

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA  
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS - FMTAM  
MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**

**ESTUDO SOBRE METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-  
FOSFATO DESIDROGENASE EM PACIENTES COM MALÁRIA TRATADOS COM  
PRIMAQUINA NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS**

**JOSÉ FELIPE JARDIM SARDINHA**

**MANAUS  
2006**

JOSÉ FELIPE JARDIM SARDINHA

**ESTUDO SOBRE METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE EM PACIENTES COM MALÁRIA TRATADOS COM PRIMAQUINA NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, como requisito para obtenção do título de *Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas*.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dra. Maria das Graças Costa Alecrim

**Co-orientadores:** Prof<sup>a</sup> Dra. Flor Ernestina Martinez Espinosa  
Prof. MSc. Wilson Duarte Alecrim

**MANAUS**

**2006**

## FICHA CATALOGRÁFICA

SARDINHA, José Felipe Jardim

Estudo sobre metemoglobinemia e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes com malária tratados com primaquina na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas / José Felipe Jardim Sardinha – Manaus – AM: UEA; FMTAM, 2006.

xii. 61 pág

Dissertação de Mestrado em Doenças Tropicais e Infecciosas

1. Malária    2. Metemoglobina    3. Glicose-6-fosfato Desidrogenase    4.  
Primaquina I. Título

## FOLHA DE JULGAMENTO

### ESTUDO SOBRE METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE EM PACIENTES COM MALÁRIA TRATADOS COM PRIMAQUINA NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS

**JOSÉ FELIPE JARDIM SARDINHA**

“Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas”.

Banca Julgadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Maria das Graças Costa Alecrim, Dra.  
Presidente

---

Prof. Luiz Carlos de Lima Ferreira, Dr.

---

Prof<sup>a</sup>. Ivete de Araújo Roland, Dra.

## **DEDICATÓRIA**

***Aos meus pais, Ítalo e Nilda, o meu mais profundo reconhecimento pelos ensinamentos da vida.***

***À minha querida esposa, Márcia, e meus filhos, Felipe e Marcelo, pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.***

***A todos aqueles que me incentivaram nesta jornada, meus mais sinceros agradecimentos.***

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Universidade do Estado do Amazonas, Superintendência da Zona Franca de Manaus (SUFRAMA) e Fundação Muraki, que apoiaram a realização deste trabalho

Este trabalho não teria sido realizado sem a colaboração e o apoio da Direção, dos professores, dos colegas e demais servidores da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. Não tendo palavras para expressar individualmente minha gratidão a todos que colaboraram com este trabalho, limito-me a mencioná-los na certeza de ser compreendido.

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria das Graças Costa Alecrim, Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dra. Flor Ernestina Martinez Espinosa, Co-orientadora

Prof. MSc Wilson Duarte Alecrim, Co-orientador

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria das Graças Vale Barbosa, Coordenadora do Curso de Mestrado e Doutorado da FMTAM / UEA

MSc Yonne Francis Cheuhan Melo, Pesquisadora

Marli Stela Santana Maciel, colaboradora

Acadêmica Pricila Lima Santos, colaboradora

Acadêmica Susy Caroline Lopes Silva, colaboradora

Acadêmica Magda Ivone Grieger, colaboradora

Acadêmica Lisele Maria Rodrigues Alves Brasileiro, colaboradora

Servidores e estagiários da Gerência de Diagnóstico da FMTAM

Servidores e estagiários da Gerência de Malária da FMTAM

Servidores e estagiários da Gerência de Animais Peçonhentos da FMTAM

A todos que, em algum momento, com palavras de incentivo, nos ajudaram a concluir este trabalho

A todos os pacientes participantes deste estudo, que de maneira anônima, contribuíram para o aprimoramento de nosso conhecimento.

**LISTA DE ABREVIATURAS**

6-MAQ	6-metoxi-8-aminoquinolina
ATP	Adenosina trifosfato
Cdna	Ácido Desoxiribonucleico complementar
DI	Decilitro
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
EDTA	Anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético
G-6-PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GSH	Glutation reduzido
GSSG	Glutation oxidado
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
Hb	Hemoglobina
IPA	Índice Parasitário Anual
MAQ-NOH	6-metoxi-8-hidroxiaminoquinolina
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
QBC	Quantitative Buff Coat
RNA	Ácido Ribonucleico
U/g	Unidades por grama
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
µL	Microlitro

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1	Ciclo evolutivo dos plasmódios	5
Figura 2	Molécula de primaquina – esquemático	10
Figura 3	Redução do glutation oxidado	12
Figura 4	Distribuição dos 200 pacientes com malária, conforme o sexo	25
Figura 5	Distribuição dos 200 pacientes conforme o tipo de infecção malárica	27
Figura 6	Ocorrência de episódios anteriores de malária nos 200 pacientes com malária	28
Figura 7	Sinais e sintomas clínicos de maior freqüência nos 200 pacientes com malária	28
Figura 8	Correlações positivas (1, 2 e 3) e negativas (4, 5 e 6) estatisticamente significativas entre os níveis de G6PD e alguns parâmetros hematológicos	33
Figura 9	Prevalência de metemoglobinemia em pacientes com malária vivax ou mista atendidos na FMTAM	36



**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Protocolo de tratamento da malária pelo <i>P. vivax</i> nos pacientes do estudo	9
Tabela 2	Protocolo de tratamento da malária pelo <i>P. falciparum</i> nos pacientes do estudo com infecção mista	9
Tabela 3	Distribuição dos 200 pacientes com malária vivax, segundo critérios de raça/cor	26
Tabela 4	Distribuição segundo sexo e faixa etária dos 200 pacientes com malária	26
Tabela 5	Provável local de infecção malárica em 200 pacientes com <i>P. vivax</i> tratados na FMTAM, no período de out a dez 05	27
Tabela 6	Ocorrência de hemoglobinúria nos 200 pacientes considerados deficientes enzimáticos pelo método qualitativo de Brewer	30
Tabela 7	Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à deficiência de G6PD por método qualitativo	30
Tabela 8	Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à deficiência de G6PD por método quantitativo	31
Tabela 9	Ocorrência de hemoglobinúria nos 200 pacientes com malária, normais e deficientes da enzima G6PD pelo método quantitativo .	33
Tabela 10	Propriedades diagnósticas do teste de Brewer utilizando como padrão o teste enzimático quantitativo	34
Tabela 11	Escala de avaliação da intensidade da concordância, segundo Landis e Koch (1977)	35
Tabela 12	Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à concentração de metemoglobina	36
Tabela 13	Deficiência enzimática pelos dois métodos de triagem nos pacientes com valores de metemoglobina normal e aumentada	37

## RESUMO

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) desempenha um papel de fundamental importância no metabolismo eritrocitário, tanto na obtenção de energia a partir da glicose, quanto na sua proteção contra agentes oxidantes. Sua deficiência é a mais freqüente das enzimopatias conhecidas e afeta cerca de 400 milhões de pessoas em todo o mundo. A metemoglobinemia, situação caracterizada pela elevação da concentração de metemoglobina no sangue, consiste no ineficaz transporte de oxigênio causado pela oxidação do ferro da hemoglobina. No tratamento da malária vivax utiliza-se a primaquina, droga ativa contra estágios sexuados de todas as espécies de plasmódios e também dos hipnozoítos do *P. vivax*, tendo como efeitos colaterais anorexia, náuseas, vômitos, dores abdominais e cólicas, que estão relacionados com a dose e sua ação hemolítica é mais acentuada em pessoas com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase. Com o objetivo de estudar a ocorrência de metemoglobinemia e a deficiência de G-6-PD em pacientes com malária vivax ou infecção mista (F+V) tratados com primaquina, foram selecionados 200 pacientes no ambulatório de malária da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, instituição de ensino, pesquisa e assistência, que é unidade de referência para o diagnóstico e tratamento da malária no município de Manaus. A prevalência da deficiência de G-6-PD avaliada pelo método qualitativo de Brewer (redução da metemoglobina) foi de 3,5% e pelo método quantitativo colorimétrico foi de 5,0%. A metemoglobina foi verificada pela técnica de Naoum sem interferentes químicos ou enzimáticos e a ocorrência deste evento foi de 34,0%, o que sugere que o indivíduo não precisa ser deficiente para desenvolver metemoglobinemia. A prevalência da deficiência enzimática na população de estudo foi significativa, o que pode representar um número absoluto considerável de pacientes deficientes enzimáticos com infecção por *P. vivax* que estariam expostos aos efeitos hemolíticos da primaquina. A média de idade elevada entre os pacientes deficientes sugere um decréscimo funcional da enzima com a idade. Os resultados do presente estudo também sugerem investigação indispensável de antecedentes de icterícia em pacientes que serão expostos à primaquina e que a ausência de hemoglobinúria praticamente afasta o diagnóstico da deficiência enzimática em pacientes em tratamento com esta droga.

**Palavras chaves:** malária; metemoglobina; glicose-6-fosfato desidrogenase; primaquina

## ABSTRACT

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) plays a fundamentally important role on the erythrocyte metabolism, both on the acquisition of energy from glucose and protection against oxidizing agents. Its deficiency is the most frequent of all known enzyme defects and affects nearly 400 million people worldwide. Methemoglobinemia, which is characterized by the rising methemoglobin concentration in the blood, consists of the inefficient transport of oxygen brought about by hemoglobin iron oxidation. Primaquine, an active drug against sexed stages of all plasmodium species, is used on the treatment of vivax malaria, as well as *P. vivax* hypnozoites. This drug presents side effects like anorexia, nausea, vomits, abdominal aches and colics related to the dosage. Its hemolytic action is more pronounced on people with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. For the purpose of studying the occurrence of methemoglobinemia and G-6-PD deficiency in patients presenting vivax malaria or mixed infection (F+V), who had been treated with primaquine, 200 subjects were selected in the malaria ambulatory of the Tropical Medicine Foundation of Amazonas. This is a teaching, research and care institution, known as being the unit of reference for the diagnosis and treatment of malaria in the county of Manaus. The G-6-PD deficiency prevalence evaluated by the Brewer qualitative method (methemoglobin reduction) was 3.5% and by the colorimetric quantitative method it was 5.0%. Methemoglobin was ascertained by the Naoum technique without interference of chemical reagents or enzymes and the occurrence of this event was 34.0%, which suggests an individual doesn't have to be deficient for developing methemoglobinemia. Enzymatic deficiency prevalence was significant in the studied population, which may represent considerable number of deficient enzymatic patients with infection by *P. vivax* who would be exposed to primaquine hemolytic effects. The high average of age between the deficient patients suggests a functional decrease of the enzyme along lifetime. The results of the present study also suggest indispensable investigation of antecedents of jaundice in patients who will be exposed to the primaquine and that the absence of hemoglobinuria practically eliminates the diagnosis from the enzymatic deficiency in patients in treatment with this medicine.

**Keywords:** malaria; methemoglobin; glucose-6-phosphate dehydrogenase; primaquine

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	
1.1	A malária .....	1
1.1.1	A malária no Mundo .....	1
1.1.2	A malária nas Américas .....	2
1.1.3	A malária no Brasil .....	2
1.1.4	A malária na Amazônia .....	2
1.2	A transmissão .....	3
1.3	O ciclo biológico dos plasmódios humanos .....	4
1.4	Manifestações clínicas .....	6
1.5	Diagnóstico .....	7
1.6	Tratamento .....	8
1.7	A Glicose-6-fosfato desidrogenase .....	11
1.7.1	A deficiência de G-6-PD .....	13
1.7.2	Freqüência da deficiência de G-6-PD em populações brasileiras..	15
1.7.3	Freqüência da deficiência de G-6-PD na Amazônia Brasileira .....	15
1.7.4	Metemoglobinemia e deficiência de G-6-PD .....	16
1.7.5	Manifestações clínicas da deficiência de G-6-PD .....	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	
2.1	Geral .....	19
2.2	Específicos .....	19
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	
3.1	Modelo de estudo .....	20
3.2	Universo de estudo .....	20
3.2.1	População de referência .....	20
3.2.2	População de estudo .....	20
3.2.3	Desenvolvimento do estudo.....	21
3.3	Procedimentos .....	21
3.3.1	Exames laboratoriais .....	21
3.3.1.1	Hematológicos .....	21
3.3.1.2	Bioquímicos .....	22
3.3.1.3	Pesquisa de hemoglobinúria .....	22
3.3.1.4	Metemoglobina .....	22
3.3.1.5	Teste qualitativo de Brewer .....	23
3.3.1.6	Dosagem quantitativa da G-6-PD .....	23
3.4	Tamanho da amostra .....	24
3.5	Critérios de inclusão .....	24
3.6	Critérios de exclusão .....	24
3.7	Banco de dados .....	24
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	
4.1	Descrição da casuística .....	25
4.2	Deficiência enzimática de glicose-6-fosfato desidrogenase .....	29
4.2.1	Método qualitativo .....	29
4.2.2	Método quantitativo .....	30
4.2.3	Validade das técnicas de diagnóstico da enzimopatia .....	35

4.3	Metemoglobinemia .....	36
4.4	Deficiência enzimática de G-6-PD e metemoglobinemia .....	37
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXOS</b>		
A	Protocolo da determinação qualitativa da G-6-PD.....	53
B	Protocolo da determinação da metemoglobina .....	55
C	Certificado de aprovação do projeto no CEP .....	56
D	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	57
E	Ficha Clínica/Epidemiológica.....	60
F	Formulário de Resultado da G-6-PD .....	61

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 A malária

A malária é uma doença parasitária, sistêmica, com manifestações episódicas de caráter agudo, que acomete milhões de pessoas nas zonas tropicais e subtropicais do mundo. A depender da situação epidemiológica, pode ter evolução crônica. É, talvez, a mais antiga, a mais distribuída e a mais conhecida das doenças parasitárias que acometem o homem. A descoberta do parasito da malária no sangue humano foi realizada por Charles Louis Alphonse Laveran, na Argélia em 1880, tendo sido chamado inicialmente de *Oscillaria malariae* (Garnham e Duggan, 1986).

Quatro espécies do parasito causam a doença em humanos:

- *P. malariae* (Laveran, 1881): poucos casos por esta espécie ocorrem no mundo.
- *P. vivax* (Grassi e Feleti, 1890): amplamente distribuído em zonas tropicais e subtropicais.
- *P. falciparum* (Welch, 1897): ocorre principalmente em regiões tropicais, sendo responsável pela maioria dos casos de óbitos por malária no mundo.
- *P. ovale* (Stephens, 1922): de distribuição limitada, ocorrendo principalmente em regiões da África.

#### 1.1.1 A malária no Mundo

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, 107 países são considerados endêmicos para a malária, sendo que mais de 40% deles estão localizados na África sub-Saariana.

Estima-se que, anualmente, ocorram de 350 a 500 milhões de infecções no mundo, com mais de um milhão de óbitos, sendo que a maioria destes ocorre na África, em crianças menores de cinco anos. Os países africanos contribuem com mais de 60% dos casos. A doença ocorre, principalmente, em países da África, Ásia, América Central e do Sul (WHO, 2005).

### **1.1.2 A malária nas Américas**

Durante o ano de 2004 foram notificados cerca de 870 mil de casos de malária nas Américas. Do total de casos registrados, 52,8% ocorreu no Brasil, sendo a região Amazônica a de maior concentração da doença. No mesmo período, a Colômbia contribuiu com 13,4%, o Equador com 3,4%, o Peru com 9,8% e a Venezuela com 5,3% do total de casos registrados nas Américas. (PAHO, 2005).

### **1.1.3 A malária no Brasil**

No Brasil foram notificados 602.902 casos no ano de 2005, sendo 447.883 (74,2%) por *P. vivax* (SIVEP, 2006). Na Amazônia legal brasileira ocorrem 99,8% dos casos registrados no país. Nesta região, a transmissão da malária é influenciada por projetos de colonização, garimpos, desenvolvimento econômico e ocupações desordenadas na periferia das áreas urbanas dos municípios.

### **1.1.4 A malária na Amazônia**

A Amazônia brasileira, responsável pela quase totalidade dos casos registrados no país, apresenta condições ecológicas e socioeconômicas que favorecem a transmissão da malária, tendo como um dos principais facilitadores as águas das chuvas, dos rios, igarapés, lagos e outros. As condições climáticas, principalmente no verão, facilitam o aumento da densidade vetorial e desenvolvimento dos plasmódios nos vetores.

A malária na Amazônia não se apresenta distribuída uniformemente em toda a sua extensão, uma vez que se observam áreas com elevada e outras com baixa transmissão, existindo outras isentas da doença. A maioria dos casos está atualmente concentrada em três unidades federativas: Amazonas, Rondônia e Pará, que juntos foram responsáveis por cerca de 88% de todos os casos da região amazônica brasileira, no ano de 2005 (SIVEP, 2006).

No Amazonas foram notificados 219.826 casos de malária em 2005, sendo 161.693 (73,5%) por *P. vivax*. No município de Manaus, no mesmo período, foram notificados 79.006 casos, sendo 58.974 (74,6%) por *P. vivax* (SIVEP, 2006).

A Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM) diagnosticou no ano de 2005, 30.725 casos de malária, sendo 21.827 (71,0%) por *P. vivax*. No ano de 2004 foram 27.169 casos, sendo 21.228 (78,1%) por *P. vivax*, com 2 óbitos por *P. falciparum* e em 2003 foram diagnosticados 30.017 casos, sendo 27.979 (93,2%) por *P. vivax* com três óbitos, todos por esta espécie (FMT, 2004; SIVEP, 2006).

## 1.2 A transmissão

Os vetores da malária são mosquitos do gênero *Anopheles* (classe Insecta, ordem Díptera, família Culicidae). A transmissão natural ocorre por meio de picadas de mosquitos infectados. As fêmeas são transmissoras naturais, pois só elas são hematófagas. Precisam de sangue para o desenvolvimento dos ovos (Tauil, 1996).

Existem inúmeras espécies transmissoras. No Brasil, as principais espécies pertencem a dois subgêneros: *Nyssorhincus* e *Kerteszia*. O *Anopheles (N) darlingi* é o de maior importância epidemiológica pela sua ampla distribuição na Amazônia, pelo alto grau de antropofilia e pela endofagia. Tem como criadouros preferenciais as coleções de água limpa, quente, sombreada e de baixo fluxo, situação muito freqüente na Amazônia. O *Anopheles (N) aquasalis* distribui-se pela faixa que vai do Amapá até o norte de São Paulo (Tauil, 1996).

O clima influencia profundamente a vida dos mosquitos e o desenvolvimento do parasito no seu interior. A temperatura ideal para o desenvolvimento dos plasmódios humanos situa-se entre 20 e 30°C e quanto maior a umidade relativa do ar, maior a longevidade dos mosquitos. As maiores densidades do vetor encontram-se abaixo de 900m de altitude (Tauil, 1996).

Quanto à endemicidade, as áreas maláricas podem ser classificadas em quatro tipos, segundo a Organização Mundial de Saúde (MacDonald, 1956):



- *hipoendêmica*, quando o percentual de esplenomegalia entre crianças de dois a nove anos (índice esplênico) é menor que 10%;
- *mesoendêmica*, quando o índice esplênico situa-se entre 11 e 50%;
- *hiperendêmica*, quando este índice situa-se entre 50 e 75% e é assim elevado também entre os adultos;
- *holoendêmica*, quando o índice esplênico é maior que 75%.

Atualmente, o indicador mais utilizado pela Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) é o Índice Parasitário Anual (IPA), um indicador de incidência, que é a ocorrência de casos por 1.000 habitantes. Baixo risco são áreas onde o IPA é inferior a 10, médio risco onde o IPA está entre 11 e 49 e alto risco onde o IPA é igual ou superior a 50.

O Índice Parasitário Anual no município de Manaus em 2005 foi estimado em 50,5 e o do estado do Amazonas em 70,9 no mesmo período, mostrando tratar-se de áreas de alto risco de incidência de malária (SIVEP, 2006).

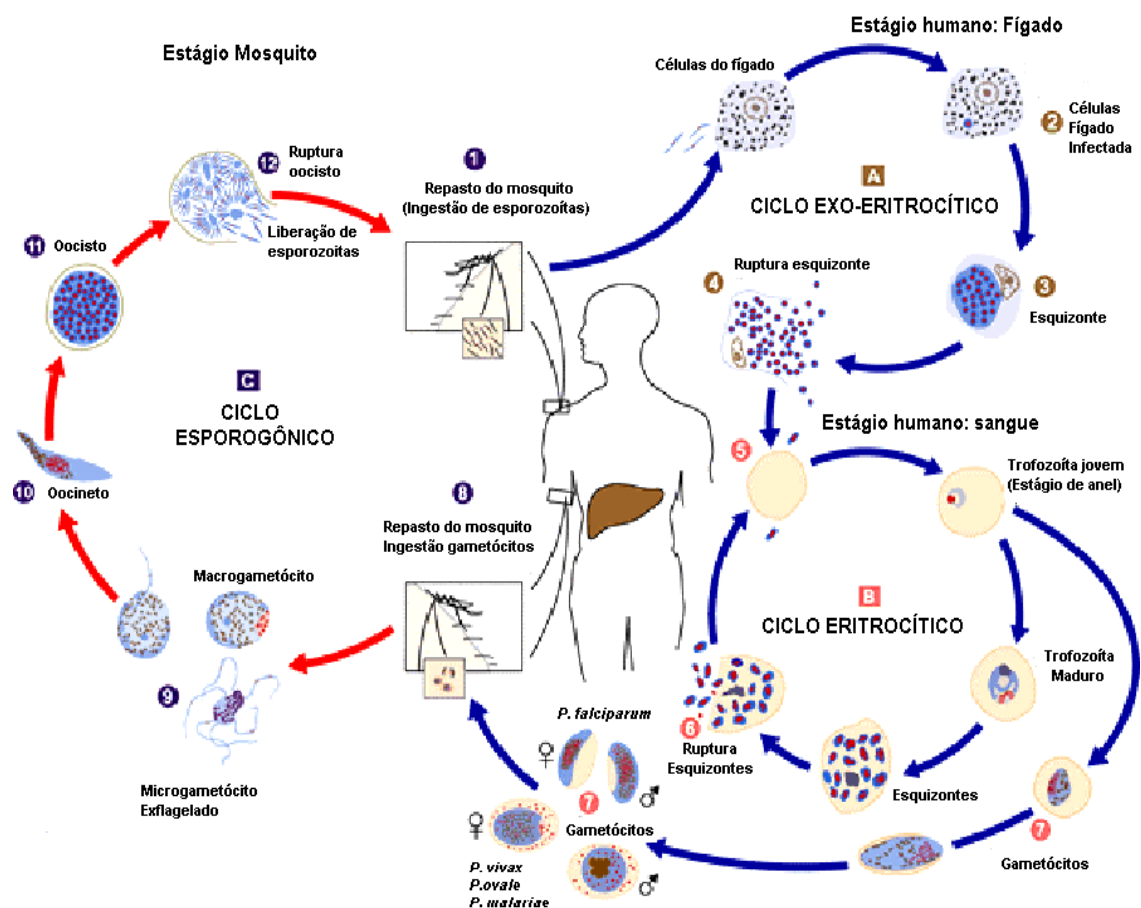
### **1.3 O ciclo biológico dos plasmódios humanos**

A infecção malárica inicia-se quando esporozoítos infectantes são inoculados no homem pelo inseto vetor. Após cerca de 30 minutos, estas formas desaparecem da circulação sanguínea. Alguns esporozoítos são destruídos pelos macrófagos enquanto outros penetram nas células parenquimatosas do fígado, os hepatócitos, onde se multiplicam assexuadamente por um processo de divisão múltipla (esquizogonia), que resulta na formação dos esquizontes teciduais primários e posteriormente milhares de merozoítos são liberados nos capilares intra-hepáticos. Esta primeira fase do ciclo é denominada exo-eritrocítica, pré-eritrocítica ou tissular e, portanto, precede o ciclo sanguíneo do parasito (FUNASA, 2001).

O desenvolvimento nas células do fígado requer aproximadamente uma semana para o *P. falciparum* e *P. vivax* e em média duas semanas para o *P. malariae*. Nas infecções por *P. vivax*, algumas destas formas exo-eritrocíticas, denominadas hipnozoítos, permanecem latentes no fígado por meses ou anos e são os responsáveis pelas recaídas tardias observadas nas infecções causadas por

estas espécies. Para essas formas e para os esquizontes teciduais é que a primaquina está indicada no tratamento da malária por *P. vivax* (Braga, 2003).

O ciclo eritrocítico inicia-se quando os merozoítos tissulares invadem os eritrócitos. Nos eritrócitos, se reproduzem por esquizogonia, formando novos merozoítos e, por ruptura das células, ao final do ciclo, caem na circulação sanguínea e reinvasam os eritrócitos reiniciando o ciclo (Figura1). A duração desse ciclo é variável de acordo com a espécie, cerca de 48 horas para o *P. vivax*, *P. ovale* e *P. falciparum* e 72 horas para o *P. malariae* (Braga, 2003).



Fonte: [http://dpx.cdc.gov/dpx/HTLM/Malaria.asp?body=Frames/M-R/Malaria/body\\_Malaria\\_page2.htm](http://dpx.cdc.gov/dpx/HTLM/Malaria.asp?body=Frames/M-R/Malaria/body_Malaria_page2.htm)

Figura 1: Ciclo evolutivo dos plasmódios

Alguns merozoítos resultantes da esquizogonia se diferenciam para a forma sexuada, os gametócitos, que também invadem os eritrócitos. O gametócito macho é chamado de microgameta e o fêmea de macrogameta (Alecrim, 2003).

O ciclo de vida no hospedeiro invertebrado começa pela ingestão de sangue humano pelo mosquito *Anopheles* contendo as formas sexuadas. No estômago do mosquito ocorre a fertilização destas gametas com a formação do zigoto, que evolui até a formação de esporozoítos, que alcançando as glândulas salivares do mosquito, capacitam a fêmea deste invertebrado a produzir a infecção no ser humano (Alecrim, 2003).

Em algumas ocasiões, um mesmo paciente pode ser inoculado com mais de uma espécie do parasito, resultando em infecções mistas. Na nossa região, as mais freqüentes são por *P. vivax* e *P. falciparum*, que representaram 1,2% dos casos diagnosticados na FMTAM em 2005 (SIVEP, 2006).

#### **1.4 Manifestações clínicas**

O quadro clínico varia em função da espécie do plasmódio e do grau de imunidade de cada indivíduo. Geralmente, as infecções causadas pelo *P. vivax* e *P. malariae* são benignas e com baixa mortalidade. As causadas pelo *P. falciparum*, podem apresentar um quadro clínico mais grave, com inúmeras complicações e considerável mortalidade, particularmente em hospedeiros não-imunes (Souza, 1997).

O período de incubação é de 8 a 31 dias (média de 14 dias) na infecção pelo *P. vivax*, de 7 a 14 dias (média de 10 dias) na infecção pelo *P. falciparum* e de 18 a 37 dias (média de 30 dias) na infecção pelo *P. malariae* (Souza, 1997).

A principal característica clínica é a crise malárica, constituída principalmente por febre, calafrios e cefaléia. A crise malárica tem relação com a duração do ciclo esquizogônico e com o número de plasmódios em desenvolvimento. O exame físico mostra certo grau de desidratação com mucosas hipocoradas em graus variados. O fígado é palpável em um grande número de pacientes e o baço tende a crescer na medida em que a infecção progride e se repete (Souza, 1997).

## 1.5 Diagnóstico

Apesar do grande avanço nas técnicas imunológicas, o diagnóstico da malária continua sendo feito pela pesquisa do parasito no sangue periférico, seja pelo método da gota espessa ou pelo esfregaço sanguíneo, em função de sua simplicidade de realização e baixo custo. Sua técnica baseia-se na visualização do parasito através da microscopia ótica, após coloração com corante vital (azul de metileno e Giemsa), permitindo diferenciação específica dos parasitos a partir da análise da sua morfologia e pelos estágios de desenvolvimento dos parasitos encontrados no sangue periférico (FUNASA, 2001).

A determinação da densidade parasitária, útil para a avaliação prognóstica, deve ser realizada em todo paciente com malária, especialmente nos portadores de *P. falciparum* (FUNASA, 2001).

Nos últimos anos, métodos rápidos, práticos e sensíveis vêm sendo desenvolvidos. O QBC<sup>®</sup> (*quantitative buffy coat*) é uma técnica que combina a concentração dos parasitos pela centrifugação e a coloração dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) do parasito pelo fluorocromo chamado laranja de acridina. Estudos recentes têm mostrado que, embora mais rápido e objetivo, o QBC<sup>®</sup> ainda não se mostrou superior à gota espessa no diagnóstico parasitológico da malária (Braga, 2003).

Um grande avanço na metodologia diagnóstica da malária foi conseguido a partir de 1983, com o desenvolvimento de ensaios rápidos baseados na captura qualitativa de um antígeno de *P. falciparum*, a proteína 2, rica em histidina (PfHRP2). Mais recentemente, foi desenvolvido outro método de diagnóstico rápido, que captura antígenos de *P. falciparum* e *P. vivax* simultaneamente, utilizando anticorpos policlonais e monoclonais marcados com ouro e dirigidos contra a enzima lactato desidrogenase específica do parasito, presente no sangue total do paciente (FUNASA, 2001).

Apesar de promissores, os estudos de campo que foram feitos até o momento, para determinar a sua efetividade no diagnóstico da malária, não são suficientes para recomendar a sua utilização no Brasil (FUNASA, 2001).

## 1.6 Tratamento

O trabalho descentralizado de diagnóstico e o tratamento precoce são hoje os principais alicerces para o controle da doença. O tratamento visa à interrupção da esquizogonia sanguínea em todas as espécies, bem como a erradicação de formas latentes do parasito no ciclo tecidual (hipnozoítos) na doença causada pelo *P. vivax*. O tratamento depende, portanto, da espécie do parasito, além de outros fatores, como a idade do paciente, história de exposição anterior à infecção e a suscetibilidade dos parasitos da região aos antimaláricos convencionais (Braga, 2003).

A inexistência, até o momento, de um único tratamento igualmente efetivo contra ambas as espécies de plasmódio mais prevalentes em nosso país (*P. vivax* e *P. falciparum*) e a grande dificuldade para, na maioria das vezes, diferenciar clinicamente a infecção por uma ou por outra espécie ou por ambas, simultaneamente, levam a necessidade de estabelecimento de diagnóstico laboratorial específico para o tratamento adequado dos pacientes (FUNASA, 2001).

O tratamento da malária, de acordo com protocolos preconizados pelo Ministério da Saúde, utiliza o quinino associado à mefloquina, doxiciclina ou artesunato na malária causada por *P. falciparum* e a cloroquina (4-aminoquinoleína), esquizonticida sanguíneo que atua na fase eritrocitária, associada à primaquina (8-aminoquinoleína), única droga em uso que atua na fase exo-eritrocitária na malária causada pelo *P. vivax* (Braga, 2003).

O protocolo de tratamento da malária não-grave pelo *Plasmodium vivax* e da infecção mista utilizado nos pacientes deste estudo foi realizado de acordo com o prescrito no Manual de Rotinas da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (2003), considerando D0 como o dia do diagnóstico da infecção e início do tratamento, conforme tabela 1.

Tabela 1. Protocolo de tratamento da malária pelo *P. vivax* nos pacientes do estudo

<b>ADULTOS</b>											
	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Cloroquina (VO) – 150 mg	4 comp	3 comp	3 comp	-							
Primaquina (VO) – 15 mg				-	2 comp	2 comp	2 comp	2 comp	2 comp	2 comp	2 comp
<b>CRIANÇAS</b>											
Cloroquina (VO) – 150 mg	10 mg/Kg	7,5 mg/Kg	7,5 mg/Kg	-							
Primaquina (VO) – 5 mg				-	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp	1 ou 2 comp

Nos pacientes com malária mista (infecção pelo *P. falciparum* e *P. vivax*), o tratamento realizado foi o mesmo do *P. falciparum* (tabela 2), seguindo-se a mesma rotina de acordo com a parasitemia e a gravidade clínica, associando-se ao final, a mesma dosagem de primaquina preconizada para o tratamento da malária vivax.

Tabela 2. Protocolo de tratamento da malária pelo *P. falciparum* nos pacientes do estudo com infecção mista

<b>ADULTOS</b>					
	D0	D1	D2	D3	D4
Quinino (VO) – 500 mg	1 comp 8/8 h	1 comp 8/8 h	1 comp 8/8 h	-	-
Doxicilina (VO) – 100 mg	1 comp 12/12 h	1 comp 12/12 h	1 comp 12/12 h	1 comp 12/12 h	1 comp 12/12 h

Em crianças com menos de 12 anos de idade, a Doxicilina foi substituída pela Mefloquina (VO), comprimidos de 250 mg, utilizando-se a dosagem de 20 mg/kg de peso, em duas doses de 2 comprimidos com intervalo de 6 horas em D0.

A primaquina foi sintetizada pela primeira vez nos Estados Unidos da América, em 1946, sendo o exemplo mais representativo das 8-aminoquinoleínas antimaláricas. É tóxica para a medula óssea, não devendo ser administrada em crianças com menos de seis meses de idade, bem como em gestantes, em virtude

do risco de hemólise. A dose recomendada de primaquina para tratamento anti-hipnozoitos em infecções por *P. vivax* é de 0,5 mg/kg/dia (30 mg para adultos), durante sete dias, juntamente com um esquizotocida sanguíneo ativo, como a cloroquina (FUNASA, 2001).

Os efeitos colaterais da primaquina incluem anorexia, náuseas, vômitos, dores abdominais e cólicas, que estão relacionados com a dose. Devido ao seu caráter oxidante, indivíduos com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD), podem apresentar anemia hemolítica grave, mesmo na dose clássica de 15 mg/dia (Bunnag, 1994).

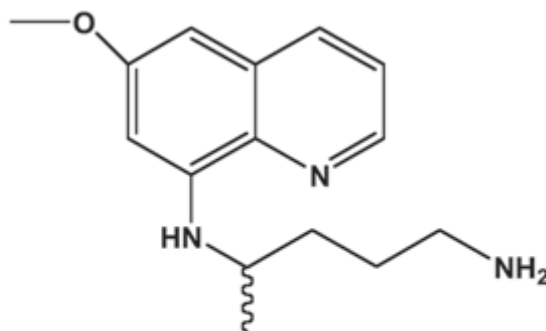


Figura 2 . Molécula de primaquina - esquemático

Após administração oral, a primaquina é degradada metabolicamente por perda do grupo *N*-alquil, originando 6-metoxi-8-aminoquinolina (6-MAQ). Acredita-se que a 6-MAQ possa ser convertida no derivado *N*-hidroxilado (MAQ-NOH, 6-metoxi-8-hidroxiaminoquinolina), sendo este o agente responsável pela metemoglobinemia. Bolchoz et al. (2001) comprovaram a formação de MAQ-NOH nos microsomas hepáticos do rato e do homem, observando que a MAQ-NOH é um ativador direto da metemoglobina. De fato, as 8-aminoquinoleínas induzem a conversão da oxihemoglobina em metemoglobina, sendo esta incapaz de transportar o oxigênio aos diferentes tecidos.

## 1.7 A glicose-6-fosfato desidrogenase

A G-6-PD é uma enzima citoplasmática amplamente distribuída entre quase todos os organismos e tecidos. Nos seres humanos, apesar da ampla distribuição, é no metabolismo das hemácias que a G-6-PD exerce suas funções mais importantes, atuando em uma das vias metabólicas utilizadas pelos eritrócitos para a obtenção de energia como também agindo na sua proteção contra agentes oxidantes (Beutler, 1983).

Como as hemácias não possuem núcleo, ribossomos, mitocôndrias e aparelho de Golgi, elas não sintetizam proteínas nem são capazes de obter energia a partir do ciclo de Krebs. O metabolismo da hemácia é relativamente simples. Está principalmente baseado no uso da glicose para gerar energia na forma de adenosina trifosfato – ATP e potencial redutor na forma de nicotinamida adenina dinucleotídeo – NADH e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato – NADHP. (Lukens, 1998).

O mecanismo pode ocorrer por duas vias: via glicolítica ou do metabolismo anaeróbico, que gera lactato, ATP e NADH, ou pela via denominada ciclo das pentoses-fosfato, que gera  $\text{CO}_2$  e NADPH, tendo como primeira enzima a glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD). Esta enzima é produzida por um gene que está no cromossomo X, demonstrando que as mulheres heterozigotas não manifestam anormalidade clínica, o mesmo não acontecendo com os homens, que quando herdam o gene defeituoso são chamados de hemizigotos (Lukens, 1998).

A via das pentoses-fosfato, também chamada de via do fosfogluconato, produz NADPH e ribose-5-fosfato. O NADPH é um transportador de energia química na forma de poder redutor. A G-6-PD é a enzima que catalisa a primeira etapa desta via bioquímica. A primeira reação da via das pentoses é a desidrogenação enzimática da glicose-6-fosfato pela glicose-6-fosfato desidrogenase, para formar 6-fosfogliconolactona, um éster intra-molecular, que é hidrolisado para a forma ácida livre 6-fosfogluconato por uma lactonase específica (Lehninger, 1995).



No eritrócito, a via das pentoses-fosfato fornece o NADPH necessário à redução do Glutation oxidado (GSSG) à Glutation reduzido (GSH), reação catalisada pela Glutation-redutase, uma flavoproteína. O Glutation reduzido remove  $H_2O_2$  do eritrócito em uma reação catalisada pela Glutation-peroxidase, uma enzima que contém o elemento Selênio (figura3). Esta reação é importante, uma vez que o acúmulo de  $H_2O_2$  pode diminuir o tempo de vida do eritrócito por aumentar a velocidade de oxidação da hemoglobina formando metemoglobina (Murray et al., 2002).

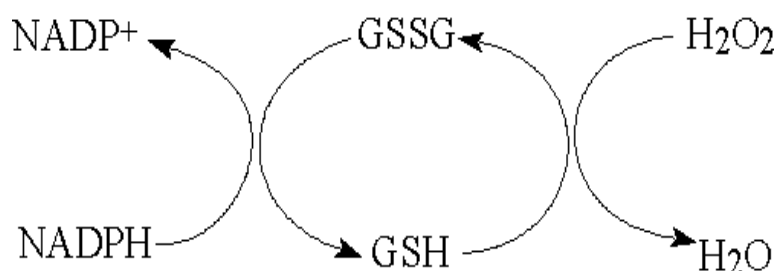


Figura 3. Redução do glutatión oxidado

A via das pentoses-fosfato é ativa na glândula mamária em lactação, no fígado adiposo, no córtex adrenal, na tireóide, no testículo e no eritrócito (Murray et al., 2002). Uma mutação, presente em algumas populações, determina uma deficiência de G-6-PD, com conseqüente comprometimento na formação de NADPH e ineficaz manutenção do Glutation no estado reduzido. (Murray et al., 2002).

A G-6-PD presente nos neutrófilos e eritrócitos é codificada pelo mesmo gene, localizado no cromossomo Xq 28 e com tendência a sofrer freqüentes mutações (Borges et al., 2001). O monômero de G-6-PD consiste de 515 unidades de aminoácidos com um peso molecular calculado em 59.256 daltons, determinado a partir da seqüência de cDNA (Beutler, 1994).

Geneticamente, a deficiência de G-6-PD (sistema Gd) é entidade heterogênea, causada por genes que se expressam como caráter recessivo. Além da enzima normal (Gd<sup>+</sup>), mais de 400 variantes diferentes foram descritas, a maioria delas com atividade deficiente (Gd<sup>-</sup>). Tais variantes são agrupadas em cinco classes distintas, com base na atividade enzimática residual (Luzzatto e Mehta, 1995):

- Classe I - associada à anemia hemolítica crônica não esferocítica, 97 variantes, sendo 1 polimórfica. Ex: Variantes Andalaris, Campinas e Sumaré;
- Classe II - deficiência enzimática grave (< de 10% de atividade residual), 122 variantes, sendo 37 polimórficas. Ex: Variante Mediterrânea e Union;
- Classe III - deficiência enzimática moderada (10 a 60% da atividade residual), 103 variantes, sendo 22 polimórficas. Ex: Variante Africana ou A<sup>-</sup>, Cantão e Seattle.
- Classe IV - Atividade enzimática normal ou ligeiramente diminuída (60 a 100% de atividade), 52 variantes, sendo 12 polimórficas. Ex: Variante A.
- Classe V - Atividade enzimática aumentada (> 150% de atividade), duas variantes, nenhuma polimórfica. Ex: Variante Verona.

### 1.7.1 A deficiência de G-6-PD

A deficiência de G-6-PD é a enzimopatia mais comum em populações humanas, acometendo cerca de 400 milhões de pessoas no mundo. A importância da deficiência de G-6-PD, que é uma alteração metabólica heterogênea, determinada por genes recessivos do cromossomo X, diz respeito ao fato de seus portadores, geralmente do sexo masculino, poderem manifestar uma crise hemolítica aguda, de intensidade variável, na presença de agentes oxidantes de origem endógena ou exógena (Compri et al, 2000).

As variantes de maior importância em função de suas frequências e morbidades são as da classe II, representadas principalmente pela variante Mediterrânea, que é encontrada mais usualmente em italianos, principalmente nos sardenhos e sicilianos, como também em judeus, gregos, árabes e persas e as da classe III, principalmente a variante Africana (A<sup>-</sup>), que ocorre mais frequentemente nas populações negróides. Estas variantes, apesar de não determinarem geralmente anemia crônica, podem provocar episódios hemolíticos agudos em seus portadores, caso estes venham a ser expostos a agentes oxidantes, tais como algumas drogas, feijão fava, infecções e poluentes ambientais (Luzzato e Metha, 1995).

A freqüência desta enzimopatia (doença causada por alteração na atividade de uma enzima) é variável em diferentes populações do mundo e diferentes grupos étnicos. Atinge mais de 26% em alguns países da África (Luzzatto e Battistuzzi, 1985) e cerca de 70% em algumas populações judias (Oppenheim et al., 1993). As formas mutantes mais comuns, que levam à deficiência enzimática, são as variantes G-6-PD A<sup>-</sup> ou Africana e a G-6-PD Mediterrânea (Beutler et al., 1989).

Apesar da deficiência de G-6-PD ser uma alteração genética freqüente nas populações brasileiras, afetando cerca de 10% dos homens negróides e 1% a 3% dos homens caucasóides (Sena, 1985), até o momento ela não recebeu em nosso país um estudo comunitário sistematizado (Compri et al., 2000). Esta enzimopatia em determinados grupos étnicos é a principal causa de hiperbilirrubinemia e encefalopatia bilirrubínica no recém-nascido (Carson et al., 1956).

A variante G-6-PD A<sup>-</sup>, também chamada de Africana, apresenta geralmente atividade reduzida, entre 10 a 60% de atividade da enzima normal nas hemácias mais velhas e maior mobilidade eletroforética. Entretanto, nas hemácias com menos de 30 dias, a atividade enzimática é suficiente para evitar o efeito hemolítico dos medicamentos (Ramalho e Beiguelman, 1977).

A variante G-6-PD B<sup>-</sup>, também conhecida como Mediterrânea, tem ampla distribuição em áreas na Europa e Ásia, sendo mais comum na Índia, na Sardenha e na Itália (Calabro et al., 1993). Esta variante apresenta cerca de 5% da atividade da enzima normal.

Em todo o mundo, inúmeros estudos têm sido realizados no sentido de se verificar a prevalência da enzimopatia, como também caracterizar as variantes mais prevalentes entre as populações, utilizando-se de metodologias bioquímicas e moleculares. Assim, a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase afeta cerca de 12% da população masculina da Tailândia, onde quinze variantes polimórficas de G-6-PD foram encontradas entre os indivíduos deficientes (Panikli e Na-Nakorn, 1980). Em Guangdong na China, Du e colaboradores encontraram nove novas variantes polimórficas entre as 31 identificadas em 97 homens deficientes de G-6-PD

relacionados no estudo, demonstrando que a heterogeneidade genética da deficiência é alta naquela região (Du et al., 1988).

### **1.7.2 Freqüência da deficiência de G-6-PD em populações brasileiras**

Desde os primeiros estudos realizados em populações brasileiras, foi possível verificar que a deficiência de G-6-PD alcançava proporções significativas, principalmente entre os homens. As variantes de G-6-PD mais caracterizadas no Brasil, por exames bioquímicos e moleculares, são a Africana e a Mediterrânea (Compri, 2000). Vários pesquisadores têm realizado estudos da enzimopatia em diversas populações, como estudos de prevalência e caracterização das variantes enzimáticas entre doadores de sangue em hemocentros, estudos de prevalência da deficiência e verificação da associação desta com a icterícia neonatal e estudos de prevalência da enzimopatia em populações gerais brasileiras.

Estudos efetuados em diferentes regiões do país constataram prevalência de deficientes em torno de 10% entre os homens de ascendência africana. Já entre os homens euro-descendentes dos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul foram encontradas freqüências de deficientes de G-6-PD em torno de 1% a 3% (Azevedo et al., 1978; Lewgoy, 1965; Beiguelman et al., 1968; Saldanha et al., 1969; Ramalho, 1976). Estudo realizado por Compri na cidade de Bragança Paulista, São Paulo, encontrou 1,7% de deficientes para G-6-PD entre doadores do sexo masculino. (Compri et al., 2000). No nordeste do Brasil a deficiência de G-6-PD mais encontrada é a do tipo Africano, que ocorre com freqüência em torno de 7% na população geral (Azevedo e Azevedo, 1974). Vignal e colaboradores (2004), verificando a prevalência da deficiência enzimática na região metropolitana de Recife-PE, encontraram a prevalência de 5,5%.

### **1.7.3 Freqüência da deficiência de G-6-PD na Amazônia Brasileira**

Poucos estudos existem sobre a prevalência da deficiência de G-6-PD em populações amazônicas. Silva et al (1999) encontraram uma prevalência de 5,5% em pacientes portadores de malária na cidade de Belém-PA. Barraviera et al. (1987) verificaram que a prevalência de indivíduos deficientes em G-6-PD, na população do

município de Humaitá- AM foi de 4,96%, menor que a encontrada na população negra do Brasil e maior que a população caucasóide (Marques e Campos, 1975; Ramalho e Beiguelman, 1977; Saldanha et al., 1969). Santos (1987) estudando a deficiência no município de Oriximiná, encontrou uma prevalência de 2%.

#### **1.7.4 Metemoglobinemia e deficiência de G-6-PD**

A hemoglobina, que possui quatro átomos de ferro, tem como função o transporte de oxigênio aos tecidos depois de captá-lo a nível pulmonar. Isto se processa em razão de uma ligação reversível entre a molécula de oxigênio, sob a forma de ânion superóxido, e o átomo de ferro ( $Fe^{++}$ ) das subunidades da molécula de hemoglobina. Nessa ligação ocorre transferência parcial de um elétron do ferro ao oxigênio. Quando o oxigênio se dissocia, esse elétron geralmente retorna ao átomo de ferro. Sua forma oxidada ( $Fe^{+++}$ ) é a metemoglobina, um pigmento de cor marron-esverdeada, que não transporta oxigênio (Goldstein, 1974).

A hemoglobina oxigenada, ou oxihemoglobina, se caracteriza pelo estado reduzido ou ferroso ( $Fe^{++}$ ) do ferro inserido no grupo heme. Entretanto, as contínuas reações metabólicas do nosso organismo liberam produtos químicos com alto potencial oxidativo que oxidam o ferro mudando-o para o estado férrico ( $Fe^{+++}$ ) ou metemoglobina. Este fato faz com que as enzimas eritrocitárias com capacidade redutora atuem com eficiência para manter o equilíbrio (Naoum et al., 2004).

Denomina-se metemoglobinemia a situação caracterizada pela elevação da concentração de metemoglobina no sangue, acima do nível padrão estabelecido por dosagens químicas ou enzimáticas e que esta pode ser decorrente de três principais causas: 1) deficiência de enzimas eritrocitárias específicas para as atividades redutoras da oxidação do ferro do grupo heme; 2) indução tóxica oxidativa da hemoglobina causada por compostos químicos oxidantes; 3) defeito molecular da hemoglobina que causa contínua auto-oxidação (Dacie e Lewis, 1995). Clinicamente a metemoglobinemia se caracteriza por cianose, cefaléia, dispnéia, hemólise, convulsão e coma, podendo levar à morte.

O acúmulo de metemoglobina na hemácia ocorre quando a taxa de oxidação do heme está aumentada (metemoglobinemia adquirida), quando a redução de metemoglobina está limitada pela capacidade deficiente da redução (deficiência de NADH-citocromo b5 redutase) ou quando uma anormalidade estrutural na metade da globina estabiliza a hemoglobina no estado oxidado, chamado distúrbio da hemoglobina M (Lukens, 1998).

Os eritrócitos contêm normalmente pequenas quantidades de metemoglobina, resultantes da oxidação espontânea, por isso, eles dispõem de dois sistemas enzimáticos que reduzem a metemoglobina à hemoglobina. Esta redução pode ocorrer diretamente, pela ação do ácido ascórbico ou do glutathion reduzido, ou enzimaticamente, mediante o concurso de redutases: diaforase I, que utiliza NADH como coenzima e diaforase II, que usa NADPH como coenzima (Gibson, 1948; Goldstein, 1974).

### **1.7.5 Manifestações clínicas da deficiência da G-6-PD**

As manifestações clínicas observadas com mais freqüência entre os deficientes de G-6-PD são a icterícia neonatal e a anemia hemolítica aguda. No Brasil, apesar do grande número de trabalhos realizados relativos à deficiência de G-6-PD, poucos são os que verificam a morbidade dessa enzimopatia. A severidade das manifestações clínicas depende sobretudo do tipo genético da deficiência enzimática e de condições outras, inclusive ambientais. A deficiência do tipo Africano, Gd A<sup>-</sup>, por exemplo, é reconhecidamente menos severa que a do tipo Mediterrâneo, Gd B<sup>-</sup> (Azevedo et al., 1978).

Essa benignidade não ocorre com a variante Mediterrânea de G-6-PD, isso porque a atividade desta pode ser quase nula, chegando a cerca de 4% da atividade normal. É interessante lembrar que os indivíduos com a deficiência do tipo Mediterrâneo manifestam o favismo, crise hemolítica decorrente da ingestão de feijão fava (*Vicia fava*), ou mesmo a simples inalação do pólen desta leguminosa. O favismo é uma doença de curso violento, com duração de 2 a 6 dias e, ocasionalmente, fulminante (Ramalho e Beiguelman, 1977).

Sendo a região de Manaus endêmica para malária vivax, este estudo se propõe a verificar a ocorrência dos efeitos adversos da primaquina nos pacientes com esta infecção, relacionando a severidade de sua ocorrência com a deficiência enzimática de G-6-PD, contribuindo assim para evitar ou reduzir as complicações hemolíticas desta droga nestes pacientes.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Verificar a ocorrência de metemoglobinemia e a deficiência de G-6-PD em pacientes com malária vivax ou infecção mista (F+V) tratados com primaquina na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

### **2.2 Específicos**

1. Quantificar a atividade enzimática de G-6-PD dos pacientes pelo método enzimático colorimétrico quantitativo, estimando a prevalência da deficiência em comparação com o método qualitativo de triagem;
2. Estimar a prevalência de metemoglobinemia em indivíduos com malária vivax ou infecção mista (F+V), tratados com primaquina;
3. Verificar a relação da ocorrência de metemoglobinemia e a deficiência de G-6-PD em pacientes com malária vivax ou infecção mista (F+V), tratados com primaquina;
4. Estabelecer possíveis associações entre variáveis epidemiológicas como idade, sexo, raça e a deficiência enzimática e a ocorrência de metemoglobinemia.



## **3 METODOLOGIA**

### **3.1 Modelo de estudo**

Estudo descritivo e prospectivo de prevalência e da avaliação da atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase e sua relação com a metemoglobinemia em pacientes com malária ou infecção mista (F+V) tratados com primaquina, onde após consentimento livre e esclarecido, estes foram entrevistados para obtenção de dados sócio-econômicos e história epidemiológica da malária.

### **3.2 Universo de estudo**

#### **3.2.1 População de referência**

O estudo teve como alvo a população que habita a cidade de Manaus, capital do estado do Amazonas. A cidade está situada à margem esquerda do Rio Negro, cujo município abrange uma área terrestre de 11.648 km<sup>2</sup>. A população é estimada em 1.644.890 habitantes (IBGE, 2005), que não ocupa uniformemente a sua superfície geográfica, concentrando-se em núcleos periféricos com saneamento básico pouco satisfatório e em áreas de desmatamento periurbano, áreas de invasão. O município é responsável por cerca de 50% dos casos de malária vivax do estado do Amazonas.

#### **3.2.2 População de estudo**

A população de estudo compôs-se de pacientes portadores de malária vivax ou infecção mista (F+V), atendidos no Ambulatório de Malária da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, unidade de referência para diagnóstico e tratamento de malária no Amazonas.

### **3.2.3 Desenvolvimento do estudo**

No período de outubro a dezembro de 2005 foram convidados a participar do estudo, 200 (duzentos) pacientes com malária vivax ou infecção mista (F+V) tratados com primaquina, atendidos no Ambulatório de Malária da FMTAM.

### **3.3 Procedimentos**

No período considerado, todos os pacientes com diagnóstico de malária vivax ou infecção mista (F+V) que satisfizessem os critérios de inclusão, foram convidados no dia do diagnóstico (D0) a participar do estudo e a retornar em D7 para a entrevista e coleta de amostras biológicas para análises. Após a inclusão do paciente no estudo no dia da consulta de retorno (D7), ou seja, após o terceiro dia de tratamento com primaquina, foi coletada amostra de cerca de 15ml de sangue por punção venosa e distribuída em três alíquotas: um tubo com anticoagulante EDTA para a realização de exames hematológicos e dosagem de metemoglobina, outro com anticoagulante ACD para a verificação da atividade enzimática (G-6-PD) e um terceiro sem anticoagulante, para a realização dos exames bioquímicos. Foi solicitada também a coleta de uma amostra de urina do paciente para pesquisa de hemoglobinúria.

As amostras foram coletadas no laboratório de G-6-PD da Gerência de Malária pelos acadêmicos colaboradores do projeto, que realizaram a dosagem sanguínea de metemoglobina, teste qualitativo para a G-6-PD e determinação quantitativa da atividade enzimática da G-6-PD. Posteriormente estas amostras foram encaminhadas para a Gerência de Diagnóstico da FMTAM onde foram realizados os exames bioquímicos e hematológicos.

#### **3.3.1 Exames laboratoriais**

##### **3.3.1.1 Hematológicos:**

O hemograma completo, contagem de plaquetas e reticulócitos foram realizados em equipamento eletrônico automatizado, da empresa ABX Diagnostics,

modelo Pentra 120-Retic<sup>®</sup>. A morfologia dos eritrócitos foi realizada por observação microscópica das células em distensão sanguínea, corada por corantes hematológicos, como o Giemsa e o Panótico<sup>®</sup>.

### 3.3.1.2 Bioquímicos:

Dosagens de glicose, uréia, creatinina, aminotransferases e bilirrubinas foram realizadas por metodologia enzimática em equipamento automatizado, da empresa DADE Behring, modelo Dimension AR<sup>®</sup>, utilizando kit's comerciais da mesma empresa. Valores de referência da metodologia utilizada:

Glicose	70 a 110 mg/dl
Uréia	15 a 40 mg/dl
Creatinina	0,6 a 1,3 mg/dl
AST (TGO)	15 a 37 U/l
ALT (TGP)	30 a 65 U/l
Bilirrubina Total	Até 1,2 mg/dL
Bilirrubina Direta	Até 0,4 mg/dL
Bilirrubina Indireta	Até 0,8 mg/dL

### 3.3.1.3 Pesquisa de hemoglobinúria:

A pesquisa da hemoglobina urinária foi realizada por meio de tiras reativas para urina UrinChek<sup>®</sup> 10<sup>+</sup> SG, em equipamento semi-automatizado, da empresa QUIDEL.

### 3.3.1.4 Metemoglobina:

A determinação de metemoglobina foi realizada de acordo com a técnica de Naoum sem interferentes químicos, 2004.

Em um tubo de ensaio (tubo A) colocou-se 100 µL de sangue total com anticoagulante EDTA e 100 µL de saponina 1%. Homogeneizou-se e adicionou-se 6

mL de tampão fosfato M/60 pH 6,6. Em outro tubo de ensaio (tubo B) colocou-se 300 µL da solução do tubo A e 3 mL de tampão fosfato M/60. Após completa homogeneização dos dois tubos, procedeu-se a leitura espectrofotométrica em 630 nm para o tubo A e 540 nm para o tubo B, ambos utilizando o tampão fosfato M/60 como branco, anotando-se a absorvância (A) dos dois tubos e realizando-se os cálculos da seguinte forma:

$$\text{MHb} = \frac{(\text{A}) \text{ tubo A} \times 100}{(\text{A}) \text{ tubo A} + ((\text{A}) \text{ tubo B} \times 10)} \quad \%$$

### 3.3.1.5 Teste qualitativo de Brewer:

A verificação qualitativa da enzima foi realizada por teste colorimétrico, baseado na oxidação da hemoglobina pelo nitrito de sódio e reconversão enzimática desta na presença de azul de metileno, que realiza a transferência de hidrogênio de NADPH para a metemoglobina, facilitando sua redução (Lima et al., 1992).

Em um tubo de ensaio adicionou-se 5 mL de solução de glicose e a mesma quantidade de solução de nitrito de sódio e de azul de metileno. A esta mistura, adicionou-se 1 mL do sangue total a ser investigado, e em seguida realizou-se a homogeneização. Dois tubos controles foram utilizados: um incubado apenas com sangue, glicose e azul de metileno (controle negativo) e o outro incubado com sangue, glicose e nitrito de sódio (controle positivo), ambos à 37°C durante 3 horas.

Após o período de incubação, foi feita a homogeneização e a transferência de 20 µL para tubos com 1 mL de água destilada. A leitura foi baseada na comparação da coloração exibida pela amostra com as amostras dos tubos controles. A cor vermelho vivo indicou normalidade e a castanho escuro, deficiência da enzima.

### 3.3.1.6 Dosagem quantitativa da G-6-PD

Ensaio do tipo enzimático-colorimétrico para determinação quantitativa da atividade de G-6-PD. O Kit NeoLISA® G6PD INTERCIÉNTÍFICA utiliza a glicose-6-

fosfato desidrogenase, a qual, na presença do NADP, catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato para 6-fosfogluconato. O NADPH produzido é medido colorimetricamente em modo cinético em 570 nm. Os resultados foram calculados avaliando o aumento das densidades óticas por minuto (slope) da amostra contra o slope do padrão de G-6-PD de atividade enzimática conhecida.

### **3.4 Tamanho da amostra**

A amostra de 200 pacientes foi calculada no programa Statcalc<sup>®</sup> (EPI INFO 2004/CDC/Atlanta) baseando-se em cerca de 2.500 pacientes com diagnóstico positivo para malária vivax ou infecção mista (F+V) atendidos mensalmente na FMTAM, o que implicou em cerca de 7.500 pacientes no período de coleta considerado, estimando-se uma prevalência da enzimopatia em 5,5%, precisão de 2% e intervalo de confiança de 95%.

### **3.5 Critérios de inclusão**

- Pacientes de ambos os sexos, com malária vivax ou infecção mista (F+V), em tratamento com primaquina;
- Pacientes maiores de 1 ano de idade .

### **3.6 Critérios de exclusão**

- Crianças menores de 1 ano de idade;
- Indivíduos com malária não vivax;
- Pacientes gestantes;
- Pacientes em uso de outras drogas oxidantes, conforme relação constante da ficha clínica/epidemiológica, na entrevista.

### **3.7 Banco de dados**

Os resultados obtidos foram registrados em banco de dados utilizando-se o software Excel<sup>®</sup> versão 2000. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando-se o software EPI INFO<sup>®</sup>, versão 6.0.

## 4 RESULTADOS

No período de outubro a dezembro de 2005, todos os pacientes maiores de um ano e mulheres não grávidas, com diagnóstico de malária vivax ou infecção mista (F+V) pela gota espessa realizada na Gerência de Malária da FMTAM, foram convidados a participar do estudo. No mesmo período, foram diagnosticados naquela Gerência 4.373 casos de malária vivax ou infecção mista sendo que 65,0% delas ocorreram em pessoas do sexo masculino.

### 4.1 Descrição da casuística

Foram incluídos 200 pacientes que satisfizeram os critérios de inclusão, tendo sido coletadas amostras de sangue e urina sete dias após o diagnóstico da malária (D7), ou seja, três dias após o início do tratamento com a primaquina. Em relação ao sexo, houve predomínio de pacientes do sexo masculino (Figura 4).

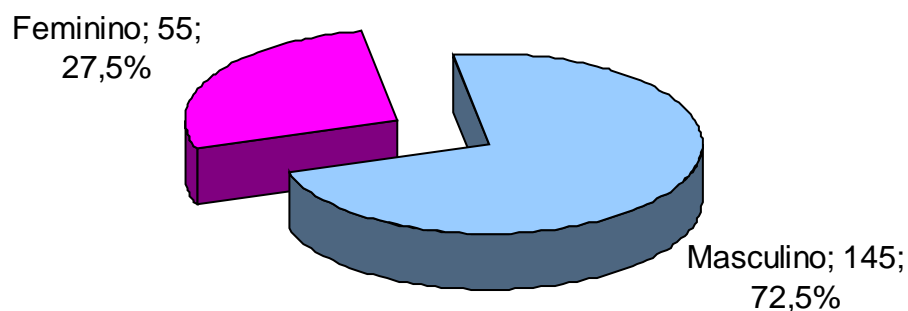


Figura 4. Distribuição dos 200 pacientes com malária conforme o sexo

Em relação à raça/cor, apesar da subjetividade na caracterização dos grupos, houve predomínio de indivíduos de cor parda, conforme tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos 200 pacientes com malária vivax segundo critérios de raça/cor

Raça / Cor	Pacientes	
	N	%
Branca	45	22,5
Negra	3	1,5
Amarela	2	1,0
Indígena	1	0,5
Parda	149	74,5
Total	200	100,0

A idade dos pacientes variou de 4 a 76 anos, com média de 36 anos e predominância da faixa etária de 15 a 44 anos (Tabela 4). A distribuição das faixas etárias de forma desigual visou encontrar uma possível situação ocupacional que poderia estar relacionada à exposição à malária, isto é, pacientes de 0 a 4 anos estando na idade pré-escolar, com maior exposição no domicílio, dos 5 a 14 anos, a idade escolar, de 15 a 44 coincidindo com a idade produtiva da vida quando a maior exposição pode ser ocupacional, especialmente no caso dos homens, de 45 a 60 anos e maiores de 60, sendo uma população mais associada à aposentadoria e portanto de exposição mais domiciliar.

Tabela 4. Distribuição segundo sexo e faixa etária dos 200 pacientes com malária

Faixa etária (anos)	Sexo				Total	
	Masculino		Feminino		N	%
	N	%	N	%		
0 a 4	1	0,5	1	0,5	2	1,0
5 a 14	12	6,0	8	4,0	20	10,0
15 a 44	88	44,0	33	16,5	121	60,5
45 a 60	32	16,0	11	5,5	43	21,5
> 60	12	6,0	2	1,0	14	7,0
Total	145	72,5	55	27,5	200	100,0

Quanto à profissão dos pacientes, a atividade de estudante alcançou o maior percentual, com 34 (17%) dos pacientes, seguido das donas de casa com 16 (8%), dos aposentados com 10 (5%), dos trabalhadores rurais com 10 (5%), dos comerciários com 9 (4,5%), além de outras diversas profissões de menor frequência no grupo de estudo.

O provável local da infecção relatado pelos pacientes mostra predomínio da área rural do município de Manaus, conforme demonstrado na tabela 5.

Tabela 5. Provável local de infecção malárica em 200 pacientes com *P. vivax* tratados na FMTAM, no período de outubro a dezembro de 2005.

Local da infecção	Pacientes	
	N	%
Área Rural de Manaus	103	51,5
Área Urbana de Manaus	52	26,0
Outros Municípios	43	21,5
Outros Estados	2	1,0
Total	200	100,0

Em relação ao tipo de infecção, a malária vivax prevaleceu sobre a infecção mista (Figura 5).

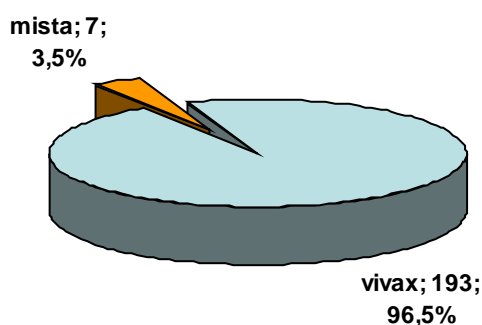


Figura 5. Distribuição dos 200 pacientes conforme o tipo de infecção malárica



Quanto à história epidemiológica da malária, 93 pacientes (46,5%) referiram estar adoecendo de malária pela primeira vez (Figura 6).

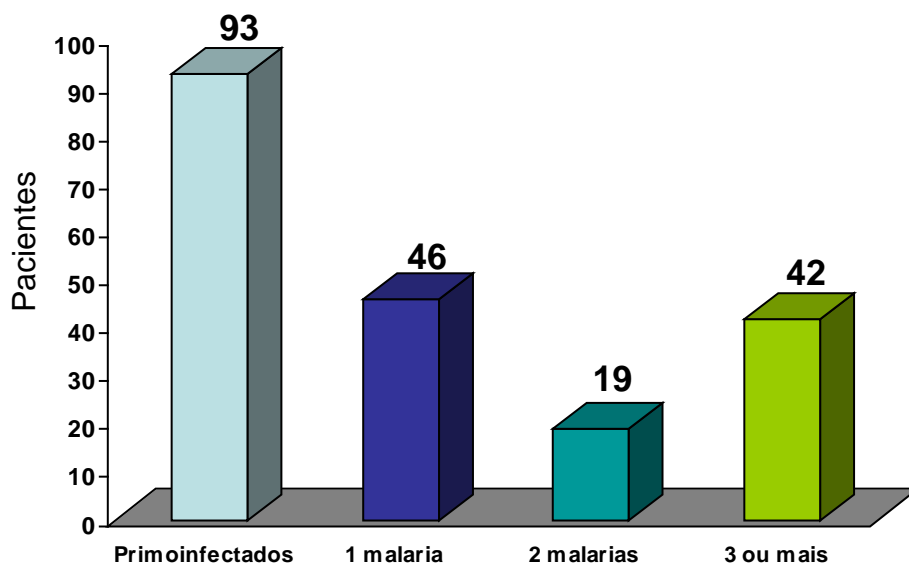


Figura 6. Ocorrência de episódios anteriores de malária nos 200 pacientes com malária

Entre as manifestações clínicas mais freqüentes relatadas pelos pacientes, a febre mostrou-se como o principal sintoma, referida em 191 (95,5%) dos pacientes, seguida da cefaléia em 185 (92,5%) e da mialgia em 169 (84,5%), conforme figura 7.

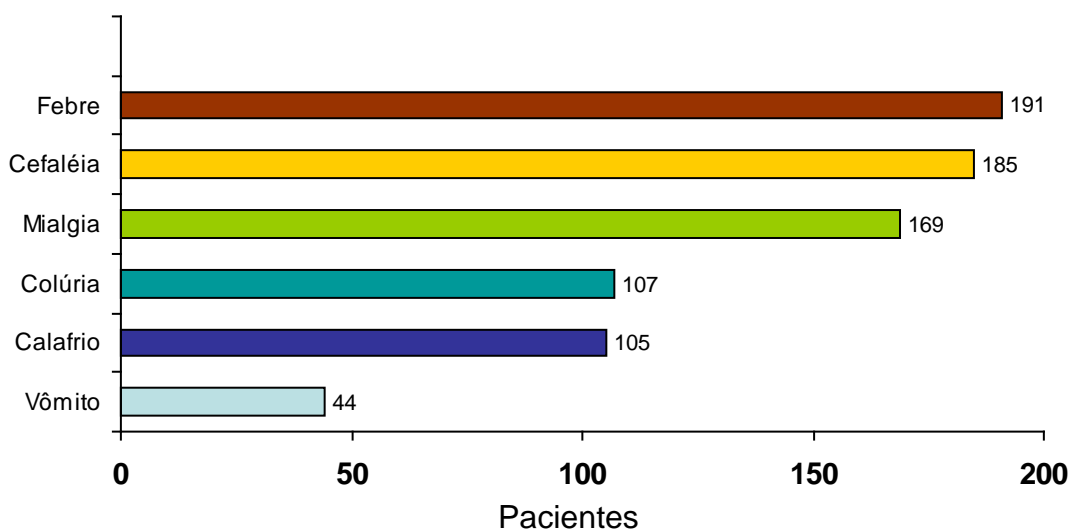


Figura 7. Sinais e sintomas clínicos de maior freqüência nos 200 pacientes com malária.

## **4.2 Deficiência enzimática de glicose-6-fosfato desidrogenase**

### **4.2.1 Método qualitativo**

#### **Descrição das variáveis epidemiológicas nos pacientes deficientes**

A prevalência da deficiência de G-6-PD pelo método qualitativo foi estimada em 3,5% (sete pacientes). A prevalência da deficiência funcional da enzima não foi diferente segundo o sexo, não sendo observada portanto, uma associação estatisticamente significativa entre sexo masculino e deficiência enzimática ( $OR=2,3; IC=[0,3 < OR < 11,3]; p > 0,05$ ), como também em relação à raça, tipo de infecção, provável local de infecção e número de episódios de malária anteriores entre os pacientes considerados como deficientes e normais. A idade mostrou diferença estatisticamente significativa, com média para os deficientes de  $48,9 \pm 17,6$  e de  $35,2 \pm 15,4$  para os não deficientes ( $p < 0,05$ ). O relato dos pacientes em relação a episódios anteriores de icterícia, por ocasião do preenchimento da ficha de entrevista na inclusão, foi 24 vezes maior entre os pacientes com deficiência enzimática detectada pelo método qualitativo do que nos pacientes sem este achado ( $OR: 24,4; IC:[3,9 < OR < 165,8]; p < 0,01$ ).

#### **Descrição dos achados laboratoriais nos pacientes deficientes**

Nos indivíduos caracterizados como deficientes enzimáticos por este método de triagem, foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros hematológicos e índices hematimétricos, que avaliam a ocorrência de anemia, além de sinais de hemólise como o aumento de bilirrubinas, especialmente a fração indireta (tabela 7). Houve também diferença estatisticamente significativa em relação à presença de hemoglobinúria nos pacientes considerados deficientes de G6PD, com a probabilidade de se encontrar esta alteração mais de 140 vezes maior nestes pacientes em comparação aos com atividade enzimática normal ( $OR=144; 12,1 < OR < 1703,0; p < 0,01$ ), conforme tabela 6.

Tabela 6. Ocorrência de hemoglobinúria nos 200 pacientes considerados deficientes enzimáticos pelo método qualitativo de Brewer.

G6PD Qualitativo	Hemoglobinúria		TOTAL
	Sim	Não	
Deficiente	3	4	7
Normal	1	192	193
TOTAL	4	196	200

#### Valores preditivos da hemoglobinúria:

##### Valor Preditivo Positivo

$$\text{VPP} = 3 / (3+4) = 0,43 = 43,0\%$$

##### Valor Preditivo Negativo

$$\text{VPN} = 192 / (1+192) = 0,995 = 99,5\%$$

Tabela 7. Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à deficiência de G6PD por método qualitativo.

	DEFICIENCIA N=7 (3,5%)	NORMAL N=193 (96,5%)	<i>p</i>
Hemácias	3,1 ± 0,7	4,4 ± 0,5	< 0,01
Hematócrito	30,2 ± 5,6	39,9 ± 5,0	< 0,01
Hemoglobina	9,9 ± 1,6	13,1 ± 1,6	< 0,01
Bilirrubina indireta	1,1 ± 0,9	0,5 ± 0,4	< 0,01
Reticulócitos	7,9 ± 4,3	3,3 ± 1,3	< 0,01
Plaquetas	336,7 ± 126,8	298,5 ± 100,7	> 0,05
Metemoglobina	4,7 ± 1,6	3,3 ± 1,2	< 0,05

#### 4.2.2 Método quantitativo

##### Descrição das variáveis epidemiológicas nos pacientes deficientes

Na metodologia empregada no teste enzimático quantitativo, o limite de corte (cut-off) para as amostras consideradas normais foi estabelecido em valores iguais ou superiores a 11,94 U/g Hb. As amostras consideradas deficientes intermediárias (20 a 60% de atividade) em valores entre 3,98 e 11,93 U/g Hb e as deficientes

graves (atividade menor que 20%) em valores abaixo de 3,97 U/g Hb. Os valores encontrados na análise dos 200 pacientes situaram-se entre 6,87 e 46,24, com média de  $21,8 \pm 5,0$  U/g Hb.

Foram considerados como deficientes enzimáticos de G6PD pelo método quantitativo 10 (5,0%) pacientes. A prevalência da deficiência funcional da enzima não foi diferente segundo o sexo, não sendo observada portanto, uma associação estatisticamente significativa entre sexo masculino e deficiência enzimática ( $OR=1,1; IC=[0,2 < OR < 5,2]; p > 0,5$ ), bem como não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas em relação às variáveis epidemiológicas como raça, tipo de infecção, provável local de infecção e número de episódios de malária anteriores. A média de idade mostrou diferença estatisticamente significativa, com média para os deficientes de  $48,9 \pm 17,6$  e de  $35,2 \pm 15,4$  para os não deficientes ( $p < 0,05$ ). O relato dos pacientes em relação a antecedentes de icterícia onde cinco dos dez pacientes deficientes reportaram tais episódios, foi cerca de vinte vezes maior nos pacientes com deficiência enzimática ( $OR: 20,1; IC: [4,1 < OR < 103,0]; p < 0,001$ ).

### Descrição dos achados laboratoriais nos pacientes deficientes

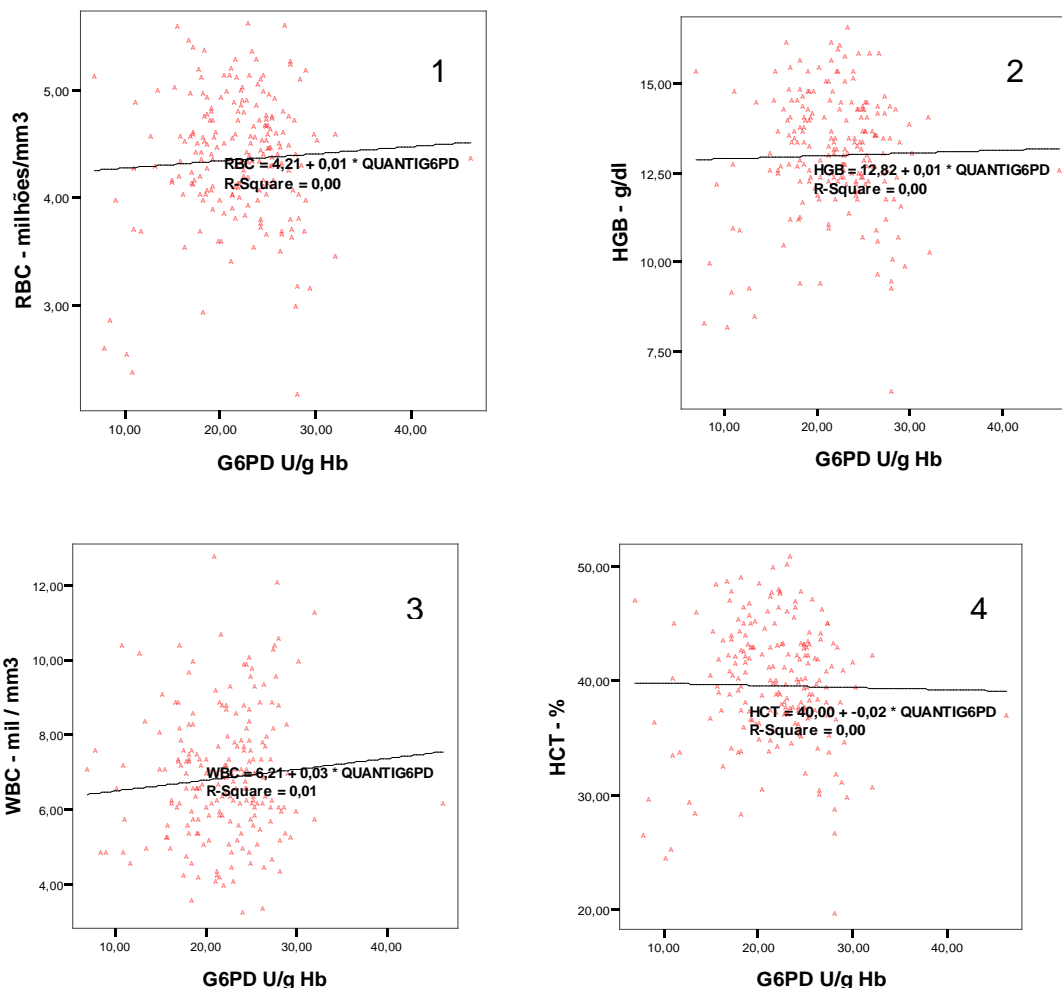
Nos indivíduos caracterizados como deficientes enzimáticos pelo método enzimático-colorimétrico, também foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros hematológicos e índices hematimétricos que avaliam a ocorrência de anemia. O aumento das bilirrubinas, principalmente a fração indireta não foi estatisticamente significativo (tabela 8).

Tabela 8. Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à deficiência de G6PD por método quantitativo.

Descrição	DEFICIENCIA N=10 (5,0%)	NORMAL N=190 (95,0%)	<i>p</i>
Hemácias	$3,57 \pm 0,98$	$4,39 \pm 0,5$	<b>&lt; 0,01</b>
Hematócrito	$33,9 \pm 8,0$	$39,8 \pm 5,0$	<b>&lt; 0,05</b>
Hemoglobina	$11,1 \pm 2,5$	$13,0 \pm 1,6$	<b>&lt; 0,05</b>
Bilirrubina indireta	$0,9 \pm 0,8$	$0,5 \pm 0,4$	<b>&gt; 0,05</b>

Reticulócitos	$6,4 \pm 4,2$	$3,4 \pm 1,3$	$= 0,05$
Plaquetas	$305,4 \pm 118,1$	$299,5 \pm 100,9$	$> 0,05$
Metemoglobina	$4,4 \pm 1,4$	$3,3 \pm 1,2$	<b><math>&lt; 0,05</math></b>

A análise da correlação e da regressão linear entre a concentração de G6PD e os parâmetros hematológicos mostrou haver uma correlação negativa estatisticamente significativa entre os níveis de G-6-PD e a concentração de reticulócitos, hematócrito e concentração de metemoglobina. Uma correlação positiva estatisticamente significativa foi encontrada entre os níveis de G-6-PD e número de hemácias, concentração de hemoglobina e número de leucócitos conforme demonstrado na figura 8.



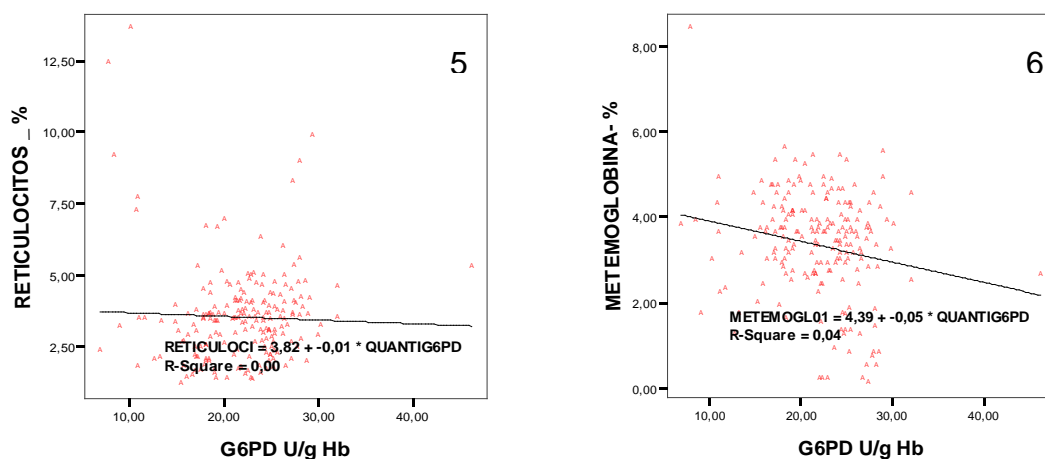


Figura 8. Correlações positivas (1, 2 e 3) e negativas (4, 5 e 6) estatisticamente significativas entre os níveis de G-6-PD e alguns parâmetros hematológicos

A hemoglobínúria mostrou-se presente em 2,0% (4) dos pacientes estudados, sendo que três deles eram deficientes enzimáticos avaliados pelo método quantitativo, portanto, a probabilidade de se encontrar esta alteração foi mais de 80 vezes maior entre os pacientes deficientes ( $OR=81,0$ ;  $IC: 7,4 < OR < 880,1$ ;  $p < 0,01$ ), conforme tabela 9.

Tabela 9. Ocorrência de hemoglobínúria nos 200 pacientes com malária, normais e deficientes da enzima G6PD pelo método quantitativo

G6PD Quantitativo	Hemoglobínúria		TOTAL
	Sim	Não	
Deficiente	3	7	10
Normal	1	189	190
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>196</b>	<b>200</b>

#### Valores preditivos da hemoglobínúria:

##### Valor Preditivo Positivo

$$VPP = 3 / (3+7) = 0,3 = 30,0\%$$

##### Valor Preditivo Negativo

$$VPN = 189 / (1+189) = 0,995 = 99,5\%$$

### 4.2.3 VALIDADE DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DA ENZIMOPATIA

#### Sensibilidade e especificidade do teste qualitativo

Os testes utilizados para o diagnóstico da deficiência de G6PD foram o qualitativo de Brewer e o enzimático colorimétrico quantitativo da Intercientífica®. A prevalência da deficiência enzimática na amostra estudada pelo método qualitativo foi de 3,5% (7 pacientes) e de 5,0% (10 pacientes) pelo método quantitativo. O teste qualitativo de Brewer na amostra analisada mostrou sensibilidade de 70% e especificidade de 100%, considerando-se o teste enzimático colorimétrico como padrão ouro na triagem da deficiência da G-6-P D, conforme tabela 10.

Tabela 10. Propriedades diagnósticas do teste de Brewer utilizando como padrão o teste enzimático quantitativo

QUALITATIVO	QUANTITATIVO		TOTAL
	Deficiente	Normal	
Deficiente	7	0	7
Normal	3	190	193
TOTAL	10	190	200

$$\text{Sensibilidade} = 7 / 7+3 = 7 / 10 = 0,7 = 70\%$$

$$\text{Especificidade} = 190 / 0 + 190 = 190 / 190 = 1 = 100\%$$

#### Confiabilidade dos exames de triagem para G6PD

Na análise do nível de concordância entre os testes utilizados para a triagem da deficiência de G6PD utilizou-se o índice *Kappa*, que demonstrou haver concordância muito boa entre os mesmos, segundo escala proposta em 1977 por Landis e Koch (tabela 11), conforme cálculo abaixo utilizando-se os valores da tabela 10.

$$k = \frac{(200)(7+190) - [(7)(10)+(193)(190)]}{(200)^2 - [(7)(10)+(193)(190)]} = 0,82$$

Concordância observada - 98,5%

Concordância esperada - 91,8%

Tabela 11. Escala de avaliação da intensidade da concordância, segundo Landis e Koch (1977)

Índice <i>Kappa</i>	Grau de concordância
< 0,00	Sem concordância
0,00 – 0,20	Insignificante
0,21 – 0,40	Discreta
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Boa
0,81 – 1,00	Muito Boa

### 4.3 METEMOGLOBINEMIA

#### Descrição das variáveis epidemiológicas

A dosagem quantitativa da metemoglobina mostrou que diversos pacientes estavam com os níveis elevados em relação ao valor de referência da metodologia, estabelecido em até 3,8 % da concentração de hemoglobina (Figura 9). A análise dos pacientes com concentrações de metemoglobina normal e aumentada também não demonstrou diferenças estatisticamente significativas em relação às variáveis epidemiológicas como idade, sexo, raça, tipo de infecção malárica, provável local de infecção, antecedentes de icterícia e número de episódios de malária anteriores.



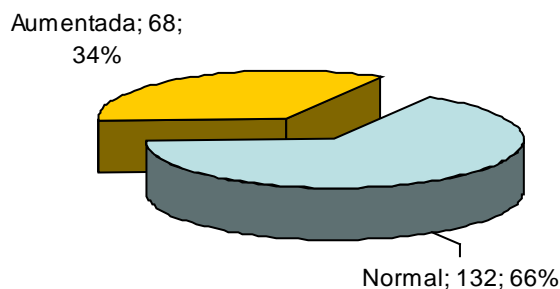


Figura 9. Prevalência de metemoglobinemia em pacientes com malária vivax ou mista atendidos na FMTAM.

### Descrição dos achados laboratoriais

Na análise dos indivíduos com concentrações normais e aumentadas de metemoglobina não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação aos parâmetros hematológicos e índices hematimétricos, que avaliam a ocorrência de anemia, bem como a presença de hematúria. Os níveis séricos de bilirrubinas, principalmente a fração indireta, assim como a diferença na concentração de reticulócitos foram estatisticamente significativas, conforme valores especificados na tabela 12.

Tabela 12. Valores hematológicos médios e outros parâmetros laboratoriais nos 200 pacientes com malária em relação à concentração de metemoglobina.

	METEMOGLOBINEMIA		<i>p</i>
	Presente N=68 (34,0%)	Ausente N=132 (66,0%)	
Hemácias	4,2 ± 0,6	4,4 ± 0,6	<b>&lt; 0,05</b>
Hematócrito	38,9 ± 5,1	39,9 ± 5,5	> 0,05
Hemoglobina	12,8 ± 1,6	13,1 ± 1,7	> 0,05
Bilirrubina indireta	0,6 ± 0,4	0,48 ± 0,4	<b>&lt; 0,01</b>
Reticulócitos	3,97 ± 1,9	3,32 ± 1,5	<b>&lt; 0,01</b>
Plaquetas	312,6 ± 93,2	293,2 ± 105,5	> 0,05

#### 4.4 DEFICIÊNCIA ENZIMÁTICA DE G-6-PD E METEMOGLOBINEMIA

Na análise dos indivíduos com concentração de metemoglobina normal e aumentada, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à prevalência da deficiência enzimática observada através dos métodos quantitativo e qualitativo de triagem (Tabela 13).

Tabela 13. Deficiência enzimática pelos dois métodos de triagem nos pacientes com valores de metemoglobina normal e aumentada.

Deficiência G6PD		Metemoglobinemia		OR	IC	p
		Sim	Não			
QUALITATIVO	Sim	4	3	2,69	0,48<OR<15,88	> 0,05
	Não	64	129			
QUANTITATIVO	Sim	4	6	1,31	0,29<OR<5,56	> 0,05
	Não	64	126			

Em relação à análise dos pacientes classificados como normais ou deficientes enzimáticos pelos métodos qualitativo (Tabela 5) e quantitativo (Tabela 6), verificou-se haver associação entre a deficiência enzimática de G-6-PD e as concentrações sanguíneas de metemoglobina, com valores médios mais elevados nos indivíduos deficientes enzimáticos.

## 5 DISCUSSÃO

O estudo da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) é de grande importância na Amazônia brasileira onde cerca de meio milhão de casos de malária vivax ocorre a cada ano, fazendo-se necessário o uso da primaquina, um medicamento oxidante que pode desencadear episódios hemolíticos severos em pacientes portadores desta enzimopatia. Apesar de ser a alteração enzimática genética mais freqüente e das mais estudadas em todo o mundo, ainda se dispõe de poucas informações a respeito de seu significado clínico em nosso meio e de sua relação com a metemoglobinemia induzida por drogas oxidantes. A anemia hemolítica aguda induzida pela primaquina é o protótipo clínico de resposta em pacientes com deficiência de G-6-PD e o mecanismo exato da destruição dos eritrócitos, apesar de não totalmente esclarecido, sugere oxidação tanto do NADPH quanto do glutathion reduzido (Sánchez, 2003). A primaquina manifesta uma variedade de reações adversas que levam à metemoglobinemia e anemia hemolítica em indivíduos suscetíveis, incluindo os deficientes de G-6-PD (Carson ; 1984).

### **Prevalência da deficiência de G-6-PD nos pacientes com malária**

A freqüência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase observada entre os indivíduos com malária vivax ou infecção mista, atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas entre os meses de outubro e dezembro de 2005 (3,5% pelo teste qualitativo de Brewer e 5% pelo quantitativo colorimétrico), foi similar a estimada por outros autores em casuísticas de pacientes com malária no norte do Brasil, como Katsuragawa et al. (2004) em Porto Velho-RO, em 3,3%; Barraviera et al. (1987) em Humaitá-AM estimada em 5% e Silva (1998) em Belém-PA, em 5,5%.

Alguns autores afirmam que a malária pode ter sido responsável pela seleção de populações com deficiência enzimática, já que em locais hiperendêmicos onde a malária grave é causa freqüente de mortalidade, as populações sobreviventes seriam as portadoras de defeitos enzimáticos que conferem resistência natural, embora parcial, contra a infecção malárica como sugerido inicialmente por Alisson

(1960) em populações do leste africano e posteriormente por Carter e Mendis (2002).

Se, como sugerem alguns autores (Luzzatto, 1969; Ruwend et al., 1995; Mendez e Moyano, 2005), a deficiência enzimática sendo um fator de proteção para a hemácia contra a infecção pelo plasmódio, conferindo embora parcialmente, uma resistência natural ao indivíduo para desenvolver malária, resistência esta que por sua vez estaria relacionada à população eritrocitária circulante, a prevalência da enzimopatia estimada no presente estudo pode ser menor que a esperada na população geral do Município de Manaus. Adicionalmente, os critérios de inclusão não permitiram que pacientes portadores de formas graves de deficiência de G-6-PD das variantes de Classe II, como por exemplo, a variante Mediterrânea, participassem do estudo. Essas variantes tendo uma atividade enzimática abaixo de 10% do normal, levariam na maioria das vezes o paciente a apresentar nos três primeiros dias de tratamento com a primaquina manifestações de anemia hemolítica aguda como cianose, icterícia, colúria e demais sintomas que demandariam atendimento hospitalar de urgência. Dessa maneira, impediria o retorno ambulatorial em D7, momento em que os pacientes foram incluídos no estudo e realizaram a coleta de dados epidemiológicos e de amostras biológicas para as dosagens hematológicas, bioquímicas e enzimáticas para G-6-PD. Estes fatos sugerem que os pacientes deficientes enzimáticos detectados na amostra analisada sejam apenas os portadores de variantes de Classe III, mais provavelmente da variante Africana (A<sup>-</sup>), a mais prevalente entre os pacientes portadores de deficiência moderada em populações brasileiras, estimada em 95% a 99% por alguns autores (Compri et al., 2000; Saad et al., 1997).

Inúmeros estudos de prevalência da enzimopatia têm sido realizados em populações diversas. No Brasil, a maioria dos trabalhos tem como população de estudo amostras de doadores de sangue do sexo masculino, rastreamento neonatal em algumas maternidades e mais alguns poucos estudos isolados em alguns hospitais gerais.

Estudos idealizados para verificar a relação entre a deficiência de G-6-PD e a icterícia neonatal foram realizados pela primeira vez por Carson et al (1956). O reconhecimento sistemático da deficiência de G-6-PD em berçários brasileiros tem sido preconizado por alguns autores, com a finalidade de prevenir futuras crises hemolíticas nos deficientes além de permitir esclarecer muitos casos de icterícia neonatal (Garlipp, 1987). No entanto, o estudo da deficiência enzimática em berçários pode superestimar a freqüência do evento por possíveis resultados falso positivos, principalmente em função do sistema transitoriamente deficiente de algumas enzimas eritrocitárias no recém-nascido.

A associação da enzimopatia com a raça não está perfeitamente caracterizada em nosso meio, mas um estudo realizado em Campinas-SP, encontrou freqüência da enzimopênia de 9,5% entre os filhos de genitores negróides, 2,0% entre os de genitores caucasóides e de 2,3% da prevalência entre as meninas negróides, o que não difere muito de outros estudos realizados em populações gerais (Garlipp, 1987).

Em doadores de sangue do sexo masculino, Compri (2000) encontrou uma prevalência de 1,7% da deficiência na cidade de Bragança Paulista-SP, enquanto que Ramalho (1977) também estudando a prevalência da deficiência na cidade de Campinas-SP, encontrou uma prevalência de 10,4% entre os doadores negróides e 2,5% entre os caucasóides, sugerindo uma importante associação da prevalência da deficiência com a etnia da população.

Apesar de nosso estudo não contemplar a caracterização bioquímica ou molecular das variantes enzimáticas mais freqüentes nos pacientes participantes, verificando apenas a prevalência da deficiência enzimática, espera-se que as variantes de G-6-PD mais prevalentes na região seja a Africana, também chamada de A<sup>-</sup> e a variante Mediterrânea, como ocorre no resto do Brasil (Beutler et al., 1989).

Vários trabalhos têm sugerido que a resistência relativa à hemólise em células jovens está relacionada com seu maior metabolismo ativo e em particular aos seus maiores níveis de glicose-6-fosfato desidrogenase. Estudos realizados

principalmente em negros, portadores da variante Africana, demonstraram que os níveis de G-6-PD em células jovens comparadas com células mais antigas de indivíduos com a deficiência hereditária de G-6-PD é significativamente mais alto que aquelas, embora não comparável aos valores normais (Bonsignore, 1964). Este fato pode explicar a diferença encontrada em nosso estudo em relação à detecção da deficiência pelos métodos qualitativo e quantitativo enzimático, uma vez que os pacientes que estivessem apresentando evidências laboratoriais de hemólise e portanto, com elevação da concentração de reticulócitos, os quais possuem atividade enzimática cerca de cinco vezes mais elevada que as hemácias mais velhas, possivelmente possam ter deixado de ser detectados pelo método de triagem qualitativo, principalmente se portadores da variante Africana, a mais prevalente na população brasileira, fornecendo desta forma, possíveis resultados falso negativos. Resultados semelhantes foram os encontrados por Yoshida et al. (1967) em seus estudos da variante Africana de G-6-PD em homens negros, onde relatam que exames de triagem realizados após episódios hemolíticos ou na vigência de doença hemolítica crônica, podem fornecer resultados falso negativos.

A prevalência da deficiência de G-6-PD na população de estudo foi considerável, já que representa na Amazônia Brasileira um número absoluto que pode ser estimado em cerca de 24.000 pessoas com malária vivax deficientes enzimáticas que estariam submetidas ao efeito de um medicamento oxidante como a primaquina, número este que pode ser maior se consideramos também os movimentos migratórios.

### **Hemólise e metemoglobinemia em indivíduos tratados com primaquina**

Definida como a situação clínica caracterizada pela elevação de metemoglobina no sangue, acima do nível padrão estabelecido por dosagens químicas ou enzimáticas, a metemoglobinemia pode surgir a partir de uma variedade de etiologias, incluindo distúrbios hereditários, fontes dietéticas, idiopáticas e toxicológicas. Em eritrócitos normais, pequenas quantidades de metemoglobina são constantemente formadas e continuamente reduzidas mediante a ação de três enzimas específicas: NADH-diaforase, glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) e metemoglobina redutase. Geralmente, pessoas portadoras de deficiência de uma ou

mais enzimas redutoras da metemoglobina, sob o efeito de indução tóxico-oxidativa, como a primaquina, podem desencadear expressiva formação de metemoglobina (Naoum, 2004). A intensidade da hemólise produzida por esses agentes oxidantes depende de múltiplos fatores, entre os quais se encontram a capacidade oxidativa do agente, o nível de atividade enzimática de G-6-PD, a presença de infecções, acidose, hipoglicemia, alterações hepáticas e renais (Wright, 1999).

Na Segunda Guerra Mundial observou-se que soldados americanos negros que faziam uso da primaquina desenvolviam hemólise. Posteriormente pesquisadores concluíram que a possível explicação seria a exposição de portadores de deficiência de G-6-PD à primaquina e que esta deficiência seria mais freqüente nas pessoas de origem africana. A partir desse conhecimento começou-se a levar em consideração a possibilidade de um indivíduo exposto à primaquina desenvolver hemólise, que seria dependente da dosagem utilizada e que estaria relacionada à presença da enzimopatia (Kellermayer et al., 1962). Neste estudo observamos que a freqüência da deficiência enzimática nos pacientes que apresentaram quadro hemolítico, com elevação da bilirrubina indireta e contagem de reticulócitos superior a 2%, foi muito superior a encontrada nos pacientes que não apresentaram hemólise, o que sugere que os efeitos adversos da primaquina sejam mais freqüentes nos deficientes enzimáticos de G-6-PD. Contribui para essa evidência neste estudo, a proporção de pacientes deficientes que relataram episódios anteriores de icterícia, mais de vinte vezes maior do que nos não deficientes, semelhantes aos encontrados por Azevedo et al. (1978) em pacientes de um hospital geral em Salvador-BA, sugerindo que estas tenham sido com intensidade suficiente para causar icterícia clínica e que provavelmente não tenham sido verificados apenas pela utilização da primaquina, uma vez que a maioria dos pacientes enzimpênicos eram primoinfectados. Possivelmente estas reações foram verificadas pela utilização de outras drogas com poder oxidante, processos infecciosos ou até mesmo fatores ambientais como a naftalina ou nitritos voláteis.

Ao encontrarmos uma proporção de pacientes com valores aumentados de metemoglobina muito mais elevada que a proporção encontrada de deficientes enzimáticos de G-6-PD, nos leva pensar não ser necessário ser deficiente enzimático para produzir metemoglobinemia. A literatura descreve alguns estudos,

como os de Uko et al. (2003), que comprovam que a hemólise produzida pela infecção malárica, já transforma a hemoglobina liberada em metemoglobina, e que esta seria mais elevada em indivíduos com alta parasitemia. No entanto, o encontro de concentrações de metemoglobina muito mais elevada nos deficientes enzimáticos do que nos não deficientes, sugere que os efeitos adversos da primaquina, principalmente os hemolíticos, sejam mais importantes e possivelmente mais graves nos pacientes deficientes. Capote et al. (1997) estudando pacientes cubanos com malária vivax, todos deficientes enzimáticos, verificaram que 87,5% deste pacientes apresentaram importante quadro hemolítico na utilização da primaquina, concluindo que não se deva utilizar a primaquina indiscriminadamente em pacientes deficientes de G-6-PD, senão naqueles casos imprescindíveis e sob rigoroso acompanhamento.

A verificação da concentração de reticulócitos mais elevada nos indivíduos que apresentaram níveis aumentados de metemoglobina em nosso estudo, sugere que a metemoglobinemia nesses pacientes tenha sido fator desencadeante do processo hemolítico e que essa tenha sido decorrente da utilização da primaquina.

### **Fatores epidemiológicos e deficiência de G-6-PD**

Apesar da enzimopatia estar ligada aos genes recessivos do cromossomo X, e portanto devendo ser mais freqüente na população masculina (Ramalho, 1981), o presente estudo não detectou associação estatisticamente significativa entre sexo masculino e defeito enzimático. Este achado pode ser explicado pela sensibilidade do teste que permite evidenciar o defeito funcional também em mulheres heterozigotas, cuja atividade enzimática pode ser normal, reduzida ou muito deficiente, dependendo da população celular, eritrócitos portadores e não portadores do cromossomo X deficiente (Sánchez et al., 2003). Uma vez que todos os pacientes do estudo, homens e mulheres, foram submetidos ao stress oxidativo da primaquina, a freqüência da enzimopatia pôde ser detectada nos dois sexos.

Neste estudo observamos que a média de idade nos pacientes deficientes enzimáticos foi muito superior à encontrada na população de não deficientes. Esses dados sugerem que haja um decréscimo funcional da atividade enzimática com o aumento da idade, achado este que já tinha sido relatado por Rodgers et al. em



1983. Julgamos ser este um dado importante para desenhos de estudos de prevalência na população geral, que devem contemplar todas as faixas etárias e ambos os sexos, assim como estes achados também sugerem uma maior atenção na formulação de medicamentos potencialmente oxidantes nos pacientes mais velhos.

A prevalência da deficiência em relação à raça/cor, apesar da subjetividade e dificuldade de caracterização dos pacientes nos diversos grupos étnicos, mostrou haver predominância de indivíduos deficientes enzimáticos de cor parda em nossa casuística, o que está de acordo com diversos estudos populacionais, que tem demonstrado variações significativas da deficiência de G-6-PD nos diversos grupos étnicos (Compri et al, 2000; Ramalho, 1977).

Entre os deficientes enzimáticos encontrados neste estudo, tanto pelo método qualitativo quanto pelo quantitativo, a prevalência de primoinfectados foi estatisticamente significativa. Isto revela a possibilidade de desconhecimento da condição de enzimopata por estes pacientes e a importância que tem um teste de triagem para a deficiência de G-6-PD numa área endêmica de malária vivax, como o município de Manaus, no Amazonas.

Na análise dos exames laboratoriais dos pacientes deste estudo foi possível observar uma correlação positiva estatisticamente significativa entre a hematimetria, a concentração de hemoglobina, o número de leucócitos e a concentração de G-6-PD nos indivíduos examinados pelos dois métodos de triagem, enquanto que o percentual de reticulócitos e concentração de metemoglobina mostraram correlação negativa significativa. Esses dados sugerem que a hemólise decorrente da infecção malárica não foi suficiente para ativar com intensidade o sistema eritropoiético nos indivíduos não enzimopênicos, mas sim nos portadores da deficiência enzimática como o evidenciado por Ajlaan et al. (2000) em Basra, no Iraque.

Outro achado de relevante significado clínico foi a probabilidade oitenta vezes maior de se encontrar hemoglobinúria entre os pacientes enzimopênicos. Esta manifestação clínica sugere hemólise e traduz a capacidade das haptoglobinas plasmáticas em captarem a hemoglobina livre circulante. Este achado sugere que os

efeitos adversos da primaquina foram importantes no grupo dos pacientes deficientes de G-6-PD a tal ponto que a ausência de hemoglobinúria praticamente descarta a possibilidade de enzimopatia em pacientes em tratamento com primaquina, como os incluídos no presente estudo.

## 6 CONCLUSÕES

1. A prevalência da deficiência enzimática na população de estudo foi significativa, o que pode representar um número absoluto considerável de pacientes deficientes enzimáticos com infecção por *P. vivax* que estariam expostos aos efeitos hemolíticos da primaquina, razão pelo qual o problema deve ser valorizado.

2. A frequência de metemoglobinemia foi muito elevada nos pacientes do estudo, sugerindo não ser necessário ter deficiência enzimática para fazer metemoglobinemia, mas que entre os deficientes a intensidade é muito maior, podendo desencadear maiores efeitos adversos nestes indivíduos.

3. O presente estudo não evidenciou associação entre variáveis epidemiológicas como raça e sexo e deficiência enzimática, mas mostrou que a média de idade foi significativamente maior entre os pacientes deficientes enzimáticos, sugerindo um decréscimo funcional da enzima com a idade, que deve ser levado em consideração quando se tratar pacientes mais velhos com medicamentos potencialmente oxidantes.

4. Os antecedentes de icterícia foram muito constantes entre os pacientes com a enzimopatia, fazendo-se indispensável que este sinal seja pesquisado em indivíduos que serão submetidos ao uso de medicamentos oxidantes.

5. Os resultados deste estudo sugerem que a ausência de hemoglobinúria, praticamente descarta que o paciente em uso de primaquina seja portador de deficiência enzimática de G-6-PD.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ajlaan SK, al-Naama LM, al-Naama MM. Correlation between normal glucose-6-phosphate dehydrogenase level and haematological parameters. *East Mediterr Health J.* 2000 Mar-May;6(2-3):391-5.

Alecrim MGC. Malária. In: Cimerman S, Cimerman B. *Medicina Tropical*. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 105-118.

Alecrim MGC, Alecrim WD, Albuquerque BC, Alexandre MAA, Filho FSS, Lacerda MVG. In: *Manual de Rotinas da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT/IMT-AM)*, 2003: 151-53.

Allison AG. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in red blood cells of East Africans. *Nature.* 1960; 186: 531-2.

Azevedo ES, Azevedo TFS. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice em Bahia, Brazil *Cienc Cult.* 1974; 26: 1044-47.

Azevedo WC, Silva ML, Grassi MC, Azevedo ES. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes de um hospital de Salvador, Bahia, Brasil. *Rev Bras Pesqui Med Biol.* 1978 May; 11(1): 49-52.

Bangchang KN, Songsaeng W, Thanavibul A, Choroenlarp P, Karbwang J. Pharmacokinetics of primaquine in G6PD deficient and G6PD normal patients with vivax malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994; Mar-Apr; 88(2): 220-2.

Barraviera B, Meira DA, Machado PE, Curi PR. Malária no município de Humaitá, estado do Amazonas. Prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) em amostra da população e em doentes com malária causada pelo *Plasmodium falciparum*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1987 Nov-Dec; 29(6):374-80.

Beiguelman B, Pinto W Jr., Dall'aglio FF, Da Silva E, Voza JA. G-6-PD deficiency among lepers and healthy people in Brazil. *Acta Genet Stat Med.* 1968; 18(2): 159-62.

Bernini L, Latte B, Siniscalco M, Piomelli S, Spada U, Adinolfi M, Mollison PL. Survival of 51-Cs-labelled red cells in subjects with thalassaemia trait or G-6-PD deficiency or both abnormalities. *Br J Haematol.* 1964 Apr; 10: 171-80.

Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS e Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York, Mc Grow-Hill, 1983. p. 1629-53.

Beutler E. G6PD deficiency. *Blood.* 1994 Dec 1; 84(11): 3613-36.

Beutler E, Dern RJ, Alving AS. The hemolytic effect of primaquine. III. A study of primaquine-sensitive erythrocytes. *J Lab Clin Med.* 1954 Aug; 44(2): 177-84.

Beutler E, Mitchell M. Special modifications of the fluorescent screening method for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood*. 1968 Nov; 32(5): 816-18.

Beutler E, Kuhl W, Vives-Corrons JL, Prchal JT. Molecular heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase A-. *Blood*. 1989 Nov 15; 74(7): 2550-5.

Bolchoz LJ, Budinsky RA, Mcmillan DC, Jollow DJ. Primaquine-induced hemolytic anemia: formation and hemotoxicity of the arylhydroxylamine metabolite 6-methoxy-8-hydroxylaminoquinoline. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001 May; 297(2): 509-15.

Bonsignore A, Fornaini G, Fantoni A, Leoncini G, Segni P. Relationship between Age and Enzymatic Activities in Human Erythrocytes from Normal and Fava Bean-sensitive Subjects; *J Clin Invest*. 1964 May; 43: 834-42.

Borges AR, Sampaio MG, Condino Neto A, Barreto OCO, Nuldeman V, Sampaio MMSC, Nogueira AS, Abreu TA, Costa-Carvalho BT. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em infecções de repetição. Relato de caso. Acesso em 28/06/2004. Disponível em: URL: [www.brazilpednews.org.br/jun2001/](http://www.brazilpednews.org.br/jun2001/).

Boulos M. Tratamento. In: *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu; 1996. v.2, p.1282-85.

Braga EM. *Plasmodium* - Malária. In: Neves DP. *Parasitologia Humana*. 10ª ed. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 128-46.

Brewer GJ, Tarlou AR, Kellermeyer RW. The hemolytic effect of primaquine. *J Lab Chim Med*. 1961; 58: 217.

Bunnag D, Karbwang J, Thanavibul A, Chittamas S, Ratanapongse Y, Chalermrut K, Bangchang KN, Harinasuta T. High dose of primaquine in primaquine resistant vivax malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994 Mar-Apr; 88(2): 218-19.

Calabro V, Mason PJ, Filosa S, Civitelli D, Cittadella R, Tagarelli A, Martini G, Brancati C, Luzzatto L. Genetic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency revealed by single-strand conformation and sequence analysis. *Am J Hum Genet*. 1993 Mar; 52(3): 527-36.

Capote RM, Perez LD, Suarez CL. Hemolysis and primaquine treatment. Preliminary report. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 1997;49:136-138.

Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, Alving AS. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*. 1956 Sep 14; 124(3220): 484-5.

Carson PE. 8-aminoquinolines. In: Peters W.; Richards WHG, editors. Antimalarial drugs. II. Current antimalarials and new drug developments. Berlin: Springer – Verlag; 1984. p. 83-121.

Carter R, Mendis KN. Evolutionary and Historical Aspects of the Burden of Malaria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002 Oct.; 564–594

Compri MB, Saad STO, Ramalho AS. Investigação genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira. *Cad Saúde Pública*. 2000 Abr-Jun; 16 (2): 335-42.

Dacie JV, Lewis SM. *Practical haematology* Churchill Livingstone, Edimburgh-UK, 1995.

Du CS, Xu YK, Hua XY, Wu OL, Liu LB. Glucose-6-phosphate dehydrogenase variants and their frequency in Guangdong, China. *Hum Genet*. 1988 Dec; 80(4): 385-88.

Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. *Manual de Terapêutica da Malária. Vigilância Epidemiológica*. Brasil. 2001. p. 104.

Garlipp CR. Aspectos clínicos e laboratoriais da deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em recém-nascidos brasileiros. 1997. 89 f. Defesa (Doutorado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Garnham PCC, Duggan AJ. *Catalogue of the Garnham Collection of Malaria Parasites and Other Haemosporidia*. Willian Clowes Ltd., London, 1986. 191p

Gibson QH. The reduction of methemoglobin in red blood cells and studies on the causes of idiopathic methemoglobinemia. *Biochem. J*. 1948; 42; 13-23

Goldstein A. *Principles of drug action*. 2nd ed. New York, Wiley Biomedical-Health Publ., 1974. 394: 411- 423.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *População das cidades*. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 15/07/2006

Katsuragawa TH, Gil LHS, Stábile RG, Pires MG, Bonini-Domingos, CR. Avaliação da incidência da deficiência de Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PD) e perfil hematológico em indivíduos de uma região de Rondônia. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2004 Out-Dez; 26(4): 268-73.

Kellermeyer RW, Tarlov AR, Brewer GJ, Carson PE, Alving AS. Hemolytic effect of therapeutic drugs. Clinical considerations of the primaquine-type hemolysis. *JAMA*. 1962 May 5; 180: 388-94.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977 Mar; 33(1): 159-74.

Lima AO, Soares JB, Gerco B, Galizzi J, Cançado JR. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica: Técnica e Interpretação. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, p. 2-30.

Lukens JN. Metemoglobinemia e Outros Distúrbios Acompanhados Por Cianose. In: Wintrobe, J. Hematologia Clínica. São Paulo: Manole, 1998. 1; 1386-1395.

Luzzatto L, Battistuzzi G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: Harris H, Hirschhorn K. Advances in Human Genetics. New York: Plenum, 1985. p. 217.

Luzzatto L, Mehta A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The metabolic and molecular basis of inherited disease. New York. Mc Grow-Hill, 1995. p. 3367-3398.

Luzzatto L, Usanga FA, Reddy S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells: resistance to infection by malarial parasites. Science. 1969 May 16; 164(881): 839-42.

MacDonald G. Epidemiological basis of malaria control. Bulletin of the World Health Organization . 1956; 15:613-26.

Marques J, Campos JD. Incidência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em negros de Minas Gerais. AMB Rev Assoc Med Bras. 1975 Apr; 21(4): 111-2.

Méndez F, Moyano M. Defectos eritrocíticos y densidad de la parasitemia en pacientes con malaria por Plasmodium falciparum en Buenaventura, Colombia. Rev Panam Salud Publica. 2005 Jul; 18(1): 25-32.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodweel VW. I. Harper bioquímica. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

Naoum PC. Eletroforese - Técnicas e Diagnósticos. 2ª ed. São Paulo: Santos, 1999. 89-91.

Naoum PC, Radspiec J, Moraes MS. Dosagem espectrofotométrica de metemoglobina sem interferentes químicos ou enzimáticos. Rev Bras Hematol Hemoter. 2004.

Oppenheim A, Jury CL, Rund D, Vulliamy TJ, Luzzatto L. G6PD Mediterranean accounts for the high prevalence of G6PD deficiency in Kurdish Jews. Hum Genet. 1993 Apr; 91(3): 293-4.

Pan American Health Organization (PAHO). Health situation in the Americas. Basic indicators (Based on 2004 data). 2005.

Pan American Health Organization / World Health Organization (PAHO/WHO). Report on the status of Malaria Programs in the Americas. CD48/INF/1(Eng). 2001.

Panich V, Na-Nakorn S. G-6-PD variants in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 1980 Oct; 63(10): 537-43.

Ramalho AS. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em recém-nascidos brasileiros. *Rev Assoc Med Bras*. 1981 Dec; 27(12): 343-45.

Ramalho AS, Beiguelman B. Deficiência de desidrogenase de 6 fosfato de glicose (G6PD) em doadores de sangue brasileiros. *Rev Assoc Med Bras*. 1977 Aug; 23(8): 259-60.

Rodgers GP, Lichtman HC, Sheff MF. Red blood cell glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in aged humans. 1983 Jan;31(1):8-11.

Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, Yates SN, Kwiatkowski D, Gupta S, Warn P, Allsopp CE, Gilbert SC, Peschu N, et al. Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature*. 1995 Jul 20; 376(6537): 246-49.

Saad STO, Salles TSI, Carvalho MHM, Costa FF. Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency em Brazil. *Hum Hered*. 1997; 47: 17-21

Saldanha PH, Nóbrega FG, Maia JC. Distribution and heredity of erythrocyte G6PD activity and electrophoretic variants among different racial groups at Sao Paulo, Brazil. *J Med Genet*. 1969 Mar; 6(1): 48-54.

Samuel AP, Saha N, Acquaye JK, Omer A, Ganeshaguru K, Hassounh E. Association of red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase with haemoglobinopathies. *Hum Hered*. 1986; 36(2): 107-12.

Sánchez TA, Núñez DP, Luengo MS. Anemia hemolítica por deficiencia de G6PD y estrés oxidativo. *Rev Cub Invest Bioméd*. 2003; jul.-sep.22 n.3: 186-91.

Santos BE, Guerreiro JF, Salzano FM, Weimer TA, Hutz MH, Franco MHL. Mobility, blood genetic traits and race mixture in the amazonian population of Oriximiná. *Brazilian Journal of Genetics*, 1987: 745-59.

Sena LLA, Ramalho AS. Clinical evaluation of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency in a Brazilian population. *Braz J Genet*, 1985; p. 89-96.

Sena LLA. Estudo médico da deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) na região de Campinas, SP. 1983. 97 f. Defesa (Doutorado em Biologia) - Curso de Pós-Graduação do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Silva MCM. A Deficiência da Enzima Glicose - 6 - Fosfato Desidrogenase (G6PD) e



sua relação com a infecção malárica. 1998. 99 f . Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas , Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém.

Silva MCM, Santos EJM, Gomes M, Guerreiro JF, Póvoa MM. Aspectos Clínicos e Laboratoriais de Pacientes Maláricos Com e Sem Deficiência da Enzima G6PD Submetidos a Tratamento Com 30mg Diárias de Primaquina. In: Resumos do 45º Congresso Nacional de Genética, 1999. Gramado-RS. Genetic and Molecular Biology. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética 1999; v.22. p.562-572.

Sistema de Vigilância Epidemiológica -SIVEP- Boletim Epidemiológico de Malária-2006. Acesso em 26/07/2006. Disponível: URL:<http://sis.funasa.gov.br/sivep-malaria>.

Souza JM, Couto AARC, Silva EB, Abdon NP, Silva RSU. Malária. In: Leão RNQ. Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico. Belém: CEJUP/ UEPA/ INST. EVANDRO CHAGAS, 1997. p. 645-69.

Tauil PL. Epidemiologia. In: Veronesi R, Focaccia R. Tratado de Infectologia. São Paulo: Atheneu, 1996. v. 2, p. 1264-68.

Uko EK, Udoh AE, Etukudoh MH. Methaemoglobin profile in malaria infected children in Calabar. Niger J Med. 2003 Apr-Jun;12(2):94-7.

Vignal CV, Figueiredo VM, Almeida LFF. Prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) na região metropolitana de Recife. Anais do 38º Congresso da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, Tema Livre 419, Florianópolis, 2004.

World Health Organization. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Bulletin of the World Health Organization 6:601-611, 1989.

World Health Organization. World malaria report 2005. WHO/HTM/MAL/2005.

Wright RO, Lewander WJ, Woolf AD. Methemoglobinemia: Etiology, Pharmacology and Clinical Management. Ann. Emerg. Med. 1999; 34; 646-56

Yoshida, A.; Stamatoyannopoulos, G.; Motulski, A.G. Negro variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (A<sup>-</sup>) in man. Science 155: 97-99, 1967.



## SOLUÇÕES NECESSÁRIAS NA ANÁLISE QUALITATIVA DA G6PD

1) NITRITO DE SÓDIO (NaNO<sub>2</sub>) 0,18M

Pesar 1,25 g de nitrito de sódio P.A.; colocar num balão graduado de 100 ml; dissolver e diluir com água destilada.

Obs.: esta solução pode ser usada no prazo de 1 mês.

2) GLICOSE (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) 0,28M

Pesar 5 g de glicose puríssima; dissolver e diluir para 100 ml com água destilada, em balão graduado de 100 ml.

3) AZUL DE METILENO (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>SCI . 3H<sub>2</sub>O) 0,0004M

Pesar 0,0075 g de cloreto de azul-de-metileno triidratado; dissolver e diluir para 50 ml de água destilada em balão graduado.

### Especificações dos Produtos Usados:

#### Nitrito de Sódio Puro :

*Fórmula:* NaNO<sub>2</sub>

*PM:* 69,0

*Marca Comercial:* Nuclear

*Código do produto:* 3280

*Peso Líquido:* 500g

*Fabricação/Lote:* Maio/02-02050889

*Validade:* Maio/2007

#### D-Glicose Anidra P.A. :

*Fórmula:* C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

*PM:* 180,16

*Marca Comercial:* Nuclear

*Código do Produto:* 316508

*Peso Líquido:* 500g

*Fabricação/Lote:* set.-02/02091556

*Validade:* set./2007

#### Azul de Metileno :

*Fórmula:* C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>SCI . 3H<sub>2</sub>O

*PM:* 373,92

*Marca Comercial:* Nuclear

*Código do Produto:* 317417

*Peso Líquido:* 25g

*Fabricação/Lote:* jan./03-03010130

*Validade:* jan./2008

**ANEXO B****DETERMINAÇÃO DA METEMOGLOBINA SEM INTERFERENTES QUÍMICOS****1- ENSAIO****TUBO A:**

100µl de sangue total

+

100 µl saponina 1% - homogeneizar

+

6ml de tampão fosfato M/60 pH 6,6 - homogeneizar

**TUBO B:**

300 µl solução tubo A

+

3 ml tampão fosfato M/60 - homogeneizar

**2- LEITURA**

Branco: Tampão fosfato M/60

Tubo A: 630 nm

Tubo B: 540 nm

**3- CÁLCULO METEMOGLOBINA**

MHb:  $\frac{(A) \text{ tubo A} \times 100}{(A) \text{ tubo A} + ((A) \text{ tubo B} \times 10)}$  %

(A) tubo A + ((A) tubo B x 10)

ANEXO C**FMT-AM**

Fundação de Medicina Tropical do Amazonas



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Aprovação CEP/FMT-AM  
Nº: 585/2005

Processo Nº0585/2005-FMT-AM

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM), em sessão do dia 03 de junho de 2005, **APROVOU** o Projeto de Pesquisa nº 585/05-FMT-AM, intitulado: ***"Estudo sobre metahemoglobinemia e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes com malária tratados com primaquina"***, apresentado pelo (a) pesquisador(a) JOSÉ FELIPE JARDIM SARDINHA, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Manaus, 03 de junho de 2005 .

Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira  
Coordenador de Ética em Pesquisa  
FMT-AM

**Obs:** Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c").

## ANEXO D

### **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO AO PACIENTE**

#### **1. TÍTULO DO PROJETO:**

#### **ESTUDO SOBRE A METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE EM PACIENTES COM MALÁRIA TRATADOS COM PRIMAQUINA NA FMTAM**

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa clínica e laboratorial, a ser realizado na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e pergunte o que desejar para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

#### **2. DESENHO E OBJETIVOS DO PROJETO**

A malária é uma das mais importantes doenças da região Amazônica. Todo ano, milhares de pessoas são diagnosticadas e tratadas na Fundação de Medicina Tropical. Alguns pacientes com malária vivax e tratados com o medicamento primaquina, podem não se sentir bem e apresentar sinais de hemólise devido à deficiência de uma enzima presente nos glóbulos vermelhos do sangue, chamada glicose-6-fosfato desidrogenase.

Este estudo é importante, pois visa identificar estes indivíduos logo no início dos sintomas, suspendendo a medicação e interrompendo este processo, evitando com isso o agravamento do quadro clínico do paciente e até mesmo sua internação hospitalar.

**3. PATROCINADOR :** Universidade do Estado do Amazonas e Fundação de Medicina Tropical do Amazonas

#### **4. DESCRIÇÃO DO PROJETO**

Este é um estudo com o objetivo de verificar a relação da deficiência de G6PD em pacientes com malária vivax. Para isso, será necessário a realização de exames de sangue. Será colhida uma amostra de sangue da veia do braço, com seringa e agulha descartáveis, não trazendo risco algum de contaminação. No total, cerca de 120 pacientes farão parte deste estudo.

#### **5. RELAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS ROTINEIROS E COMO SERÃO REALIZADOS**

Caso você concorde em participar da pesquisa, nós colheremos uma amostra de seu sangue (10 ml) e uma amostra de sua urina para a realização dos seguintes exames laboratoriais: hemograma completo, dosagem de G-6-PD, pesquisa de metemoglobina, dosagem de glicose, uréia, creatinina, bilirrubinas e transaminases no sangue e pesquisa de hemoglobinúria na amostra de urina. Todos estes exames serão realizados no Laboratório de

Análises Clínicas da própria Fundação e todos os resultados estarão disponíveis para você na Gerência de Malária.

## **6. RISCOS ASSOCIADOS AO ESTUDO**

Depois de coletar amostra de sangue do braço, poderá ficar com uma mancha roxa (hematoma) e um pouco dolorido no local da punção.

## **7. BENEFÍCIOS PARA O PACIENTE**

Participando desse estudo, o voluntário não receberá qualquer benefício monetário, mas estará contribuindo para o conhecimento científico da malária, bem como ficará sabendo também se é portador da deficiência da enzima em estudo.

## **8. GARANTIA DE ACESSO AOS REGISTROS MÉDICOS**

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

O principal investigador é o **Dr José Felipe Jardim Sardinha**, que pode ser encontrado na Gerência de Diagnóstico da Fundação de Medicina Tropical, situada na Av. Pedro Teixeira nº 25, D. Pedro, Manaus, AM – telefone (92) 238-1711, ramal 208 e (92) 8111-4388

## **9. DIREITO À RETIRADA DO ESTUDO**

A pessoa que participa da pesquisa tem todo o direito de fazer qualquer pergunta referente aos riscos potenciais ou conhecidos, bem como se retirar do estudo em qualquer fase da pesquisa sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

## **10. CONFIDENCIALIDADE**

A participação nesse estudo será confidencial. Os resultados dos exames serão mostrados às pessoas do Hospital Tropical que trabalham com malária ou pesquisadores de outras cidades ou países. Sua identidade permanecerá sempre em confidencialidade e seu nome nunca será revelado.

O participante da pesquisa será notificado com referência a qualquer nova informação relacionada com o estudo.

## **11. DANOS PESSOAIS**

No caso de qualquer dano à sua saúde, você terá direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações previstas na lei.

## **12. PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

Sua participação é voluntária. Se houver qualquer recusa em participar deste estudo, não ocorrerá qualquer perda de benefícios a que tenha direito. A pessoa que aceitar participar da pesquisa receberá uma cópia assinada, ficando uma outra com o pesquisador responsável.

### 13. CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu,

\_\_\_\_\_,  
declaro que após ter recebido informações claras e lido este termo de informação e adesão,  
concordo com minha participação no estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente/representante legal

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Representante legal – para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.



Impressão do polegar direito do paciente, caso este não  
saiba escrever seu nome

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

*(Somente para o responsável do projeto)*

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

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



**ANEXO E****FICHA CLÍNICA/EPIDEMIOLÓGICA****Estudo Sobre Metemoglobinemia e Deficiência de G6PD em Pacientes com Malária**

Registro: .....	
Data:...../...../.....	
Nome: ..... N° da lâmina: .....	
Sexo: ( )M ( )F	Idade:..... Cor: .....
Endereço:..... Bairro: .....	
Cidade: ..... UF: ..... Fone: ..... Profissão/ocupação: .....	
<b>EXAME PARASITOLÓGICO</b>	
Gota espessa: ( ) P. vivax ( ) F+V	
Parasitemia: ( ) ½+ ( ) + ( ) ++ ( ) +++ ( ) ++++ ( ) ..... Parasitas	
Densidade Parasitaria:...../mm <sup>3</sup>	
<b>QUADRO CLÍNICO</b>	
Sintomas:..... Quantos dias com os sintomas:.....	
Possível local de infecção:..... Antecedente de malária: ( ) 0 ( ) 1X ( ) 2X ( ) +3X	
Antecedente de icterícia com uso de agentes oxidantes? ( ) Sim ( ) Não	
Agente : ( ) medicamentos ( ) alimentos ( ) tintas e corantes ( ) poluição	
Especifique o agente:..... Dia do Tto / início manif. Clínicas:.....	
<b>EXAMES LABORATORIAIS</b>	
<b>Hematológicos:</b>	
Leucócitos ..... 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	VCM: .....
Hemácias: ..... 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	CHCM: .....
Hemoglobina: ..... g/dL	HCM: .....
Hematócrito: ..... %	Reticulócitos: .....
Plaquetas: ..... 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Morfologia das hemácias (Panótico®):
<b>Bioquímicos:</b>	
Glicose ..... mg/dL	Bilirrubina Total: ..... mg/dL
Uréia: ..... mg/dL	Bilirrubina Direta: ..... mg/dL
Creatinina:..... mg/dL	Bilirrubina Indireta: ..... mg/dL
Ácido Úrico: ..... mg/dL	TGO: ..... U/L
	TGP: ..... U/L
<b>Uroanálise:</b>	
Exame Químico: hemoglobina: ( ) negativo	
( ) ½+ ( ) + ( ) ++ ( ) +++ ( ) ++++	
Metemoglobina: .....%	G6PD (Brewer): ( ) Positivo ( ) Negativo
	Atividade G6PD: .....

**Agentes Metemoglobinizantes:** Medicamentos= Antimaláricos (cloroquina e primaquina); Anestésicos(benzocaína e lidocaína); Vasodilatadores(nitrito de amila e nitroglicerina); Analgésicos e antitérmicos(fenacetina e paracetamol); sulfas, fenazopiridina, dapsona, colchicina, resorcinol, sulfonamida, ácido p-aminosalicílico, azul de metileno./ **Alimentos conservados**(nitrito e nitrato de sódio)/ **Tintas e corantes** (anilina, nitrobenzeno, tintas para marcar roupas./ **Poluição** (gases de escapamentos)/ Industriais (dinitrobenzeno, dinitrotolueno, nitrotolueno, naftaleno, toluidinas, tetranitrometano e outros. **Agentes oxidantes na deficiência da G6PD:** antimaláricos; naftalina; sulfametoxazol; sulfonas; sulfanilamina; nitrofurantoína; nitratos e nitritos; fenilhidrazina; azul de toluidina; analgésicos (acetanilida); vitamina K



## ANEXO F

### GOVERNO DO ESTADO DO AMAZONAS FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS GERÊNCIA DE DIAGNÓSTICO

#### PROJETO:

**ESTUDO SOBRE METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE G-6-PD EM  
PACIENTES COM MALÁRIA TRATADOS COM PRIMAQUINA**

NOME: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

PROCEDÊNCIA: \_\_\_\_\_ LEITO: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_ REGISTRO: \_\_\_\_\_

DOSAGEM QUALITATIVA PARA G-6-PD (Teste de Brewer)

RESULTADO: (    ) NORMAL  
                  (    ) DEFICIENTE

DOSAGEM QUANTITATIVA PARA G-6-PD (Atividade enzimática)

RESULTADO: \_\_\_\_\_ U/g Hb

METEMOGLOBINA: \_\_\_\_\_ %  
(Ref: até 3,8% Hb)

\_\_\_\_\_  
Responsável Técnico

Obs:

1. Paciente com anemia hemolítica deve ser avaliado em relação à proporção de reticulócitos, pois estes possuem atividade enzimática de G-6-PD mais elevada.
2. Transfusão com hemácias normais pode elevar momentaneamente o resultado de um indivíduo deficiente.