de primaquina (WHO, 2016).

No entanto, na prática, o *status* G6PD dos pacientes é muitas vezes desconhecido no momento do diagnóstico da malária devido ao preço e complexidade dos produtos de diagnóstico disponíveis - especialmente no contexto de ambientes remotos e endêmicos de malária e de poucos recursos. Assim, o acesso ao teste G6PD *Point of Care* pode constituir uma ferramenta diagnóstica fundamental para o tratamento seguro de malária por *P. vivax* (ZOBRIST et al., 2021).

O diagnóstico de deficiência em G6PD é realizado através do teste de Brewer na agência transfusional do INI. Em caso de necessidade, este teste é requisitado, porém, o mesmo só revela se a enzima está ou não ativa e conta com algumas limitações. Embora a metodologia seja bastante eficiente, alguns problemas podem ocorrer quando o teste é realizado após episódio de hemólise aguda, em alta contagem de reticulócitos no sangue, e em mulheres que sejam heterozigotas e

podem apresentar enzimas ativas ou inativas. Essa população especificamente pode ter reação hemolítica tão grave quanto as de mulheres homozigotas ou homens hemizigotos para a deficiência.

Em estudo realizado em Bangladesh por Alam e colaboradores (2018), a determinação da deficiência de G6PD em 108 pacientes pelo teste ECO G6PD *Point of Care* (atividade enzimática de 70% calculada previamente por método colorimétrico foi utilizada como ponto de corte) demonstrou uma sensibilidade de 89% (IC 77% - 96%) e especificidade de 93% (IC 83% - 98%).

Bancone e colaboradores (2018) descreveram a comparação de dois testes para investigação da deficiência de G6PD realizada na fronteira entre a Tailândia e Mianmar com 150 participantes, sendo a espectrofotometria considerada o padrão de referência e o aparelho CareStart biosensor *Point of care* como teste a ser validado, onde reportaram uma sensibilidade de 79% (IC 67% - 86) e especificidade 98% (IC 92% - 100%) com níveis de atividade enzimática de 70% como ponto de corte.

Estudo realizado na Fundação de Medicina Tropical em Manaus com 674 participantes (BRITO *et al.*, 2016), sendo 320 diagnosticados com malária, avaliou a precisão de um teste rápido para determinação da G6PD (CareStart biosensor *Point of care*). Os resultados demonstraram uma sensibilidade de 61,5% (IC 35,5% - 82,3%), especificidade de 98,3% (IC 97,0% - 99,1%), VPP de 42,1% (IC 23,1% - 63,73%) e VPN de 99,2% (IC 98,2% - 99,7%).

Estudo realizado por Djigo e colaboradores (2019) na Mauritânia, incluiu 443 participantes para comparação da deficiência de G6PD pela técnica molecular (utilizada como padrão de referência) e o teste CareStart *Point of Care*. Os dados reportam a prevalência de deficiência de G6PD por grupos étnicos, onde negros

africanos e mouros negros apresentaram frequências semelhantes de deficiência de G6PD, 15% e 14,4% ($p=0,89$), respectivamente.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a prevalência de deficiência fenotípica de G6PD usando o teste de diagnóstico rápido ECO G6PD é de 12,8% em pacientes portadores de doenças infecciosas. A prevalência média de deficiência de G6PD entre países com transmissão contínua de malária é estimada em 8% (GÓMEZ-MANZO et al., 2016; HOWES et al., 2012). A prevalência de deficiência de G6PD relatada é também semelhante à observada em outros países da África Ocidental, como Senegal (12%) e Serra Leoa (11,3%) (DE ARAUJO et al., 2006; JALLOH et al., 2008).

Neste trabalho, um total de 87 pacientes (69,6%) foram do sexo masculino. Destes, 9 (10,3%) apresentaram deficiência de G6PD no teste ECO G6PD *Point of Care* enquanto 8 (9,1%) apresentaram resultado positivo para o teste de Brewer. Das 38 mulheres testadas (30,4%), 7 (18,4%) apresentaram resultado positivo para o teste de Brewer e deficiência de G6PD para o teste ECO G6PD *Point of Care*. Estes achados sugerem que não há diferenças na identificação da deficiência de G6PD por ambos os testes em decorrência do sexo dos participantes.

Embora não tenha sido evidenciado no estudo, era esperado um número superior de indivíduos do sexo masculino identificados como portadores da doença, corroborando com a afirmação de que esta enzimopatia é mais comum em indivíduos do sexo masculino, considerando que estes possuem apenas um gene para G6PD, localizado no único cromossomo X, sendo hemizigotos para este gene (LUZZATO, 2006). É possível que esse achado seja decorrente da qualidade do teste quantitativo empregado, classificando corretamente homens e mulheres com deficiência da G6PD,

ou que, o teste qualitativo, por ser de visualização macroscópica e por um único observador, possa ter inferido um viés de observação nos resultados do teste.

A disponibilidade de testes *Point of care* G6PD representa uma oportunidade para o gerenciamento de casos de malária se alinhar melhor às melhores práticas clínicas recomendadas e fornecer tratamentos mais ágeis, seguros e eficazes a todos os pacientes. Esses instrumentos devem ser adaptáveis a vários contextos diferentes de prestação de serviços aos pacientes portadores de doenças infecciosas, em especial os pacientes com suspeita de malária, permitindo sua distribuição e administração de forma descentralizada.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A amostragem do presente estudo representou uma limitação em termos de sua aplicação a comparação com uma metodologia qualitativa e ao grau em que os participantes incluídos neste estudo são representativos de pacientes portadores de doenças infecciosas, em especial, de casos de malária.

Geralmente, a sensibilidade e a especificidade são características inerentes aos testes diagnósticos difíceis de conciliar. A comparação entre um teste quantitativo (ECO G6PD *Point of Care*) com um padrão de referência qualitativo (Brewer) não permitiu uma estatística mais elaborada que pudesse descrever uma melhor correlação entre eles.

Uma limitação importante do estudo é que diferenças importantes entre os diversos tons de cor num teste qualitativo como o Brewer, podem classificar erroneamente o diagnóstico do paciente, principalmente, do sexo feminino (heterozigota). Sendo o teste de Brewer o padrão de referência, é possível que as características do teste ECO G6PD como sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do possam ter sido minimizadas.

Pesquisas adicionais, com um tamanho amostral maior e a utilização de um outro teste quantitativo para comparação com o ECO G6PD são necessárias para entender melhor o impacto no diagnóstico laboratorial da deficiência de G6PD em pacientes portadores de doenças infecciosas.

8 CONCLUSÃO

- A concordância entre o teste ECO G6PD *Point of Care* e o método qualitativo da redução de meta-hemoglobina (Teste de Brewer) na detecção da deficiência de G6PD foi considerada substancial ($\kappa= 0,742$; $p<0,005$);
- A acurácia do método quantitativo ECO G6PD *Point of Care* na detecção da deficiência de G6PD foi de 94,4%;
- A prevalência da deficiência de G6PD, determinada pelo método ECO G6PD *Point of Care*, foi de 12,8% nos pacientes portadores de doenças infecciosas atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas no período de maio de 2020 a dezembro de 2021.
- O procedimento operacional padrão (POP) do teste da deficiência de G6PD pelo método ECO G6PD *Point of Care* foi elaborado, tendo sido revisto e aprovado para uso imediato pela chefia do serviço.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA SÁNCHEZ, T.; NÚÑEZ, D.; SUÁREZ LUENGO, M. Anemia hemolítica por deficiência de G6PD y estrés oxidativo. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, v. 22, n. 3, p. 186–191, set. 2003.

ALAM, M. S. et al. Field evaluation of quantitative point of care diagnostics to measure glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. **PLoS ONE**, v. 13, n. 11, p. e0206331, 2 nov. 2018.

ANDERLE, A. et al. Point-of-Care Testing for G6PD Deficiency: Opportunities for Screening. **International Journal of Neonatal Screening**, v. 4, n. 4, p. 34, 2018.

ARESE, P. et al. Life and Death of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficient Erythrocytes - Role of Redox Stress and Band 3 Modifications. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 39, n. 5, p. 328–334, out. 2012.

ARUNACHALAM, A. K. et al. Molecular Characterization of G6PD Deficiency: Report of Three Novel G6PD Variants. **Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion**, v. 36, n. 2, p. 349–355, abr. 2020.

BAHK, Y. Y. et al. A Profile of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Variants and Deficiency of Multicultural Families in Korea. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 59, n. 5, p. 447–455, 22 out. 2021.

BAIRD, J. K. Point-of-care G6PD diagnostics for Plasmodium vivax malaria is a clinical and public health urgency. **BMC medicine**, v. 13, p. 296, 14 dez. 2015.

BAIRD, J. K.; HOFFMAN, S. L. Primaquine Therapy for Malaria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 9, p. 1336–1345, 1 nov. 2004.

BANCONE, G. et al. Validation of the quantitative point-of-care CareStart biosensor for assessment of G6PD activity in venous blood. **PLOS ONE**, v. 13, n. 5, p. e0196716, 8 maio 2018.

BELFIELD, K. D.; TICHY, E. M. Review and drug therapy implications of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Am J Health Syst Pharm**, v. 75, n. 3, p. 97–104, 01 2018.

BREWER, G. J.; TARLOV, A. R.; ALVING, A. S. The Methemoglobin Reduction Test for Primaquine-Type Sensitivity of Erythrocytes: A Simplified Procedure for Detecting a Specific Hypersusceptibility to Drug Hemolysis. **JAMA**, v. 180, n. 5, p. 386–388, 5 maio 1962.

BRITO, M. A. M. et al. Validation of the rapid test Carestart(tm) G6PD among malaria vivax-infected subjects in the Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 4, p. 446–455, ago. 2016.

BRITO-SOUSA, J. D. et al. Clinical Spectrum of Primaquine-induced Hemolysis in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: A 9-Year Hospitalization-based Study From the Brazilian Amazon. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. 8, p. 1440–1442, 2019.

CAPPELLINI, M. D.; FIORELLI, G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **The Lancet**, v. 371, p. 11, 2008.

CARSON, P. E. et al. Enzymatic Deficiency in Primaquine-Sensitive Erythrocytes. **Science**, 14 set. 1956.

CHU, C. S. et al. Primaquine-induced haemolysis in females heterozygous for G6PD deficiency. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 101, 2 mar. 2018.

COMPRI, M. B.; SAAD, S. T. O.; RAMALHO, A. S. Investigação genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 2, p. 335–342, jun. 2000.

CONITEC. **Triagem neonatal para deficiência de enzima desidrogenase de glicose hepática (glicose-6- fosfato desidrogenase, G6PD)**. Ministério da Saúde, 2018.

DALLOL, A. et al. Five novel glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency haplotypes correlating with disease severity. **Journal of Translational Medicine**, v. 10, p. 199, 24 set. 2012.

DE ARAUJO, C. et al. The role of the G6PD A₁376G/968C allele in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the seerer population of Senegal. **Haematologica**, v. 91, n. 2, p. 262–263, fev. 2006.

DE PAULA FERREIRA, R. I. [UNESP]; LEITE, F. R. M.; LEITE, A. A. [UNESP]. Polimorfismo genético da glicose-6-fosfato desidrogenase na população da região de Araraquara, Estado de São Paulo. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, p. 469, 1 jan. 2014.

DOMINGO, G. J. et al. Addressing the gender-knowledge gap in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: challenges and opportunities. **International Health**, v. 11, n. 1, p. 7–14, jan. 2019.

FERREIRA, N. S. et al. G6PD deficiency in blood donors of Manaus, Amazon Region, northern Brazil. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 43, n. 6, p. e290–e293, dez. 2021.

FRANK, J. E. Diagnosis and Management of G6PD Deficiency. **American Family Physician**, v. 72, n. 7, p. 1277–1282, 1 out. 2005.

GARCIA, A. A. et al. Treatment strategies for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: past and future perspectives. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 42, n. 10, p. 829–844, out. 2021.

GERTH-GUYETTE, E. et al. Usability of a point-of-care diagnostic to identify glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a multi-country assessment of test label comprehension and results interpretation. **Malaria Journal**, v. 20, n. 1, p. 307, 8 jul. 2021.

GÓMEZ-MANZO, S. et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, 9 dez. 2016.

HARCKE, S. J.; RIZZOLO, D.; HARCKE, H. T. G6PD deficiency: An update. **Journal of the American Academy of Physician Assistants**, v. 32, n. 11, p. 21–26, 2019.

HOWES, R. E. et al. G6PD Deficiency Prevalence and Estimates of Affected Populations in Malaria Endemic Countries: A Geostatistical Model-Based Map. **PLoS Medicine**, v. 9, n. 11, 13 nov. 2012.

HOWES, R. E. et al. Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. **Malaria journal**, v. 12, n. 1, p. 418, 2013a.

HOWES, R. E. et al. G6PD Deficiency. In: **Advances in Parasitology**. [s.l.] Elsevier, 2013b. v. 81p. 133–201.

HOWES, R. E. et al. Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. **Malaria Journal**, v. 12, p. 418, 15 nov. 2013c.

JALLOH, A. et al. G6PD deficiency assessment in Freetown, Sierra Leone, reveals further insight into the molecular heterogeneity of G6PD A-. **Journal of Human Genetics**, v. 53, n. 7, p. 675–679, 2008.

KOREVAAR, D. A. et al. Updating standards for reporting diagnostic accuracy: the development of STARD 2015. **Research Integrity and Peer Review**, v. 1, p. 7, 7 jun. 2016.

KOROMINA, M. et al. The ethnogeographic variability of genetic factors underlying G6PD deficiency. **Pharmacological Research**, v. 173, p. 105904, nov. 2021a.

KOROMINA, M. et al. The ethnogeographic variability of genetic factors underlying G6PD deficiency. **Pharmacological Research**, v. 173, p. 105904, nov. 2021b.

LEY, B. et al. Methods for the field evaluation of quantitative G6PD diagnostics: a review. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 361, 11 set. 2017.

LUZZATTO, L. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype. **Haematologica**, v. 91, n. 10, p. 1303–1306, out. 2006.

LUZZATTO, L.; ALLY, M.; NOTARO, R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Blood**, v. 136, n. 11, p. 1225–1240, 10 set. 2020a.

LUZZATTO, L.; ALLY, M.; NOTARO, R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Blood**, v. 136, n. 11, p. 1225–1240, 10 set. 2020b.

LUZZATTO, L.; NANNELLI, C.; NOTARO, R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 30, n. 2, p. 373–393, abr. 2016.

MASON, P. J.; BAUTISTA, J. M.; GILSANZ, F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. **Blood Reviews**, v. 21, n. 5, p. 267–283, set. 2007.

OSORIO, L. et al. Performance of BinaxNOW G6PD Deficiency Point-of-Care Diagnostic in *P. vivax*-Infected Subjects. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 1, p. 22–27, 7 jan. 2015.

PAKPARNICH, P. et al. Combined effects of double mutations on catalytic activity and structural stability contribute to clinical manifestations of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 24307, 21 dez. 2021a.

PAKPARNICH, P. et al. Combined effects of double mutations on catalytic activity and structural stability contribute to clinical manifestations of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 24307, 21 dez. 2021b.

PAL, S. et al. Evaluation of a Novel Quantitative Test for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: Bringing Quantitative Testing for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency Closer to the Patient. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 1, p. 213–221, jan. 2019.

PEREIRA, L. L. M. D. et al. Prevalence of G6PD deficiency and molecular characterization of G202A, A376G and C563T polymorphisms in newborns in Southeastern Brazil. **Einstein (São Paulo)**, v. 17, n. 1, p. eAO4436, 17 jan. 2019.

PETERS, A. L.; NOORDEN, C. J. F. V. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency and Malaria: Cytochemical Detection of Heterozygous G6PD Deficiency in Women. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 57, n. 11, p. 1003–1011, nov. 2009.

PFEFFER, D. A. et al. Quantification of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity by spectrophotometry: A systematic review and meta-analysis. **PLOS Medicine**, v. 17, n. 5, p. e1003084, 14 maio 2020.

PIENTHAI, N. et al. Development of suitable external quality control material for G6PD deficiency screening with the fluorescent spot test. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 58, n. 1, p. e18–e20, 18 dez. 2019.

ROPER, D. et al. Laboratory diagnosis of G6PD deficiency. A British Society for Haematology Guideline. **British Journal of Haematology**, v. 189, n. 1, p. 24–38, abr. 2020.

WARNY, M. et al. Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and diagnostic challenges in 1500 immigrants in Denmark examined for haemoglobinopathies. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 75, n. 5, p. 390–397, 4 jul. 2015.

WHO. **Testing for G6PD deficiency for safe use of primaquine in radical cure of P. vivax and P. ovale malaria. Policy brief.** World Health Organization, , 2016.

YOUNGSTER, I. et al. Medications and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: An Evidence-Based Review. **Drug Safety**, v. 33, n. 9, p. 713–726, set. 2010.

ZHANG, L. et al. A multiplex method for detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) gene mutations. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 37, n. 6, p. 739–745, dez. 2015.

ZOBRIST, S. et al. Evaluation of a point-of-care diagnostic to identify glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009649, ago. 2021.

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação da acurácia e confiabilidade de dois métodos diagnósticos para detecção da deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) em pacientes portadores de doenças infecciosas.

Pesquisador: ALEXANDRE GOMES VIZZONI

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 04867118.8.0000.5262

Instituição Proponente: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INIFIOCRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.989.125

Apresentação do Projeto:

De acordo com o documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1523105_E1.pdf", de 09/03/2020:

Resumo:

A deficiência da enzima glicose 6 fosfato desidrogenase (G6PD) é causada por uma alteração genética que causa diminuição de sua atividade ou estabilidade. Na deficiência dessa enzima os danos observados refletem a fragilidade celular ao estresse oxidativo, com dano aos lipídios da membrana dos eritrócitos, particularmente suscetíveis por serem ricos em grupos sulfidríla (SH), formando produtos dissulfetos que levam à desnaturação de proteínas dessa membrana e dano à hemoglobina. A hemoglobina desnaturada se precipita no interior da hemácia formando os corpúsculos de Heinz com conseqüente hemólise. Esta enzimopatia é o distúrbio metabólico mais comum das hemácias, afetando aproximadamente mais de 400 milhões de pessoas em todo o mundo. Frequências elevadas são observadas principalmente nas zonas tropicais e subtropicais do hemisfério oriental: 1% a 3% no sul da Itália, 2% a 16% no Sul da China e Taiwan, 4,5% no Kuwait, 3% a 25% na Sardenha, acima de 26% em algumas regiões da África e até 70% em judeus.

Estudos visando identificar a deficiência de G6PD em países onde a malária é endêmica, revelou que o Brasil possui o maior número absoluto de homens testados para a deficiência de G6PD

Endereço: Avenida Brasil 4385

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.040-360

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.989.125

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 24 de Abril de 2020

Assinado por:
Mauro Brandão Carneiro
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.040-360

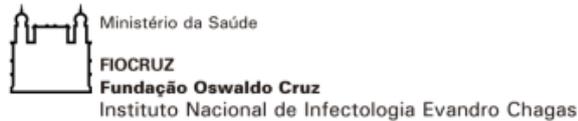
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ini.fiocruz.br

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

TÍTULO DO PROJETO:

AValiação DA ACURÁCIA E CONFIABILIDADE DE DOIS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA DETECÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE (G6PD) EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS

COORDENADOR DO PROJETO: Alexandre Gomes Vizzoni

Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado: "Avaliação da acurácia e confiabilidade de dois métodos diagnósticos para detecção da deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) em pacientes portadores de doenças infecciosas". Este estudo tem o objetivo de avaliar o desempenho de dois métodos diagnósticos da deficiência de G6PD. Em caso de qualquer dúvida, o (a) Sr. (a) poderá entrar em contato com o Coordenador do Projeto, Alexandre Gomes Vizzoni, no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – Fiocruz, no endereço: Av. Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, CEP: 21.040-361. Telefones: 3865-9675 e 3865-9584.

Esteja ciente que sua participação é **VOLUNTÁRIA**, o que significa que o (a) Sr. (a) poderá decidir se quer ou não participar deste estudo, ou caso haja qualquer **DESCONFORTO** ou **CONSTRANGIMENTO** durante o mesmo o Sr. (a) poderá solicitar a não participação ou desistência do estudo. Caso não aceite ou desista de participar do estudo seu tratamento ou investigação diagnóstica ocorrerá sem nenhum prejuízo.

Este estudo ocorrerá de forma **CONFIDENCIAL** e manterá seu **ANONIMATO** em todos os exames que realizar e também sobre seu diagnóstico. Somente a equipe de profissionais envolvida neste estudo terá conhecimento dos resultados dos exames que realizar e do conteúdo que foi informado durante a(s) consulta(s). Os resultados são confidenciais e serão fornecidos somente ao interessado, sendo arquivados na Agência Transfusional do INI, sob responsabilidade do Dr. Alexandre Gomes Vizzoni.

A sua participação neste estudo é fundamental e poderá gerar benefícios para as pessoas portadoras de doenças infecciosas no futuro, após o término do estudo.

A equipe e os investigadores do centro terão acesso aos seus registros do estudo/prontuários clínicos. Seus registros também poderão ser analisados por grupos que supervisionam este estudo, para verificarem que estamos protegendo seus direitos, mantendo-o seguro e seguindo o plano de estudo. Esses grupos são compostos por representantes da equipe do protocolo de estudo; e pelos Comitês de Ética em Pesquisa do INI e da UFRJ. Todos os revisores tomarão medidas para manter seus registros confidenciais.

Rubricas:

Declaro que fui informado de que:

Poderei recusar-me a participar da pesquisa, sem que este fato me venha causar qualquer constrangimento e que o meu atendimento clínico em nada será modificado pela minha recusa;

Os exames aplicados serão gratuitos e que receberei a assistência integral e imediata, de forma gratuita pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa;

Antes de assinar este Termo, devo ser informado plenamente sobre a pesquisa e ter a possibilidade de fazer perguntas de qualquer natureza que julgar conveniente a esclarecer;

Nesta investigação serão coletados de 05 ml de sangue. O sangue será colhido assepticamente por punção de uma veia do braço. Este procedimento será realizado junto com a coleta dos exames de rotina, não implicando em uma punção venosa separada. A coleta de sangue é um exame seguro, podendo causar pequeno desconforto, como um pequeno hematoma, ou seja, extravasamento de sangue da veia para o tecido, no local da punção;

Esta pesquisa poderá não trazer benefícios imediatos para o meu acompanhamento clínico, mas poderá trazer conhecimento a respeito do desempenho dos testes diagnósticos para detecção da deficiência de G6PD;

O material biológico coletado, após exames, **NÃO** será armazenado para pesquisas futuras.

Se concordar em participar desta pesquisa, você será solicitado a rubricar todas as páginas e assinar no final duas vias deste termo de consentimento livre e esclarecido. Um membro da equipe do estudo e o pesquisador responsável também rubricarão todas as páginas e assinarão no final dessas duas vias. Uma dessas vias originais ficará com você e a outra no centro de pesquisa, a fim de evitar que o descumprimento dessa orientação venha a acarretar qualquer prejuízo/impedimento ao estudo.

Declaro estar ciente do conteúdo deste Termo de Consentimento, decidindo-me participar da investigação proposta, depois de ter formulado perguntas e de ter recebido respostas satisfatórias a todas elas, e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer momento.

Nome completo do voluntário: _____

Endereço: _____

Local: _____ Data: ___ / ___ / _____

Digital se participante analfabeto

Ass. do Voluntário ou Responsável legal



Ass. do membro da equipe que obteve o Termo

APÊNDICE B – Procedimento Operacional Padronizado - POP

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO	 INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
Título: ECO G6PD Point of Care		POP. AT. 039
Emissão 28 / 12 / 2021	Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____	

1. OBJETIVO

Este POP tem como objetivo descrever a técnica do método quantitativo ECO G6PD *Point of Care* para identificação de portadores de deficiência de glicose 6 fosfato desidrogenase (G6PD), em pacientes atendidos pelo Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, fornecendo um diagnóstico rápido, permitindo assim decisões imediatas ao tratamento, especialmente em pacientes com suspeita de malária.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Aplicável aos colaboradores da Agência Transfusional do INI/Fiocruz.

3. DEFINIÇÕES/SIGLAS

AT: Agência Transfusional
 BCIP: 5- bromo-4-cloro-3-indolilfosfato
 dL: Decilitros
 EDTA: Ácido Etilenoaminotetracético
 G6PD: Glicose 6 fosfato desidrogenase
 Hb: Hemoglobina
 µL: Microlitros
 NA: Não se Aplica
 NADP: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
 NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
 NBT: Nitro azul tetrazólio
 POP: Procedimento Operacional Padrão
 U/g: Unidade por grama

4. RESPONSABILIDADES

Funcionários da Agência Transfusional do INI.

ELABORAÇÃO Agência Transfusional	REVISÃO – ANÁLISE CRÍTICA Agência Transfusional	APROVAÇÃO Agência Transfusional
Flávia Regina Medeiros da Silva	Alexandre Vizzoni	Alexandre Vizzoni
Cópia Controlada – Reprodução Proibida		Página 1 de 9

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: G6PD ECO <i>Point of Care</i></p>		<p>POP. AT. 039</p>
<p>Emissão 28 / 12 / 2021</p>	<p>Revisão N° _____, de _____ / _____ / _____</p>	

5. FLUXOGRAMAS

Não se aplica.

6. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

6.1. Princípio:

A G6PD é uma enzima citoplasmática presente em todas as células do organismo, cuja função é proteger as células do estresse oxidativo causada pelas espécies reativas de oxigênio e radicais livres, evitando danos oxidativos a lipídeos, proteínas e DNA, preservando assim a integridade das células. O problema médico mais comum associado a deficiência de G6PD é a anemia hemolítica que causa palidez, amarelamento da pele, do branco dos olhos, urina escura, fadiga, falta de ar e taquicardia.

A deficiência de G6PD acomete mais de 400 milhões de pessoas em todo o mundo, tendo frequência variáveis de acordo com região e etnia, é uma enzimopatia ligada ao cromossomo X, acomete geralmente o sexo masculino por possuírem apenas um gene para G6PD. No Brasil a prevalência é de 1 à 10%, sendo mais afetados indivíduos com ancestralidades africanas.

A maioria dos portadores da deficiência de G6PD são assintomáticos até exposição de gatilhos hemolíticos, como ingestão de fava, infecções e determinados medicamentos oxidantes, entre eles a primaquina.

A exposição dos eritrócitos deficientes de G6PD a certas drogas como a primaquina, resulta em produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que oxidam a glutatona, formando um complexo misto, que altera a forma das hemácias, que então são reconhecidas pelo organismo como estranhas e assim retiradas da circulação pelos macrófagos. A primaquina está associada a hemólise grave.

O ECO G6PD *Point of Care* é um teste quantitativo que se baseia na calorimetria, a G6PD catalisa a primeira etapa da vias das pentoses, oxidando a glicose-6-fosfato a 6-

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO	 INI Instituto Nacional de Tecnologia Evandro Chagas
Título: G6PD ECO <i>Point of Care</i>		POP. AT. 039
Emissão 28 / 12 / 2021	Revisão N°____, de ____ / ____ / ____	

fosfogluconolactona e reduzindo NADP a NADPH. Com a formação do NADPH, o BCIP e o NBT são reduzidos pela ação da diaforase, resultando na coloração violeta, que é diretamente proporcional a quantidade de G6PD presente na amostra. O resultado do teste é exibido na tela do analisador em apenas 2 minutos.

6.2. Amostra utilizada

- Sangue total – tubo com anticoagulante EDTA – Tampa roxa

6.3. Volume mínimo

- 1 ml

6.4. Estabilidade

- 1 dia (24 horas)

6.5. Armazenamento

- 1 dia (24 horas) se refrigerado de 2 a 8 °C.

6.6. Critérios de rejeição

- Sem identificação correta
- Material coagulado
- Hemólise intensa

6.7. PASSO A PASSO:

- Checar a data de validade impressa no sachê de alumínio;

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Tecnologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: G6PD ECO <i>Point of Care</i></p>		<p>POP. AT. 039</p>
<p>Emissão 28 / 12 / 2021</p>	<p>Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____</p>	

- Checar o código impresso no sachê de alumínio (certifique-se que o número do código impresso no sachê de alumínio seja o mesmo número do chip);
- Inserir o chip no local indicado;
- Colocar as luvas;
- Abrir a embalagem de alumínio e retirar a tira teste;
- Ligar o aparelho;
- Segure a tira teste com o dedo polegar e o dedo indicador. Certifica-se que o orifício da aplicação da amostra esteja na parte superior;
- Inserir a strip teste no aparelho até o encaixe final;
- Abrir a tampa da câmara de medição no analisador;
- Homogeneizar a amostra de sangue total coletada em EDTA;
- Abrir o tubo e retirar o equivalente de sangue total assinalado na pipeta;
- Introduza a pipeta capilar com a amostra de sangue no frasco do tampão de extração;
- Homogeneíze a amostra e a solução de extração por 8 a 10 vezes;
- Descarte a pipeta no Descarpack;
- Retire uma nova pipeta, segure a pipeta capilar horizontalmente e toque a ponta da pipeta na solução amostra+tampão;
- Por ação capilar, a solução vai subir pela pipeta até a linha preta;
- Aplique a solução amostra+tampão no orifício de aplicação da amostra no dispositivo teste;

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO	 INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
Título: G6PD ECO Point of Care		POP. AT. 039
Emissão 28 / 12 / 2021	Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____	

- Fechar a tampa da câmara de medição do analisador imediatamente após aplicação da amostra;
- Descarte a pipeta capilar no Descarpack;
- Aguardar 2 minutos para o resultado aparecer no visor.

6.8. INTERFERENTES

Substâncias Interferentes	
Bilirrubina	5 mg/dL
Triglicérides	500 mg/dL
Colesterol	250 mg/dL

Até a concentração acima, não interferem nos resultados dos testes.

6.9. VALORES RECOMENDADOS

HOMEM	
G6PD Deficiente	< 3.9 U/g Hb
G6PD Normal	> 4.0 U/g Hb

MULHER	
G6PD Deficiente	< 3.9 U/g Hb
G6PD Intermediário	4.0 – 6.0 U/g Hb
G6PD Normal	> 6.0 U/g Hb

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO	 INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
Título: G6PD ECO Point of Care		POP. AT. 039
Emissão 28 / 12 / 2021	Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____	

Se o teste indicar resultado deficiente ou intermediário, o teste deverá ser repetido.

7. ANEXOS

- **Anexo 1:** Lista de agentes capazes de desencadear hemólise em eritrócitos com deficiência de G6PD.

8. FORMULÁRIOS UTILIZADOS

- Controle de exames imunohematológicos (INI-AT-001).

9. REFERÊNCIAS

CAPPELLINI, M.; FIORELLI, G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. The Lancet, v. 371, n. 9606, p. 64–74, 5 jan. 2008.

DALLOL, A. et al. Five novel glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency haplotypes correlating with disease severity. Journal of Translational Medicine, v. 10, p. 199, 24 set. 2012.

EBERLE, S. E. et al. Phenotypic and genotypic characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Argentina. Retrospective and descriptive study. Archivos Argentinos de Pediatría, v. 117, n. 4, 1 ago. 2019.

SANTOS, G. R, QUEIROZ, L.A.B, RODRIGUES, J. V. S, OLIVEIRA, M.V.M. Deficiência de G6PD, anemia falciforme e suas implicações sobre a malária. Revista Bionorte, v.6, n.2, julho 2017.

10. DISTRIBUIÇÃO

ÁREA	No. DE CÓPIAS
Agência Transfusional	01

 Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO	 INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
Título: G6PD ECO Point of Care		POP. AT. 039
Emissão 28 / 12 / 2021	Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____	

11. HISTÓRICO DE REVISÕES

No. DA REVISÃO	DATA	ITEM ALTERADO	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO	RESP. PELA ALTERAÇÃO	JUSTIFICATIVA

12. DESATIVAÇÃO

DATA	RESPONSÁVEL	MOTIVO DA DESATIVAÇÃO

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: G6PD ECO Point of Care</p>		<p>POP. AT. 039</p>
<p>Emissão 28 / 12 / 2021</p>	<p>Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____</p>	

ANEXO 1

**AGENTES CAPAZES DE DESENCADEAR HEMÓLISE EM ERITRÓCITOS COM
DEFICIÊNCIA DE G6PD**

CATEGORIA	PODEM SER USADOS COM CUIDADO	DEVEM SER EVITADOS
ANALGÉSICOS E ANTIPIRÉTICOS	Acetaminofen, acetofenatidina (fenacetina), ácido acetilsalicílico, aminopirina, antipirina, fenacetina, paracetamol	Acetanilida, metamizol, flutane, ácido para aminosalicílico
ANTIARRÍTMICOS	Procainamida	Quinidina
ANTI-HELMÍNTICOS		Piperazina
ANTI-HIPERTENSIVOS		Captopril, enalapril (maleato), hidralazina (cloridrato)
ANTI-MALÁRICOS	Cloroquina, pirimetamina, quinacrina, quinino	Hidroxicloroquina, mefloquina, pamaquina, pentaquina, primaquina, quinocida
ANTI-ANGINOSOS		Mononitrato de Isossorbida, dinitrato de isossorbida, nitroglicerina (trinitrina)
ANTIBACTERIANOS	Ácido p-aminobenzóico, Isoniazida, trimetropina, Estreptomina	Ácido Nalidíxico, cloranfenicol, ciprofloxacino, dapsona, fenazopiridina, furaltodona, furmetonol, nitrofurantoina, nitrofurazona, norfloxacino, ofloxacino, Co-trimoxazol, furmetonol, neoarsfenamina
ANTIEPILÉTICOS	Fenitoína	
ANTIPARKINSONIANO	L-Dopa	
ANTIPROTOZOÁRIOS		Furazolidona
ANTI-SÉPTICOS		Azul de Metileno
ANTITÓXICOS		Dimercaprol (BAL)
ANTINFLAMÁTORIO		Probenicida
ANTI-HISTAMÍNICOS	Astemizol, azatadina, bronfeniramina, cetirizina, clorfeniramina, ciproheptadina, difenidramina, dexclorfeniramina, difenidramina, elastina, hidroxizina, loratadina,	

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	<p>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO</p>	 <p>INI Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas</p>
<p>Título: G6PD ECO <i>Point of Care</i></p>		<p>POP. AT. 039</p>
<p>Emissão 28 / 12 / 2021</p>	<p>Revisão Nº _____, de _____ / _____ / _____</p>	

	mequitazina, oxatomida, terfenadina	
CITOSTÁTICOS	Doxorrubicina (cloridrato)	
CONTRASTES		Azul de Toluidina
ESTROGENIO		Mestranol
SULFONAMIDAS E SULFONAS	Sulfisoxazole Sulfadiazina Sulfametoxipiridazina	Sulfacetamida, Sulfametoxazol, Sulfametoxipirimidina, Sulfapiridina, Sulfassalazina, Diaminodifenilsufona (DDS), Dapsona, Sulfanilamida, sulfamerazina, sulfatiazole, sulfoxone, tiazolsufona, Nacetilsufanilamida, sulfatiazole
VITAMINAS	Vitamina C (Ácido Ascórbico)	Vitamina K1 Vitamina K3
ALIMENTOS e USO DOMÉSTICO		corantes, grão de fava, Naftaleno