MARIA DE FÁTIMA DE CARVALHO FERREIRA

**Triagem neonatal de deficiência de glicose-6-fosfato
desidrogenase e prevalência das mutações G202A (G6PD A-) e
C563T (G6PD Mediterrâneo) em Mato Grosso / Brasil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Esther Jurfest
Rivero Ceccon

SÃO PAULO

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ferreira, Maria de Fátima de Carvalho

Triagem neonatal de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase e prevalência das mutações G202A (G6PD A-) e C563T (G6PD mediterrâneo) em Mato Grosso/Brasil / Maria de Fátima de Carvalho Ferreira. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.

Orientadora: Maria Esther Jurfest Rivero Ceccon.

Descritores: 1.Deficiência de glucosofosfato desidrogenase/diagnóstico
2.Triagem neonatal 3.Estudos transversais 4.Deficiência de glucosofosfato desidrogenase/genética 5.Mutação/genética 6.Deficiência de glucosofosfato desidrogenase/complicações 7.Icterícia neonatal 8.Kernicterus/etiologia 9.Hiperbilirrubinemia neonatal/etiologia 10.Anemia hemolítica 11.Malária 12.Primaquina/efeitos adversos 13.Dapsona/efeitos adversos 14.Brasil/epidemiologia 15.Recém-nascido

USP/FM/DBD-162/14

*De tudo ficaram três coisas
A certeza que estamos sempre recomeçando
A certeza de que precisamos continuar
A certeza de que seremos interrompidos antes de
terminar*

*Portanto, devemos fazer da interrupção um
caminho novo
Da queda, um passo de dança
Do medo, uma escada
Do sonho, uma ponte
Da procura, um encontro*

Fernando Pessoa

DEDICATÓRIA

A meu pai, que viu o projeto deste doutorado nascer e crescer e que, de algum lugar no céu, assiste a sua conclusão.

A minha mãe, que me apoiou em todas as etapas, sofrendo comigo mesmo sem entender, às vezes, por que.

A meu esposo que foi paciente, conselheiro e amigo inseparável, abrindo mão de projetos pessoais para viver meu sonho. Foi, além de tudo, meu coorientador.

A meus filhos, Paula, Pedro, Gabriela e Daniel, cada um do seu jeito, presentes nas entrelinhas deste trabalho... Que este trabalho represente para vocês estímulo para vencer desafios, em qualquer época da vida...

A você, Manu, minha neta, que mesmo sem entender o porquê, colaborou com a conclusão deste “longo dever de casa” de um jeito que só nós duas vamos saber qual foi!

AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora, Professora Doutora "Chichina", que com sabedoria e confiança, me conduziu nesta jornada. Foi como uma mãe que deixa o filho seguir seus passos sem perdê-lo de vista. Percebi, no entanto, que este não foi um privilégio só meu.

Aos Professores do Instituto da Criança, Universidade de São Paulo, que participaram deste Projeto de Doutorado Interinstitucional, nossa eterna gratidão pela oportunidade que tivemos de vivenciar a experiência, competência e organização do Departamento, mesclados ao carinho e paciência no nosso acolhimento. Espero que Cuiabá tenha sido mais que uma calorosa cidade para vocês.

Ao Professor Paulo Roberto Bezerra de Mello que não se acomodou no egoísmo de seu sucesso individual. Empenhou-se na multiplicação do conhecimento na Universidade Federal de Mato Grosso. Fez dos nossos sonhos seu sonho e transformou-os em realidade.

A todos os colegas e amigos do Departamento de Pediatria, da Faculdade de Medicina da UFMT e todos os colegas da UTI-Neonatal do Hospital Universitário Júlio Müller porque sei que sem o apoio de cada um de vocês o Projeto do DINTER não teria saído da intenção.

A Profa. Dra. Tamara Lister June, amiga que me incentivou durante toda a jornada, com sua cobrança carinhosa. Ajudou-me muito com o seus conhecimentos de genética, de inglês e de vida.

Ao Prof. Dr. Marcial Francis Galera, geneticista e Chefe do Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado de Mato Grosso, que me apoiou em cada etapa do trabalho, com seus ensinamentos e apoio logístico.

À Profa. Dra. Bianca Borsatto Galera, que me auxiliou na elaboração do projeto e planejamento dos exames de Biologia Molecular.

Ao Prof. Dr. Cor Jesus que me auxiliou na estatística com suas orientações. Recusou-se a me dar peixes, mas ensinou-me a pescar.

A toda a família do Serviço de Referência em Triagem Neonatal, a família "do Pezinho", sem vocês nada teria sido possível. Vocês estão no início, meio e fim deste trabalho, na realização dos testes, na busca ativa incessante, nas coletas, no controle de dados e estatística.

À Mônica Souza, Secretária da Comissão de Pós-Graduação do Instituto da Criança, que com competência, responsabilidade e carinho conduziu-nos durante o DINTER.

Aos Doutores Armando Fonseca e Dayse Oliveira Alencar pela recepção carinhosa do DLE do Rio de Janeiro, e auxílio na etapa dos exames de Biologia Molecular.

A todos amigos e colegas do DINTER, em especial às Doutoradas Natasha Shessarenko, Stela Maris Silvestrin e Maria Angélica de Macedo Orione, pela democratização das informações, mas principalmente pelo incentivo e otimismo.

A todos que me deram o apoio imprescindível para mergulhar nas páginas deste trabalho nesta etapa final: meus familiares, colegas e amigos do Conselho Regional de Medicina do Estado de Mato Grosso, em especial ao Dr. Gabriel Felsky dos Anjos, presidente, e Dra Hildenete Monteiro Fortes, corregedora, e a toda diretoria do Hospital Universitário Júlio Müller, meu muito obrigada!!!

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	A triagem neonatal.....	2
1.2	A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase	4
1.2.1	Genética, estrutura e bioquímica da G6PD	7
1.2.2	Epidemiologia da Deficiência de G6PD	13
1.2.3	Manifestações clínicas da deficiência de G6PD	13
1.2.4	Deficiência de G6PD e a Encefalopatia Bilirrubínica.....	20
1.2.5	Determinação laboratorial da deficiência de G6PD	23
1.2.6	Deficiência de G6PD em áreas endêmicas para Malária e Hanseníase	27
1.2.7	Deficiência de G6PD no Brasil	30
2	JUSTIFICATIVA	34
3	OBJETIVOS	38
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	40
4.1	Tipo e local do estudo	41
4.2	Desenvolvimento do trabalho.....	41
4.3	Avaliação laboratorial.....	42
4.4	Análise de dados	44
5	RESULTADOS.....	45
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÕES	70
8	REFERÊNCIAS.....	72

Anexos

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação dos cinco grupos de variantes da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) de acordo com atividade enzimática e com critérios estabelecidos pela OMS ³⁴	10
Tabela 2 – Heterogeneidade e expressão clínica da deficiência de Glicose-6-fosfato desidrogenase ¹³	10
Tabela 3 – Área territorial, população e distribuição da população segundo raça/cor autodeclarada dos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis - MT	36
Tabela 4 – Dados da triagem neonatal - 2010 nos Municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis e do estado de Mato Grosso	36
Tabela 5 – Amostras recebidas no período de 20/04/2012 a 27/07/2012, dos Municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis - MT.....	46
Tabela 6 – Análise da distribuição de variáveis nas crianças triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD (n=188), separadas em dois grupos - deficiência de G6PD confirmada (n=63) e não confirmada (n=125). .	48
Tabela 7 – Análise de prevalências da deficiência de G6PD geral e de acordo com sexo da criança	49
Tabela 8 – Distribuição das crianças inicialmente triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD, de acordo resultados obtidos no exame confirmatório, nos três municípios Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis. Confirmação de deficiência de G6PD - segunda avaliação da atividade de G6PD $\leq 2,6$ U/g Hb.	49
Tabela 9 – Tempo de retenção das amostras - tempo decorrido entre a coleta do Teste do Pezinho e a chegada da amostra ao laboratório de referência em Cuiabá, nos três municípios Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis.....	50

Tabela 10 – Crianças com exames de triagem para deficiência de G6PD alterados, separadas de acordo com o exame confirmatório em dois grupos: deficiência confirmada e não confirmada. Idade na coleta do Teste do Pezinho e Tempo entre chegada da amostra e realização da avaliação da atividade de G6PD no laboratório de referência em Cuiabá..... 51

Tabela 11 – Crianças com exames de triagem para deficiência de G6PD alterados, separadas de acordo com o exame confirmatório em dois grupos: deficiência confirmada e não confirmada. Distribuição de dados neonatais. ... 52

Tabela 12 – Idade na alta da maternidade, em função da maternidade de nascimento..... 53

Tabela 13 – Dados de história clínica das crianças triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD, confirmada e não confirmada na etapa de exames confirmatórios. 53

Tabela 14 – Análise de parâmetros do hemograma das crianças que confirmaram e das que não confirmaram deficiência de G6PD - valores de referência para a idade ¹⁰⁵..... 54

Tabela 15 – Distribuição das crianças com deficiência de G6PD de acordo com a pesquisa da mutação G202A, município de procedência, sexo, variáveis de hemograma, icterícia neonatal e fototerapia. 56

Tabela 16 – Estudos sobre deficiência de G6PD no Brasil com prevalências encontradas..... 61

Lista de Figuras

Figura 1 – Via metabólica simplificada desde a fosforilação da glicose para glicose-6-fosfato e geração de ATP pela via glicolítica e a geração de NADPH no processo formação de glutatona na forma reduzida pela via das pentoses¹³. 6

Figura 2 – Teste de Brewuer - O azul de metileno participa da redução da meta-hemoglobina (HbFe^{3+}) para oxi-hemoglobina, através da redutase-NADPH-dependente. Fornecimento de NADPH dependente da glicose-6-fosfato desidrogenase⁸³. 24

Figura 3 – Teste de Brewer - amostra positiva para deficiência de G6PD:- tubo a esquerda - controle negativo; tubo a direita - controle positivo tubo central – amostra testada (arquivo pessoal). 25

Figura 4 - Teste da mancha fluorescente - amostras processadas colocadas em papel filtro para leitura sob luz ultravioleta: da esquerda para a direita - amostra com deficiência intermediária com fluorescência presente, mas diminuída; amostra com deficiência severa - ausência de fluorescência e amostra normal - fluorescente⁸⁰. 26

Figura 5 – Taxa média de detecção de hanseníase por Municípios. Brasil, 2000 a 2002¹⁰³. 32

Figura 6 – Mapa de Mato Grosso com destaque para os três municípios mais populosos: Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis (mapas obtidos em pesquisa por imagem em: www.portaPOWER.com.br e www.guianet.com.br). . 35

Figura 7 – Fluxograma da triagem e confirmação de Deficiência de G6PD nos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis. G6PD1 - exame feito na etapa de triagem: normal se atividade enzimática $> 2,6$ U/g Hb e alterado se $\leq 2,6$ U/g Hb. Crianças com exame alterado na fase de triagem foram convocadas para coleta do exame confirmatório (G6PD2). 47

RESUMO

Ferreira MFC. Triagem neonatal de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase e prevalência das mutações G202A (G6PD A-) e C563T (G6PD Mediterrâneo) em Mato Grosso / Brasil [tese]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2014.

Objetivos: A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) está associada a um maior risco de encefalopatia bilirrubínica e de crise hemolítica aguda grave desencadeada por drogas como a primaquina e a dapsona. Conhecer a prevalência dessa deficiência enzimática em área onde a malária e a hanseníase ainda estão presentes e conhecer a prevalência das principais mutações traz subsídios para planejamento de estratégias com vistas à redução de riscos associados a esta deficiência enzimática. **Métodos:** Estudo descritivo transversal conduzido em uma região do centro-oeste do Brasil. Exame de triagem para deficiência de G6PD foi realizado em 3573 recém-nascidos. Exame confirmatório foi necessário em 188 crianças triadas como possíveis portadores de deficiência. Nas crianças em que foi confirmada a deficiência de G6PD foi feita pesquisa das mutações G202A (G6PD A-) e C563T (G6PD Mediterrâneo) por PCR. **Resultados:** A deficiência de G6PD foi confirmada em 63 crianças, sendo 60 meninos (95,2%) e três meninas (4,8%). O percentual de exames falso-positivos na fase de triagem foi de 66,5%, estando o percentual de falso-positivos associado à temperatura e tempo de transporte das amostras. Entre as crianças que confirmaram deficiência de G6PD, foi mais frequente a história de anemia em familiares e de icterícia neonatal. Houve associação entre hematócrito baixo e deficiência enzimática, mas não com hemoglobina, contagem de reticulócitos ou neutrófilos. A prevalência da deficiência de G6PD (IC95%) foi de 1,76% (1,37; 2,24) entre os recém-nascidos triados e de 3,34% entre os meninos (2,58; 4,25). A mutação C563T não foi identificada em nenhuma criança, mas a mutação G202A estava presente em 58 crianças - 92,06% (IC95%: 83,29 - 97,03): 56/60 meninos e em 2/3 meninas homozigotas. Foi identificado um menino com Kernicterus portador da mutação G202A em hemizigose. **Conclusão:** O elevado percentual de falso-positivos na etapa de triagem, o tempo necessário entre coleta e

confirmação da presença de deficiência enzimática, associado ao alto custo da triagem universal, não apoiam a inclusão da triagem de deficiência de G6PD no programa de triagem neonatal brasileiro. Na região avaliada, a prevalência observada em meninos indica que a triagem de deficiência de G6PD deva ser realizada antes do uso de drogas como a primaquina e a dapsona somente em meninos. Foi elevada a prevalência da mutação G202A, de classe III, sendo esta mutação associada a uma menor morbidade. A identificação de um menino com Kernicterus com deficiência de G6PD indica que há necessidade de se planejar estratégias para minimizar o risco dessa morbidade associada à deficiência enzimática.

Descritores: 1. Deficiência de Glicose-6-fosfato desidrogenase 2. Mutações gênicas 3. Anemia hemolítica 4. Malária 5. Triagem Neonatal 6. Icterícia Neonatal 7. Kernicterus 8. Recém-nascido

SUMMARY

Ferreira MFC. Neonatal Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and Prevalence of G202A (G6PD A-) and C563T (G6PD Mediterranean) mutations in Mato Grosso / Brazil [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2014.

Objective: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is associated with an increased risk of bilirubin encephalopathy in neonates and acute hemolytic crisis triggered by drugs such as primaquine and dapsone. In an area where malaria and Hansen's disease are still present, knowing the prevalence of this enzyme defect and determining the prevalence of major mutations is important for planning strategies for reducing the risks associated with this enzyme deficiency. **Methods:** Sectional study was conducted in a Midwestern region of Brazil. Screening for G6PD deficiency was performed in 3,573 neonates. Confirmatory tests were necessary for 188 positively screened children. After confirmation, PCR investigation was utilized to identify the mutations. **Results:** G6PD deficiency was confirmed in 63 children: 60 boys (95.2%) and 3 girls (4.8%). The percentage of false-positive cases in the screening phase, 66.5% and was associated with the temperature and transportation time of the samples. Family history of anemia and jaundice was more frequent among the children with confirmed G6PD deficiency. An association between a low hematocrit and enzyme deficiency was observed. However, there was no association with hemoglobin reticulocyte or neutrophils counts. The prevalence of G6PD deficiency (CI95%) was 1.76% (1.37; 2.24) among all screened neonates and 3.34% (2.58; 4.25) among male children. The C563T mutation was not identified in any child. The G202A mutation was present in 58 children - 92.06% (CI95%: 83.29 - 97.03), 56/60 boys and 2/3 homozygous girls. One boy with a hemizygous G202A mutation was identified as having Kernicterus. **Conclusion:** The high percentage of false-positive results when first screening for G6PD deficiency; the long delay time between the test and result; along with the high cost of the this screening test, are all factors that do not support adding this test to the already established Brazilian neonatal screening programs. The prevalence observed among boys does

indicate that screening for G6PD deficiency should be performed in this region before the use of drugs such as primaquine and dapsone only in boys. This study found a high prevalence of the G202A mutation, a Class III variant associated with lower morbidity. The identification of a G6PD deficient boy with Kernicterus reinforces the necessity for strategies to abolish the morbidity associated with this enzyme deficiency.

Descriptors: 1.Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency 2.Gene mutations 3.Hemolytic anemia 4.Malaria 5.Neonatal Screening 6.Neonatal Jaundice 7.Kernicterus 8. Newborn

1 INTRODUÇÃO

1.1 A TRIAGEM NEONATAL

Na área da saúde a triagem é, na prática, uma investigação transversal de curta duração feita pela aplicação de testes ou exames relativamente rápidos numa base populacional, procurando identificar um subgrupo com maior probabilidade de ter a condição que está sendo triada. Tem como objetivo otimizar recursos para investigação e permitir início precoce de tratamento e/ou intervenção, minimizando danos ¹.

Trata-se assim de uma estratégia de prevenção secundária que tende a crescer ao longo dos anos, acompanhando o avanço do conhecimento e da tecnologia que permite exames cada vez mais rápidos, sensíveis, seguros e de coleta simplificada ¹.

Em 1963 foi apresentada pelo Dr. Robert Guthrie a proposta pioneira de triagem neonatal da fenilcetonúria. Já se sabia nessa época que na fenilcetonúria a prevenção de sequelas só seria possível se a restrição de fenilalanina da dieta fosse iniciada antes do surgimento de sinais e sintomas. Foi então desenvolvido um método laboratorial que permitia a pesquisa da doença em gotas de sangue colhidas em papel filtro, possibilitando o envio de amostras para laboratórios de referência ². Posteriormente, várias outras doenças foram sendo incorporadas na "triagem neonatal" e diferentes "painéis de triagem" foram sendo construídos. Cada "painel" englobando triagem de diferentes doenças.

A escolha de doenças incorporadas nesses "painéis" tem implicações econômicas, clínicas e éticas, diferindo de país para país, e de região para região em um mesmo país. Triagem universal de doença para a qual não há ainda tratamento estabelecido, ou que o tratamento precoce não altera a evolução da doença, implica, na maior parte das vezes, em elevação do custo financeiro da triagem, sem trazer benefícios clínicos, gerando discussão ética do valor de se antecipar o sofrimento da família com o diagnóstico de uma doença para a qual não se dispõe de alternativa terapêutica.

A Organização Mundial da Saúde recomenda que a seleção de doenças a serem triadas numa determinada região siga determinados princípios: conhecimento da incidência populacional dessa doença, sua importância como problema de saúde pública, morbidade ou mortalidade significativa com disponibilidade de tratamento aceitável que altere o prognóstico quando a intervenção é iniciada em fase precoce, ainda assintomática ou pouco sintomática (benefício provado da prevenção secundária); possibilidade de ser triada por testes simples, éticos e seguros e de ter exames confirmatórios disponíveis ¹.

No Brasil foi a partir da criação do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) em 06/06/2001, pelo Ministério da Saúde ³, que estes princípios foram adotados e seguidos, organizando as diversas etapas do programa: triagem, confirmação diagnóstica, garantia de tratamento e seguimento multidisciplinar ⁴.

A implantação do PNTN se deu por fases, com triagem de hipotireoidismo congênito e fenilcetonúria na fase I, associando-se a triagem da doença falciforme e outras hemoglobinopatias na fase II, da fibrose cística na fase III e, a partir de 14 de dezembro de 2012, com a Portaria GM/MS nº 2829, que instituiu a fase IV, da triagem de hiperplasia adrenal congênita e deficiência de biotinidase ⁵. Este planejamento permitiu estruturação gradativa da rede de postos de coleta e serviços de referência em triagem neonatal estaduais. Atualmente, todos os estados estão engajados no PNTN. No momento, o foco de ação do Ministério da Saúde é, dentro dos princípios de integralidade, universalidade e equidade do SUS, disponibilizar o mesmo painel de triagem neonatal, dentro da triagem neonatal por amostra biológica, para todos os estados brasileiros, estendendo o direito à confirmação diagnóstica, seguimento e tratamento das mesmas doenças em todo o Brasil. Nesse sentido vem trabalhando para que todos atinjam a fase IV do programa, quando as fases serão extintas e haverá um único "painel de triagem" ⁶.

Desta forma, têm-se de um lado cada vez mais recursos técnicos para ampliar o painel de triagem e de outro as questões éticas que envolvem essa ampliação. Como Fay et al., (2009) destacaram ao analisar a proposta de triagem universal de bilirrubinas na alta da maternidade nos EUA, a disseminação de uma determinada triagem sem prova de sua eficácia, além do desperdício de recursos

financeiros, pode submeter muitos recém-nascidos a exames desnecessários, levar à "medicalização" de crianças normais, desencadear efeitos adversos nos pais, como ansiedade e percepção negativa em relação ao atendimento global da criança e distorções em relação à percepção da condição de saúde do próprio filho⁷.

Mesmo nos EUA onde a Academia Americana de Pediatria (AAP, 2004) recomenda triagem universal de bilirrubina total antes da alta da maternidade, com o objetivo de prevenir quadros de encefalopatia bilirrubínica^{8,9}, não está claro se identificar recém-nascidos portadores de deficiência de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) contribuiria para a eliminação da ocorrência de kernicterus¹⁰.

É nesse contexto que vem sendo discutida a triagem neonatal da deficiência de G6PD. Deve ser feita? Em que momento? Com que metodologia? Com que ponto de corte? Há benefícios em se realizar a triagem neonatal universal de deficiência de G6PD? Se sim, quais os benefícios esperados?

1.2 A DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

A deficiência de G6PD é o erro inato do metabolismo mais frequente.

Pitágoras, um filósofo e matemático grego, já proibia seus seguidores de comerem feijões de fava, provavelmente por conta de seus efeitos patológicos. No início do século 20, vários pesquisadores da Itália meridional e da Sardenha descreveram um quadro clínico que denominaram de "favismo". Cursava com sintomas iniciais de vômitos, diarreia que evoluía com urina escura, atribuída à hemoglobinúria, palidez e por vezes choque hipovolêmico, após a ingestão de fava. Naquela época, como se observava que a resposta à ingestão de feijões de fava era inconsistente, atribuíram o quadro a reações alérgicas ou a produtos tóxicos¹¹. Em 1956, Carson e seus colaboradores descreveram a associação entre anemia hemolítica aguda em alguns indivíduos expostos ao tratamento para malária e a deficiência de G6PD¹².

A G6PD é uma enzima citoplasmática (EC 1.1.1.49) encontrada em todas as células do corpo¹³.

É clássica na literatura a associação da G6PD com o metabolismo da glicose, por ser esta uma enzima envolvida na primeira etapa na via da hexose monofosfato - a via das pentoses, participando da reação na qual a glicose-6-fosfato é metabolizada para 6-fosfogluconato, resultando na produção de D-ribose-5-fosfato, um pentassacarídeo essencial na síntese de nucleotídeos^{11,14,15}. Mas este é um papel secundário da G6PD. Sua principal função é a participação na defesa antioxidante: participa da reação de redução de NADP (Nicotinamida adenina dinucleotídeo-fosfato, forma oxidada) para NADPH (forma reduzida) que age, por si só, como um doador de íons hidrogênios, e da conversão da glutatona oxidada na sua forma reduzida, outro componente importante na defesa antioxidante (Figura 1)^{11,13,14}.

Assim o papel central da G6PD é a geração de NADPH e, indiretamente, de glutatona reduzida. Na deficiência dessa enzima os danos observados refletem a fragilidade celular ao estresse oxidativo, com dano aos lipídios da membrana dos eritrócitos, particularmente susceptíveis por serem ricos em grupos sulfidril (SH), formando produtos dissulfetos que levam à desnaturação de proteínas dessa membrana e dano à hemoglobina. A hemoglobina desnaturada se precipita no interior da hemácia formando os corpúsculos de Heinz com consequente hemólise^{11,14,16}.

A figura 1 demonstra de forma simplificada que depois da fosforilação da glicose para glicose-6-fosfato, dois caminhos podem ser seguidos: o da glicólise, com produção de ATP, ou o da via das pentoses com geração de NADPH, que, por sua vez participará da redução da glutatona oxidada - GSSG, para sua forma reduzida - GSH, e proteção contra agentes oxidantes. Em condições normais, provavelmente menos que 1% da G6P entra na via das pentoses. Em condições de estresse oxidativo, esse percentual pode chegar a 10%¹³.

Figura 1 – Via metabólica simplificada desde a fosforilação da glicose para glicose-6-fosfato e geração de ATP pela via glicolítica e a geração de NADPH no processo formação de glutathione na forma reduzida pela via das pentoses ¹³.

Apesar da clássica associação da atividade de G6PD ao metabolismo da hemácia, diversos autores têm estudado alterações associadas à baixa atividade enzimática em outras células. Alguns autores têm demonstrado dano renal associado à redução de sua atividade enzimática ¹⁷. Zhang e colaboradores demonstraram em ratos que a deficiência de G6PD secundária à hiperglicemia causava destruição progressiva das células β do pâncreas e levantaram a hipótese de que este poderia ser o mecanismo que explicaria a perda gradual dessas células em pacientes com diabetes ¹⁸.

No entanto, são as hemácias maduras, sem núcleo, mitocôndrias e ribossomos, incapazes de sintetizar proteína, as mais susceptíveis ao dano associado à deficiência de G6PD, não só por ser a via das pentoses a única via metabólica de que dispõem para produção de NADPH, mas também porque, pelo fato de serem transportadoras de oxigênio e ferro, estão mais expostas, mais vulneráveis ao dano oxidativo. De fato a auto-oxidação da oxi-hemoglobina (ferro do heme em estado ferroso - Fe^{2+}) para meta-hemoglobina (MetHb, estado férrico - Fe^{3+}) causa produção limitada, mas contínua de superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e peróxido

de hidrogênio (H_2O_2), mesmo em condições basais. As hemácias atuam ainda como removedoras circulantes de radicais livres produzidos nos tecidos ¹⁹.

A deficiência de G6PD é assim o exemplo de anemia hemolítica por interação entre causa intrínseca - intracorpúscular, e meio ambiente - extracorpúscular, porque a maioria dos casos de hemólise é desencadeada por agentes exógenos ¹⁴.

Stanton em um trabalho de revisão em 2012 destaca ainda que a G6PD é o elo entre muitas vias metabólicas essenciais e que participa de muitos processos fisiológicos. Reforça que o nosso entendimento sobre seu papel é ainda incipiente, sendo este conhecimento crítico para o entendimento de muitos processos intracelulares e mecanismo de doenças ²⁰.

1.2.1 Genética, estrutura e bioquímica da G6PD

A G6PD é uma enzima bastante antiga na cadeia evolutiva, presente também em plantas, leveduras, protozoários e procariontes ²¹. É tida como um exemplo de uma enzima "housekeeping" codificada por um gene "housekeeping", ou seja, gene constitutivo, aquele que é expresso sempre em todas as células, sob qualquer condição. Este grupo de genes codifica proteínas que são essenciais para a manutenção da vida ¹³.

De fato, o gene responsável pela síntese da G6PD é expresso em todas as células do corpo, e, embora seja uma enzima tipicamente citoplasmática, é descrita alguma atividade associada com peroxissomos no fígado e no rim ²². Os peroxissomos são organelas citoplasmáticas, envolvidas por uma membrana vesicular, responsáveis pelo armazenamento de enzimas, principalmente catalases, diretamente relacionadas com a oxidação e metabolismo do peróxido de hidrogênio. Estas organelas são vistas como participantes da defesa antioxidante. A associação da G6PD a essas organelas é consistente com a visão atual de que a principal função desta enzima é a de defesa antioxidante ¹³.

A enzima é constituída por um dímero ou um tetrâmero de uma única subunidade polipeptídica, um monômero, com 514 a 515 aminoácidos. Enquanto o dímero e o tetrâmero são enzimaticamente ativos, o monômero não é. A forma

ativa é assim um homodímero, formado pela junção de dois monômeros idênticos, ou um tetrâmero, pela junção de dois dímeros^{11,23,24}. O dímero é a forma predominante em humanos²⁵.

A forma ativa da G6PD participa da primeira etapa da via da pentose fosfato, oxidando a glicose-6-fosfato para 6-fosfoglucolactona, com concomitante redução do NADP para NADPH. O NADPH é importante na manutenção da glutathiona reduzida (GSH) que possui papel central na proteção da integridade dos grupos sulfidril da hemoglobina e da membrana das hemácias, mantendo a relação glutathiona reduzida/oxidada de 100:1. Em vigência de aumento de radicais livres e peróxido de hidrogênio há maior consumo da glutathiona reduzida. Para restauração da forma reduzida há necessidade do aumento do fornecimento de NADPH. Na maioria das células outras reações podem fornecer a quantidade de NADPH necessária, mas na hemácia não. Nestas o suprimento é dependente a atuação da G6PD na via das pentoses. A G6PD é a única enzima envolvida na produção de NADPH que pode ser ativada em resposta ao estresse oxidativo (Figura 1)^{13,23,26}.

Na unidade monomérica da G6PD existem dois domínios - um menor - domínio de coenzima - que compreende os aminoácidos de 1 a 198 e outro maior, domínio $\beta + \alpha$ -, constituído pelos aminoácidos de 199 a 514. Existe uma região de 57 resíduos de aminoácidos na interface monômero-monômero onde apenas algumas mutações foram identificadas, sendo que a maior parte destas mutações é associada a quadros graves de deficiência de G6PD, com anemia hemolítica não esferocítica crônica (CNSHA) ou anemia hemolítica aguda (AHA) grave²³.

A especificidade de seu domínio coenzima é inusitada - a G6PD humana quase não tem afinidade pelo NAD (Nicotinamida adenina dinucleotídeo), mas sua afinidade pelo NADP é tão grande que chega a ser maior que sua afinidade pela própria Glicose 6-fosfato²¹.

O gene que codifica a enzima G6PD - *Gd*, foi mapeado na região telomérica do braço longo do cromossomo X, a região Xq28 e foi uma das primeiras regiões do genoma humano completamente sequenciado²⁷. Historicamente, o *Gd* tem sido utilizado como uma espécie de "marcador" para o estudo da inativação de um dos cromossomos X²⁸.

O gene da G6PD possui 13 exons e 12 introns. A região promotora é rica em guanina e citosina, o que é típico de um gene "housekeeping". Homens afetados são hemizigotos e manifestam a deficiência enzimática associada à mutação apresentada. Mulheres, por possuírem dois genes para a enzima, podem ser heterozigotas ou homozigotas, dependendo se a mutação está presente em apenas um dos cromossomos X ou nos dois. Além disto, como resultado da inativação de um dos cromossomos X, as mulheres heterozigotas exibem verdadeiro mosaicismo das células somáticas, podendo ter comportamento clínico que vai desde expressão fenotípica semelhante a de homens afetados hemizigotos, se for elevado o percentual de células em que o cromossomo X ativo é o portador da mutação, até expressão fenotípica normal em relação à atividade enzimática se o cromossomo X ativo for predominantemente o não portador da mutação. Assim embora a deficiência de G6PD seja classificada como doença ligada ao X recessiva, pode se manifestar em heterozigotos ^{13,14,20,24}.

Em 1967, um grupo de pesquisadores da Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou padronização dos métodos de análise para caracterização das diversas variantes da enzima: atividade enzimática nos eritrócitos, mobilidade eletroforética, constante de Michaelis (Km) para seu substrato (glicose-6-fosfato), uso de substratos análogos e estabilidade térmica ²⁹.

Desde a descoberta desta enzima e da localização do gene na década de 50 ³⁰ mais de 100 mutações, correspondendo a mais de 400 variantes bioquímicas têm sido identificadas ^{31,32,33}.

Em 1989 as variantes foram agrupadas em cinco classes de acordo com critérios estabelecidos pela OMS, levando em consideração a atividade enzimática residual e manifestações clínicas da deficiência (Tabela 1) ^{34,35}.

Tabela 1 – Classificação dos cinco grupos de variantes da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) de acordo com atividade enzimática e com critérios estabelecidos pela OMS ³⁴.

Classe	Gravidade da deficiência enzimática	Atividade enzimática
I	Severa	< 1%; quadro de anemia hemolítica não esferocítica crônica.
II	Severa	< 10%; com quadros de hemólise intermitente
III	Moderada	10 a 60%; hemólise somente com estresse oxidativo
IV	Muito leve ou nenhuma	60 - 150% de atividade - sem alterações clínicas
V	Nenhuma	Atividade enzimática aumentada - sem alterações clínicas

Hoje se questiona a existência de variantes de classe V, que estariam associadas a um aumento da atividade enzimática. Só foi descrita apenas uma variante desta classe - a G6PD Hektoen ³⁶.

Como as variantes de classe I, são de ocorrência esporádica, são as de classe II e III as de maior importância clínica e epidemiológica, tanto que Luzzato e Poggi (2009) apresentam as variantes correlacionando-as com as manifestações clínicas, agrupando as de classe II e III, por defender que essa separação é tênue e inútil (Tabela 2).

Tabela 2 – Heterogeneidade e expressão clínica da deficiência de Glicose-6-fosfato desidrogenase ¹³.

Classe	Manifestação clínica	Atividade da G6PG	Alelos mutantes conhecidos (n)*	Exemplos	Comentários
IV	Nenhuma	> 85%	2	A, B	G6PD B é a "normal"
II + III	Assintomáticos em condições basais, mas risco de INN, AHA, Favismo,	< 30%	75	Mediterrâneo, A-, Orissa, Canton, Mahidol, Vanua Lava, Seattle	Maioria das variantes são polimórficas
I	INN severa, CNSHA com exacerbações agudas	< 10% na maioria dos casos	61	Sunderland, Nara, Guadalajara	Nunca polimórfica, mas algumas podem recorrer

* Considerados apenas aqueles cuja mutação é conhecida e a expressão clínica claramente relatada.

A G6PD B é considerada a enzima normal, a forma "selvagem". As variantes, em geral, resultam de mutação de ponto (substituição de um único nucleotídeo) no gene que codifica a G6PD. Como resultado, ocorre a substituição de um aminoácido na estrutura proteica da enzima. Exceções são variantes em que há pequenas deleções ou mutações em dois pontos ¹⁴.

Em princípio, como na deficiência de outras proteínas geneticamente determinadas, a deficiência de G6PD pode se dar por alteração quantitativa - quando só a quantidade de enzima sintetizada está reduzida, ou por alteração qualitativa - quando a mutação altera a estrutura da enzima, alterando desta forma sua eficiência catalítica ou sua estabilidade ¹³.

Entre as variantes de maior importância estão as variantes G6PD-Mediterrâneo e G6PD A- ^{11,14}.

A G6PD-Mediterrâneo é variante da classe II, encontrada em maior frequência entre italianos, espanhóis, gregos, judeus orientais, árabes e persas. A mutação mais frequente nesta variante está na base 563, com substituição da Citosina pela Timina - C563T, correspondendo à substituição da serina pela fenilalanina na posição 188 da proteína (188 Ser→Phe) ^{11,14,26,37}.

A G6PD A- é variante encontrada em 90% da população da África Tropical, também comum na América do Norte, América do Sul, Oeste da Índia e em Portugal ³⁸. Pertence à classe III da OMS. Na maior parte das vezes possui mutação em dois pontos. Em um dos pontos a mutação é a mesma presente na variante A+, amplamente distribuída na África e que não está associada à deficiência enzimática (uma variante da normal) - a mutação na base 376, com substituição da Adenina por Guanina (A376G), responsável pela troca de ácido aspártico por asparagina na posição 126 da enzima (126 Asn→Asp). A outra mutação ocorre na base 202, com substituição da guanina por adenina (G202A), levando à troca de Valina por Metionina na posição 68 (68 Val→Met) da proteína. Com menor frequência essa segunda mutação pode ser G680T ou T968C. A associação dessa segunda mutação na G6PD A é que caracteriza a variante G6PD A-, e é responsável pela instabilidade enzimática, com deficiência de sua atividade ^{11,14,23,31}.

As variantes G6PD A- e Mediterrâneo foram as mais frequentes em estudo conduzido no Brasil por Compri et al., em 2000 ³⁹. No entanto, desde a

introdução de novas técnicas para estudo de novas mutações, novas variantes têm sido descritas, como o caso das variantes Lages, São Borja, Farroupilha, Anaheim, Campinas e Sumaré ⁴⁰.

Nas variantes G6PD A- a estabilidade da enzima nos eritrócitos é muito menor que nos leucócitos. Quando a enzima A- é desnaturada *in vitro* pelo calor e é permitida "renaturação" seu repregueamento é lento e incompleto quando comparada com enzimas de atividade normal (G6PD A). Isto leva a crer que o defeito na G6PD A- está no repregueamento, o que seria responsável pela redução da estabilidade da enzima ⁴¹.

Embora já tenham sido descritas centenas de mutações, todas elas estão associadas com alguma atividade residual da enzima, porque atividade enzimática nula é incompatível com a vida. Em geral, mutações associadas a alterações na região da interface entre dois monômeros de um dímero ou as associadas ao sítio de ligação do NADP são mutações de classe I - com fenótipos severos, com quadros de Anemia hemolítica não esferocítica crônica (AHNEC), mesmo sem exposição a um estresse oxidativo, com manifestações da deficiência enzimática também em granulócitos, apresentando maior susceptibilidade a infecções bacterianas ^{14,42,43}. Duas mutações conhecidas de classe I, G6PD Volendam (Pro172Ser) e G6PD Amsterdam (Leu61deleção), além do quadro de AHNEC, estão associadas a alterações da atividade enzimática em granulócitos com disfunção semelhante à observada na doença granulomatosa crônica ²³.

Já as mutações das variantes de classe II e III levam a alterações de distribuição mais aleatória ao longo da estrutura da enzima, e estes defeitos estruturais podem ser sutis, geralmente associados somente a um declínio mais rápido da atividade enzimática ao longo da vida do eritrócito. Mas os alelos dessas classes são os de maior importância clínica e epidemiológica pela ampla distribuição a alta prevalência ²³.

1.2.2 Epidemiologia da Deficiência de G6PD

Hoje é estimado que entre 400 a 500 milhões de pessoas no mundo apresentem este erro inato do metabolismo, sendo a maioria assintomática ¹³.

É prevalente em todos os cinco continentes, com áreas de maior prevalência no Continente Africano, Sul da Europa, Oriente Médio, sudeste da Ásia e Oceania ^{14,44}. Cerca de 7,5% da população mundial é carreadora de um ou dois genes para deficiência de G6PD, variando de 35% no continente africano a 0,1% no Japão e algumas regiões da Europa ³⁴.

A distribuição geográfica da deficiência de G6PD acompanha, caprichosamente, a distribuição da malária, o que fortalece a teoria de que a deficiência de G6PD confere alguma proteção contra a malária ⁴⁵. A não exposição de ameríndios à malária nos últimos três séculos tem sido apontada como possível explicação para o fato dessa deficiência enzimática nunca ter sido relatada nessa população ¹³.

1.2.3 Manifestações clínicas da deficiência de G6PD

A apresentação clínica vai ser variável em função da gravidade da deficiência enzimática e da influência de fatores ambientais na relação genótipo/fenótipo. Felizmente, a grande maioria das pessoas portadoras de mutações para a G6PD permanecerá assintomática ao longo da vida. A maior parte das pessoas sintomáticas apresenta quadro de anemia aguda secundária à hemólise induzida por drogas, infecções, ingestão de grãos de fava, ou outro estresse oxidativo, como infarto agudo de miocárdio, diabetes ou exercício físico extenuante. Poucas pessoas podem apresentar quadro grave de anemia hemolítica crônica não esferocítica, com hemólise permanente, que pode ainda ser agravada durante estresse oxidativo ¹¹.

A criança quando acometida por essa deficiência enzimática pode ser assintomática, ou apresentar quadro de anemia hemolítica aguda não imune, de anemia hemolítica crônica, mesmo sem fator desencadeante identificado, de hiperbilirrubinemia exacerbada ou prolongada no período neonatal, ou de crises

de icterícia. Mas a grande morbidade da deficiência de G6PD se dá no período neonatal pela possibilidade de aumentar o risco de lesão neurológica permanente associada à hiperbilirrubinemia - o *Kernicterus* ⁴⁶.

- **ANEMIA HEMOLÍTICA NÃO ESFEROCÍTICA CRÔNICA (AHNEC)**

Também denominada de anemia hemolítica congênita, ou anemia hemolítica hereditária não esferocítica crônica. Presente em algumas pessoas portadoras de deficiência de G6PD que apresentam quadros de anemia hemolítica crônica, semelhante ao observado na esferocitose congênita, mas sem esferocitose. No estado basal, não há associação com um fator desencadeador da hemólise, mas pode evoluir com episódios de acentuação do processo hemolítico, em função da exposição a drogas, infecções ou situações de estresse oxidativo ¹¹. Este quadro está associado a mutações de Classe I, de ocorrência esporádica e frequentemente envolvendo novas mutações. Ocorre quase que exclusivamente no sexo masculino. No caso de mulheres acometidas, o quadro costuma ser mais brando ³³. Em alguns casos, a deficiência enzimática também está presente em granulócitos associada com maior susceptibilidade a infecções ⁴³. Nos indivíduos portadores de variantes associada a este quadro a atividade enzimática residual não consegue manter níveis de NADPH, mesmo em situação basal ⁴⁷. Muitas vezes, a gravidade do quadro clínico não se correlaciona com a medida laboratorial da atividade enzimática ³¹.

A maior parte dos indivíduos acometidos tem diagnóstico estabelecido na infância em função da riqueza clínica do quadro. Tem história de transfusões de concentrado de hemácias, hiperbilirrubinemia crônica, elevação de haptoglobina, de desidrogenase láctica, anemia, normalmente normocrômica, mas as vezes macrocítica em função do elevado percentual de eritrócitos jovens e da reticulocitose, hepatoesplenomegalia, colecistite com colelitíase ^{11,33}.

- **ANEMIA HEMOLÍTICA AGUDA / FAVISMO**

A criança portadora de deficiência de G6PD normalmente está clínica e hematologicamente em estado de equilíbrio a maior parte do tempo. Entretanto pode apresentar quadro dramático de hemólise associado à exposição a agentes oxidantes, como determinadas drogas, produtos químicos, alimentos, como ingestão de feijões de fava, durante o curso de infecções, ou em vigência de hiperglicemia, como no caso de pacientes diabéticos.

Foi a reação hemolítica em exposição à primaquina que levou à descoberta do papel da G6PD na fisiopatologia do dano à hemácia ^{12,48}. Depois outras drogas foram sendo implicadas no quadro de anemia hemolítica aguda – AHA. O episódio agudo de hemólise ocorre num indivíduo previamente assintomático e, pelo menos em parte, a hemólise é intravascular ^{11,13}.

A AHA que ocorre com a ingestão de grãos de fava recebe denominação específica - favismo. Utilizado com modelo de AHA em deficientes de G6PD caracteriza-se por quadro que se inicia algumas horas após a ingestão de fava - a criança fica inquieta e irritável ou deprimida e letárgica. Em 24 - 48 horas começa a apresentar febre moderada, náuseas, dor abdominal, diarreia e raramente vômitos. Em contraste com esse quadro inespecífico, seis a doze horas depois surge alteração da cor da urina, que se torna escura, de avermelhada a marrom escura, semelhante à cor de chá preto ou de vinho do porto, por conta de hemoglobinúria. Em geral há relato de dor nas costas quando surge a hemoglobinúria. Em algum momento a icterícia se torna nítida. A criança se torna pálida e taquicárdica. Em casos severos podem surgir sinais de choque hipovolêmico e, raramente, sinais de insuficiência cardíaca. Pode haver hepatoesplenomegalia ^{11,13}. A hemólise desencadeada é autolimitada, e é interrompida em seis a doze dias, seguindo-se um período refratário, durante o qual, mesmo novo contato com estresse oxidativo não desencadeará nova crise hemolítica. Isto se dá porque somente as hemácias mais velhas, que contêm menor atividade de G6PD, são destruídas, restando as hemácias mais jovens, mais resistentes ⁴⁹.

Crianças amamentadas ao seio, portadoras de deficiência de G6PD podem apresentar quadro de hemólise associada à ingestão de fava pela mãe ⁵⁰.

Estudos têm identificado que a divicina e isouramil, produzidos a partir da vicina e a convicina, dois beta-glicosídeos presentes na fava (*Vicia faba*), são compostos oxidantes responsáveis pelo desencadeamento dos episódios de "favismo". Estes compostos acabam por produzir radicais livres que oxidam a glutathione reduzida, que passa então a depender do NADPH para sua regeneração ⁴⁹. Estão em maior concentração nos grãos crus, nos menores e nos mais novos. Grãos que foram congelados, cozidos ou enlatados têm menor concentração desses beta-glicosídeos. A *Vicia sativa* (ervilhaça), uma leguminosa semelhante à ervilha, também apresenta vicina e convicina, podendo também estar relacionada a quadro de anemia hemolítica aguda em crianças com deficiência de G6PD ⁵¹.

Há drogas com clara associação com AHA como a primaquina, a dapsona, compostos como o naftaleno (naftalina) e o mentol ^{49,52}.

Algumas drogas só desencadeiam hemólise em pacientes com menor atividade residual da enzima, com mutações de classe II. Outras podem desencadear hemólise mesmo nos indivíduos com mutações de classe III. Muitas vezes é difícil correlacionar o episódio hemolítico com o uso de drogas, na vigência de um quadro infeccioso e febril, já que a infecção por si só pode desencadear a hemólise ^{53,54}.

A henna, corante cosmético usado em tinturas de cabelo e esmaltes, pode desencadear episódios de AHA. Pó preparado a partir das folhas de *Lawsonia*, possui em sua composição o lawsone (2-hidroxi-1,4-naftoquinona), com potencial oxidativo equivalente à naftalina, que também está claramente associada a AHA ^{49, 53}.

Embora existam alguns estudos na China sobre o papel de polifenóis presentes no chá preto e no chá verde, e alguns tenham demonstrado alterações de hemácias *in vitro*, estas alterações não puderam ser observadas *in vivo* e não há relatos de AHA associada aos polifenóis ⁵³.

Na abordagem da criança com deficiência de G6PD os analgésicos / antitérmicos estão entre os medicamentos que mais geram dúvidas e angústia em familiares. A dipirona (metamizole) não é utilizada nos EUA e existem poucos estudos avaliando sua segurança. Existe apenas um relato em Israel, em 1969, que descreve episódio de AHA após uso de dipirona, mas este paciente também

apresentava quadro infeccioso e febre alta, que podem desencadear reação hemolítica^{54,55}. Najafi et al. (2011) avaliaram uso de paracetamol, ibuprofeno, tramadol, em dose total cumulativa de $123 \pm 9,5$ mg/Kg, $29,4 \pm 6,4$ mg/Kg e $7,6 \pm 5,9$ mg/Kg, respectivamente, em 10 meninos e não observou nenhum efeito adverso relacionado à deficiência de G6PD⁵⁶.

Embora existam alguns relatos conflitantes, a maior parte aponta para o risco de AHA associado ao uso de azul de metileno (cloreto de Metiltionínio). É utilizado para tratamento de intoxicações exógenas que cursam com meta-hemoglobinemia. Como em pacientes com deficiência de G6PD o azul de metileno traz benefícios para o tratamento da meta-hemoglobinemia, e como há o risco de desencadear reação hemolítica, deve ser evitado^{54, 57}.

O rasburicase (Fasturtec®), droga utilizada para tratamento da hiperuricemia associada à lise tumoral, tem sido apontado como a primeira droga em que o mecanismo preciso da hemólise associada à deficiência de G6PD pode ser estabelecido já que o seu mecanismo de ação envolve a produção de peróxido de hidrogênio. É considerado contraindicado em pacientes com deficiência de G6PD, sendo recomendado teste para avaliação de deficiência enzimática antes do uso da droga⁵⁷.

Nitrofurantoína e sulfadiazina são drogas mais fortemente associadas ao risco de AHA na presença de deficiência de G6PD^{54, 57}.

Embora alguns folhetos informativos sobre drogas e G6PD incluam a vitamina K como de risco para hemólise, pesquisa realizada por Kaplan et al. (1998) com hemácias de sangue de cordão expostas à vitamina K1 em concentrações pouco maiores que as obtidas com a dose habitual, não evidenciou alterações *in vitro*⁵⁸.

Youngster et al. (2010), depois de revisão de literatura, consideram que determinadas drogas, consideradas de risco em pacientes com deficiência de G6PD, podem ser seguramente utilizadas, desde que em doses terapêuticas: paracetamol, dipirona, ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, cloranfenicol, ciprofloxacino, furazolidona, cloroquina, isoniazida, norfloxacin, ácido nalidíxico, cotrimoxazol, glibenclamida, dinitrato de isosorbide, quinino, aminofenazona, ácido dimercaptossuccínico, isordil (dinitrato de isossorbida)⁵⁴. Assim estas drogas podem ser utilizadas, devendo seu uso ser monitorado (Anexo A).

Estresse oxidativo imposto por infecções mais graves, com liberação de peróxidos durante a fagocitose de bactérias pelos granulócitos, ou até aquele causado por trauma em acidentes também desencadeiam crise hemolítica em portadores da deficiência enzimática ¹³.

Laboratorialmente observa-se anemia, de moderada a grave, normocrômica e normocítica; na hematoscopia pode haver poiquilocitose, com observação de corpúsculos de Heinz em algumas hemácias, fruto da precipitação de hemoglobina desnaturada em seu interior, sendo a característica mais típica o encontro de hemácias com aspecto de "mordidas" ("bite cells") ⁵⁹.

Na maioria dos casos o quadro hemolítico, mesmo quando severo, é autolimitado e a resolução ocorre mesmo que espontaneamente. O nível de hemoglobina se normaliza em três a seis semanas. A ureia pode ser inicialmente elevada, em decorrência de falência renal secundária à hemoglobinúria, que por sua vez indica que, pelo menos em parte, a hemólise é intravascular. Provavelmente as hemácias mais severamente danificadas são hemolisadas ainda no intravascular, enquanto que as menos danificadas são retiradas da circulação pelo sistema reticuloendotelial ⁶⁰.

Na maioria dos casos, mesmo nos mais severos, a crise hemolítica é autolimitada e a anemia é corrigida em três a seis semanas. A evolução com insuficiência renal é muito rara na criança, mesmo na presença de maciça hemoglobinúria ¹³.

O diagnóstico é estabelecido na investigação de hemólise não imune. O diagnóstico diferencial com malária deve ser feito em áreas endêmicas. Uma vez estabelecido o diagnóstico o tratamento consiste em tentar não utilizar drogas potencialmente causadoras de hemólise nos portadores de deficiência de G6PD (Anexo A), avaliando a necessidade de transfusão nas crianças com anemia severa.

Anupam Chhabra et al. (2013) relatam caso de um homem de 23 anos com deficiência de G6PD que evoluiu com crise hemolítica grave, sem identificação do fator desencadeante, que se beneficiou com tratamento por plasmaferese ⁶¹, sendo esta uma modalidade possível de tratamento reservada para casos graves.

- **ICTERÍCIA NEONATAL**

A deficiência de G6PD raramente é causa de icterícia neonatal precoce. Murki e Dutta (2005) não conseguiram demonstrar diferença no nível de bilirrubinas em sangue de cordão de crianças com e sem deficiência de G6PD, hipótese que havia sido defendida antes ^{62, 63}.

O pico da hiperbilirrubinemia nas crianças portadoras da deficiência enzimática é observado com dois a três dias de vida. Está associada mais à icterícia do que à anemia, e muito raramente é severa. Mas pode ser severa o bastante para levar a dano neurológico - a encefalopatia bilirrubínica ¹⁴.

A hiperbilirrubinemia neonatal pode se apresentar de forma patológica nas crianças portadoras de deficiência de G6PD, muitas vezes sem evidências claras de hemólise ou identificação de agente deflagrador de hemólise por potencial oxidação ^{64,65,66,67}.

Mas por que apenas alguns recém-nascidos portadores de deficiência de G6PD evoluem com icterícia neonatal? Por que somente em alguns o comportamento foge do padrão da icterícia fisiológica? Por que na maioria das vezes não há anemia concomitante? E por que às vezes essa hiperbilirrubinemia é grave?

A icterícia neonatal não é prerrogativa de determinadas variantes enzimáticas, e nem sempre é possível demonstrar correlação entre níveis de bilirrubina e magnitude da deficiência de G6PD ⁶⁸.

Riskin et al. (2012), triando a deficiência de G6PD no período neonatal precoce em uma maternidade de Israel observaram que 22,2% das crianças com atividade enzimática baixa (<2,0U/g Hb) e 25,5% daquelas com atividade enzimática considerada limítrofe (2,0 a 7,0 U/g Hb), apresentaram na época da alta níveis de bilirrubina indicativos de fototerapia, enquanto que nos recém-nascidos com atividade enzimática normal a necessidade de fototerapia foi de 7,6%. Não foram observados sinais de hemólise - hematócrito e reticulócitos foram semelhantes nos três grupos. Eles discutiram a possibilidade de associação da hiperbilirrubinemia nessas crianças com deficiência de conjugação por polimorfismo no promotor do gene da UDP-glucoronosil-transferase 1A1, apesar de não terem sido feitos testes para suportar esta hipótese ⁶⁹.

Assim, a icterícia neonatal em recém-nascidos com deficiência de G6PD deve ser vista como um fenótipo, fruto da interação entre genótipo e meio ambiente.

1.2.4 Deficiência de G6PD e a Encefalopatia Bilirrubínica

O subcomitê em hiperbilirrubinemia da Academia Americana de Pediatria recomenda que se utilize o termo "Encefalopatia Bilirrubínica Aguda" para descrever manifestação de toxicidade da bilirrubina observada nas primeiras semanas de vida (quadro agudo) e o que o termo "Kernicterus" deve ser reservado quando se trata das sequelas crônicas e permanentes decorrentes da toxicidade da bilirrubina ⁸.

Apesar da maioria das crianças portadoras de deficiência de G6PD ser assintomáticas, algumas podem apresentar quadro de anemia hemolítica aguda não imune já no período neonatal precoce, de anemia hemolítica crônica, mesmo sem fator desencadeante, de hiperbilirrubinemia não fisiológica ou icterícia prolongada no período neonatal, ou de crises de icterícia pós-neonatal. Mas a grande morbidade é dada pela possibilidade de, no período neonatal, estar associada ao risco de lesão neurológica permanente decorrente dessa hiperbilirrubinemia ^{46,64}.

A encefalopatia bilirrubínica raramente é fatal. Ocorre quando a bilirrubina livre atravessa a barreira hematoencefálica e desencadeia uma série de lesões neuronais, alterando a utilização de glicose, a fosforilação oxidativa, a síntese de glicogênio, funções do ácido cítrico, metabolismo proteico, síntese de DNA, metabolismo lipídico, mielinização, síntese e transporte de neurotransmissores, transporte de íons, transmissão sináptica e homeostase de aminoácidos excitotóxicos. Crianças acometidas pela encefalopatia bilirrubínica podem desenvolver quadros variáveis de anomalias extrapiramidais, principalmente atetose, olhar fixo, geralmente desviado para cima, distúrbios auditivos, principalmente surdez neurosensorial e déficits intelectuais de gravidade variável ⁶⁹.

Com a introdução da fototerapia no manejo da hiperbilirrubinemia neonatal e da profilaxia da isoimunização Rh com o uso de anti-D no final dos anos de 1960 houve uma redução dramática no número de casos de Kernicterus. No entanto, a partir dos anos de 1990 vem sendo observada nova ascensão no número de casos ⁷⁰. Entre as razões apontadas para essa mais recente ascensão estão a alta precoce da maternidade, com 24 - 48 horas de vida, o uso de protocolos de tratamento mais conservadores em relação à necessidade de intervenção na hiperbilirrubinemia neonatal e o aumento da sobrevivência de um grupo de crianças de maior risco para a encefalopatia bilirrubínica, como RN pré-termo, mas a deficiência de G6PD vem recebendo destaque à medida que outras causas de hiperbilirrubinemia podem ser mais bem controladas ^{70,71,72}.

Em diversos países vem crescendo a preocupação em relação ao desenvolvimento de *Kernicterus* em crianças com deficiência de G6PD. Nos EUA 20,8% das crianças que desenvolveram quadro de *Kernicterus* apresentam deficiência de G6PD ⁷³. No Canadá, há relato de que esse percentual chega a 58% ⁷⁴. Mesmo em países em desenvolvimento, a deficiência de G6PD tem prevalência elevada nos recém-nascidos que desenvolvem encefalopatia bilirrubínica ⁴⁵. Ogunlesi e Ogunfowora (2011) pesquisando a deficiência de G6PD em 80 recém-nascidos com quadro de hiperbilirrubinemia significativa, observaram que 32/49 (65,3%) crianças com quadro de encefalopatia bilirrubínica tinham deficiência da enzima, enquanto que entre 31 crianças que não apresentaram manifestações de encefalopatia, a deficiência da enzima foi observada somente em 11 (35,5%) (OR = 3,42; IC 95% = 1,21 - 9,85; p=0,009) ⁷².

Hansen destacou em 2002 que como a "deficiência de G6PD não pode ser diagnosticada pelos olhos, pelas mãos ou estetoscópio" muitas crianças com este erro inato do metabolismo são seguidas utilizando-se os protocolos para recém-nascidos "a termo saudáveis", com um maior risco oculto de evoluírem com dano neurológico associado à hiperbilirrubinemia após alta da maternidade ⁷⁰.

No entanto alguns autores têm chamado a atenção para o fato de que em muitas ocasiões de hiperbilirrubinemia neonatal patológica e de encefalopatia bilirrubínica em crianças com deficiência de G6PD não se consegue identificar um agente deflagrador de hemólise por potencial oxidação e muitas vezes também não há evidências claras de hemólise ^{65,75}.

Zangen et al., (2009) relatam caso de uma menina, portadora de deficiência de G6PD, heterozigota para a variante G6PD-Mediterrâneo, e também portadora da mutação do promotor da variante UGT1A1 [(TA)₆/(TA)₇], conhecida como UGT1A1*28, associada à síndrome de Gilbert, que evoluiu com Kernicterus fatal. Discutem a importância da interação entre fatores para hiperbilirrubinemia, como deficiência de G6PD associada ao polimorfismo da UGT1A1, com redução da conjugação hepática da bilirrubina, e fatores adicionais que podem se somar, como a prematuridade e o aleitamento materno ^{66,76}.

Por isso vem sendo dado destaque ao possível papel da associação de deficiência de G6PD com mutação na Uridilglicuronosil-transferase da família 1 - polipeptídeo 1 (humana) - UGT1A1 - a Síndrome de Gilbert ⁷⁶.

Estima-se que a Síndrome de Gilbert ocorra em 3 a 10% da população. O gene responsável pela codificação da UGT1A1 está localizado no cromossoma 2, locus 2q37. A maior parte das mutações no gene ocorre na região promotora, com inserção de repetição do dinucleotídeo - TA na caixa TATA. Indivíduos com atividade normal da UGT1A1 possuem seis sequências TA - (TA)₆/(TA)₆. Os indivíduos afetados têm sete ou oito repetições do dinucleotídeo e podem ser homozigotos - (TA)₇/(TA)₇, ou heterozigotos compostos (TA)₇/(TA)₈. O aumento na sequência TA na região promotora do gene está associado com redução progressiva da atividade enzimática da UGT1A1 ⁷⁷.

Zangen et al. (2009) discutem que, com a ampliação do conhecimento em genética molecular, mais atenção deva ser dada às mutações recessivas mesmo em heterozigose, porque a possibilidade de combinação de múltiplas mutações pode resultar em modificação do comportamento fenotípico ⁷⁶. Seria o que Vockley et al. (2000) chamaram de "heterozigosidade sinérgica" ⁷⁸.

Rawa et al. (2012) estudando numa população polonesa a associação entre Síndrome de Gilbert e outras anemias hemolíticas hereditárias, observaram menor ocorrência de genótipo normal da UGT1A1 - (TA)₆/(TA)₆, entre indivíduos com deficiência de G6PD quando comparados com indivíduos sem anemia hemolítica, tendo sido essa diferença de significância estatística. Por outro lado, embora o genótipo (TA)₇/(TA)₇ tenha sido mais frequente nos portadores de deficiência de G6PD, essa diferença não foi estatisticamente significativa. A associação de deficiência de G6PG com variantes do promotor do gene da

UGT1A1 pode explicar, pelo menos em parte, diferentes comportamentos clínicos em portadores da mesma variante da G6PD e a precocidade de manifestação clínica em portadores da síndrome de Gilbert, quando o habitual é manifestação clínica só em adultos ⁷⁷.

1.2.5 Determinação laboratorial da deficiência de G6PD

A triagem da deficiência de G6PD pode ser feita por testes qualitativos ou quantitativos, que avaliam a atividade enzimática, ou testes moleculares, que identificam a presença de mutações.

Os testes que se baseiam na avaliação da atividade enzimática, identificam indivíduos pelo fenótipo, independente da mutação. No entanto a maior parte não identifica meninas heterozigotas e pode não detectar a deficiência enzimática, mesmo em deficientes, se realizados antes de 2 a 3 semanas após crise hemolítica, já que a atividade enzimática nas hemácias jovens é maior ^{79,80,81,82}.

Testes moleculares identificam meninas heterozigotas, no entanto cada mutação deve ser pesquisada com seu "primer" específico e existem mais de 160 mutações. Podem ser utilizados mesmo depois de crise hemolítica, mas são mais demorados, caros, e só disponíveis em poucos laboratórios. Apesar de identificarem meninas heterozigotas, não preveem comportamento clínico por conta da inativação aleatória do cromossomo X ⁸².

São exemplos de testes qualitativos o teste de redução da meta-hemoglobina, de redução da glutatona, da mancha fluorescente. São testes quantitativos aqueles que avaliam a atividade enzimática por espectrofotometria ou métodos citoquímicos.

O Teste de Brewer é um exemplo de teste qualitativo, simples e de baixo custo. Baseia-se no princípio de que indivíduos com deficiência de G6PD são incapazes de reduzir a meta-hemoglobina quando o sangue é incubado com glicose, nitrito de sódio e azul de metileno ⁸³. Para o teste, são utilizados três tubos de ensaio: um controle negativo com glicose a 5%, um controle positivo com glicose 5% e nitrito de sódio, e um terceiro tubo - o do teste propriamente

dito, com glicose 5%, nitrito e azul de metileno. Uma alíquota da amostra é colocada em cada um dos tubos. Na presença de nitrito de sódio a hemoglobina é convertida em meta-hemoglobina por oxidação do ferro da hemoglobina Fe^{2+} para Fe^{3+} . A meta-hemoglobina, ao contrário da oxi-hemoglobina, é incapaz de transportar o oxigênio, e uma amostra rica em meta-hemoglobina adquire cor escura, de castanho chocolate a uma cor azulada. O azul de metileno, por sua vez, favorece a redução do íon férrico através da redutase-NADPH-dependente. Se na amostra a atividade de G6PD é deficiente, não haverá produção de NADPH suficiente para redução da meta-hemoglobina (Figura 2) ⁸³.

Figura 2 – Teste de Brewer - O azul de metileno participa da redução da meta-hemoglobina (HbFe^{3+}) para oxi-hemoglobina, através da redutase-NADPH-dependente. Fornecimento de NADPH dependente da glicose-6-fosfato desidrogenase ⁸³.

Assim, no teste de Brewer, o controle positivo contém o nitrito de sódio, mas não o azul de metileno, e no controle negativo não é adicionado o nitrito de sódio. Se indivíduo em teste for deficiente em G6PD, o azul de metileno não será eficaz na redução da meta-hemoglobina por fornecimento inadequado de NADPH, ficando a cor do tubo semelhante a do controle positivo. Já se a atividade enzimática for normal, haverá redução da meta-hemoglobina, e a cor obtida vai se aproximar daquela do controle negativo (Figura 3) ⁸³.

Figura 3 – Teste de Brewer - amostra positiva para deficiência de G6PD:- tubo a esquerda - controle negativo; tubo a direita - controle positivo tubo central – amostra testada (arquivo pessoal).

A acurácia do teste de Brewer pode ser melhorada pela utilização de um instrumento para medida da intensidade da cor, um fotocolorímetro ou um espectrofotômetro.

O teste de Beutler o "teste da mancha fluorescente" é outro método qualitativo de pesquisa da deficiência de G6PD. Foi adotado como padrão para triagem da deficiência pelo Comitê de Padronização Internacional em Hematologia ⁸⁴ e recomendado pela OMS, em 1989 ³⁴. Baseia-se no princípio de que a atividade da G6PD pode ser avaliada indiretamente pela produção de NADPH. O NADPH produzido pode ser avaliado visualmente sob luz ultravioleta. É um teste rápido e barato ⁸⁴.

Nadarajan et al. (2011) modificaram o teste da mancha fluorescente e compararam resultados do teste qualitativo com avaliação quantitativa por espectrofotometria. Pesquisaram mutações nos classificados como portadores de deficiência enzimática. Estudando sangue de cordão, observaram que houve boa correlação entre os testes, que em 94% dos meninos portadores de deficiência foi identificada uma mutação e que a obtenção de resultado "intermediário" no teste qualitativo permitiu a identificação de meninas heterozigotas portadoras de mutações (Figura 4) ⁸⁰.

Figura 4 - Teste da mancha fluorescente - amostras processadas, colocadas em papel filtro para leitura sob luz ultravioleta: da esquerda para a direita - amostra com deficiência intermediária com fluorescência presente, mas diminuída; amostra com deficiência severa - ausência de fluorescência e amostra normal - fluorescente⁸⁰.

O ponto de corte para se estabelecer deficiência de atividade enzimática em testes quantitativos também tem sido motivo de discussões na literatura, não havendo consenso.

Muller (2003) estudando crianças normais de uma creche de São Paulo e utilizando método de avaliação enzimática baseado na medida da produção de NADPH encontrou atividade de G6PD semelhante em meninos e meninas, sendo o valor médio de atividade enzimática de 4,49 U/g Hb com desvio-padrão de 1,38 U/g Hb. O autor sugere a utilização de 2,227 U/g Hb como ponto de corte para estabelecer a condição de deficiência de atividade enzimática⁸⁵.

Riskin et al. (2012) defendem o valor de 2,0 U/g Hb como ponto de corte para se estabelecer deficiência enzimática em testes de triagem, classificando crianças com valores de atividade enzimática de 2,0 a 7,0 como sendo portadoras de deficiência limítrofe, utilizando os mesmos pontos de corte para meninos e meninas. Com estes pontos de corte, os autores encontraram na faixa de deficiência limítrofe um predomínio no sexo feminino de 4,8:1, enquanto que na faixa de deficiência o predomínio foi do sexo masculino - 7,9:1⁶⁸.

Algur et al. (2012) defendem o diagnóstico de deficiência de G6PD pela avaliação da atividade enzimática, valorizando assim o diagnóstico pela análise do fenótipo. Estudaram 2800 recém-nascidos. Observaram que no sexo masculino a divisão entre deficientes e não deficientes era mais clara em função da atividade avaliada, mas nas meninas a identificação desses grupos não foi possível. Propõe então atividade enzimática < 7 U/g Hb como ponto de corte para definição de deficiência em meninos, considerando atividade enzimática normal aquela ≥ 9 U/g Hb. Para meninas propõem como pontos de corte: atividade

enzimática < 7 U/g Hb para definir a portadora de deficiência enzimática, provavelmente homozigotas; entre 7,0 e 9,4 u/g Hb como deficiência intermediária, provavelmente heterozigotas; e $\geq 9,5$ U/g Hb como atividade normal ⁸¹.

Al-Abdi et al. (2013) estudaram recém-nascidos normais em um Hospital na Arábia Saudita, para estabelecer o limite inferior de atividade enzimática normal através de cuidadoso estudo estatístico. Os autores, excluindo os "outliers", sugeriram como limite inferior de normalidade atividade de G6PD de 11 U/g Hb. O estado de deficiência seria então estabelecido a partir desse limite, expresso como percentual da atividade normal, definindo como deficiência uma atividade enzimática 50% menor que a atividade normal ⁸⁶.

No Brasil, Giovelli et al. (2007) estudaram a acuraria do método qualitativo da redução de meta-hemoglobina (Teste de Brewer) comparando-o com teste quantitativo, utilizando como pontos de corte atividade enzimática abaixo de 2,6 U/g Hb para identificar o indivíduo deficiente, atividade entre 2,6 e 7,7 para definir o parcialmente deficiente e atividade $> 7,7$ U/g Hb como indivíduos atividade enzimática normal. Observaram que sensibilidade do teste de Brewer, quando comparado com o teste quantitativo, usando o ponto de corte de $\leq 7,7$ U/g Hb, foi de 92,8%. A especificidade foi de 98,7%. O valor preditivo positivo foi de 86,7% e o valor preditivo negativo de 99%. Analisa que como as coletas foram feitas em recém-nascidos até 15 dias de vida, a presença de hiperbilirrubinemia pode ter influenciado tanto no teste de redução de meta-hemoglobina como na alteração da cor. Duas amostras em 159 foram falsamente positivas e uma foi falsamente negativa para deficiência de G6PD pelo método de Brewer ⁸⁷.

1.2.6 Deficiência de G6PD em áreas endêmicas para Malária e Hanseníase

Existem evidências de que determinadas mutações no gene responsável pela codificação da G6PD tenham sido selecionados pela malária em populações africanas entre 4.000 a 12.000 anos, principalmente pelos *Plasmodium vivax* e *P. falciparum* ⁸⁸.

Estudo controlado realizado na África mostrou que a deficiência de G6PD conferia proteção contra formas graves da malária de 46 a 58% ⁸⁹.

Foi demonstrado que hemácias infectadas pelo *P. falciparum* são fagocitadas mais precocemente quando há deficiência de G6PD, sendo talvez este um dos mecanismos responsáveis pela proteção ⁹⁰.

Se por um lado a deficiência de G6PD conferiu certo grau de proteção contra a Malária, por outro lado, trás dificuldades para o tratamento desta condição, já que indivíduos com deficiência de G6PD são 20 a 30 vezes mais susceptíveis a desenvolverem anemia hemolítica com uso de primaquina do que indivíduos com atividade enzimática normal ⁵³ e têm risco 3,71 vezes maior de desenvolver metemoglobinemia quando comparados com os que não têm deficiência enzimática ⁹¹.

A Primaquina, uma 8-aminoquinolona, sintetizada inicialmente em 1946, nos EUA, vem recebendo atenção por conta de seu papel fundamental para a erradicação da malária. É a única droga antimalárica efetiva contra as formas exoeritrocitárias das espécies de plasmódios capazes de infectar o homem, assim como de efetuar cura radical, eliminando as formas latentes teciduais da infecção pelo *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale* ⁹¹. Por isso vem sendo utilizada como droga para administração em massa ⁵⁷. Daí a preocupação em locais onde a deficiência de G6PD tem maior prevalência.

O conhecimento da prevalência da deficiência de G6PD é recomendado em áreas com elevada incidência de malária por *P. vivax* e *P. falciparum* pelo risco de hemólise intravascular grave com o uso de primaquina nos que são portadores da deficiência de G6PD. A Organização Mundial da Saúde (1989) já havia recomendado a triagem de deficiência de G6PD em todos os países onde a prevalência estimada de deficiência de G6PD está em torno de 3 a 5%, ou mais em homens ³⁴.

No entanto, mesmo depois de quase sete décadas do início da produção de Primaquina, ela é ainda a única droga clinicamente disponível capaz de bloquear a transmissão da malária, exibindo uma marcada atividade contra gametócitos de todas as espécies de malária humana, incluindo estirpes de *Plasmodium falciparum* multirresistentes. A primaquina é também eficaz contra todas as formas exo-eritrocitárias do parasita e é utilizada em conjunto com outros

antimaláricos no tratamento de malária por *P. vivax* e *P. ovale*. No entanto, a primaquina é frequentemente associada com efeitos adversos graves, em consequência de seus metabólitos tóxicos. Sua toxicidade é agravada em pessoas com deficiência G6PD, principalmente no que diz respeito às reações hemolíticas. O problema dessa toxicidade é ainda amplificado nessas pessoas pelo fato de haver necessidade de se administrar doses repetidas e elevadas, devido à sua biodisponibilidade oral limitada ⁹².

O tratamento da malária tem como objetivos: interromper a esquizogonia sanguínea, responsável pela patogenia e manifestações clínicas da infecção; destruir as formas latentes do parasito no ciclo tecidual (hipnozoítos) das espécies *P. vivax* e *P. ovale*, evitando assim as recaídas tardias; interromper a transmissão do parasito, pelo uso de drogas que impedem o desenvolvimento de formas sexuadas dos parasitos (gametócitos) - drogas gametocidas ⁹³. No Brasil a Primaquina é recomendada por sete dias na dose de 0,5 mg/Kg/dia ou por 14 dias na dose de 0,25 mg/Kg/dia, em associação à cloroquina nos três primeiros dias de tratamento, para malária por *vivax* ou *ovale* ⁹³.

Em áreas com elevada prevalência de malária por *P. vivax*, grande esforço vem sendo feito para conter a propagação da infecção, reduzindo a transmissão de parasitas. Kondrashin et al (2014) apresentaram revisão da experiência obtida com esquemas de tratamento em massa na Coreia do Norte, Azerbaijão, Afeganistão e Tajiquistão em diferentes épocas. Foram utilizados esquemas com 14 ou 17 dias de primaquina em 8.270.185 pessoas. A deficiência de G6PD nestes países foi estimada de 0,8 a 4% no Tajiquistão a 38% no Azerbaijão. O surgimento de efeitos colaterais foi registrado de poucos casos até 4% das pessoas tratadas. Só na Azerbaijão sete casos de efeitos colaterais graves foram relatados, justamente o país com maior percentual de deficiência de G6PD. A primaquina não foi utilizada em gestantes nem em menores de um ano de idade ⁹⁴.

A reação que ocorre com o uso de primaquina em pacientes portadores da deficiência de G6PD é semelhante àquela vista no "favismo". No entanto no favismo o quadro é mais variável, porque também é muito variável a quantidade de fava ingerida, que tipo de grãos foi utilizado e a forma como foi preparado. Com a primaquina é mais uniforme. Após uso de primaquina, há redução de

hematócrito e hemoglobina, com o mínimo sendo atingido com sete dias; todos têm hemoglobinúria com um a três dias com alterações na hematoscopia; tornam-se ictéricos seguindo-se rápido aumento de reticulócitos ⁵⁷.

Shekalaghe et al. (2010) observaram que crianças com G6PD A- tinham maior risco de hemólise quando foram tratadas com primaquina associada à artemísia quando comparadas com as que não tinham deficiência enzimática. No entanto destaca que nem todas que tinham a variante A- tinham hemólise e nem todos os que tinham hemólise tinham deficiência de G6PD ⁹⁵.

O tratamento da hanseníase também envolve uso de drogas, como a dapsona, por tempo prolongado. A dapsona também pode desencadear crise hemolítica aguda em portadores da deficiência de G6PD ⁹⁶. O quadro clínico é semelhante, mas quase não é visto em adultos ⁵⁷.

A dapsona é uma droga extremamente segura, barata e efetiva no tratamento da hanseníase, mas deve ser utilizada com cautela em pacientes portadores de deficiência de G6PD. A OMS tem recomendado sua suspensão, com instituição de esquemas terapêuticos alternativos se há hemólise severa ⁹⁶.

1.2.7 Deficiência de G6PD no Brasil

Enquanto é estimado que 4 a 7% da população dos Estados Unidos da América seja portadora de deficiência de G6PD ⁴⁴, no Brasil ainda são poucos os trabalhos que avaliam a prevalência dessa deficiência enzimática e apontam prevalências bem diversas em diferentes regiões.

Compri et al. (2000) estudaram a deficiência de G6PD entre 4.621 amostras de doadores de sangue em Bragança Paulista (SP) encontrando 1,7% de amostras com deficiência de G6PD ³⁹.

No Rio Grande do Sul, no Programa de Triagem Neonatal, usando medida quantitativa da atividade enzimática no material do Teste do Pezinho, sem realização de um segundo teste, observaram uma prevalência total de 7,9%, incluindo crianças com deficiência intermediária (6,4%) ⁹⁷.

No Distrito Federal, em triagem realizada em 7257 recém-nascidos de janeiro de 2007 a janeiro de 2010, foram detectadas 57 crianças com deficiência

confirmada de G6PD – 0,8%. Os autores chamaram a atenção para o elevado percentual de falso-positivos na etapa de triagem - 75,85%. Concluíram que elevadas temperaturas, condições de acondicionamento das amostras e transporte podem ter influenciado nesse elevado percentual de falso-positivos ⁹⁸.

No Rio Grande do Norte, Iglessias et al. (2010), analisando 204 amostras de sangue de cordão em uma maternidade-escola, encontraram oito (3,9%) crianças com deficiência de G6PD. Destas, só quatro tiveram icterícia sendo que uma atingiu pico de 18,1 mg/dL de bilirrubina total e outra, com concomitante isoimunização ABO, apresentou icterícia precoce com pico de 20,5 mg/dL com 64 horas de vida. Todas tinham a variante G6PD A- em eletroforese ⁹⁹.

Em Baurú/SP, Nicolielo et al. (2006) estudaram a prevalência de G6PD em 2657 amostras de sangue colhidas de indivíduos do sexo masculino, no laboratório de análises clínicas da Universidade do Sagrado Coração. Encontraram 3,6% de indivíduos com deficiência de G6PD. Não houve associação com anemia ou outras alterações hematológicas. Compararam resultados com os de outras pesquisas realizadas no Brasil, estabelecendo que entre homens de ascendência africana a prevalência da deficiência de G6PD estaria em torno de 10% enquanto que para homens de ascendência caucasiana estaria entre 1 e 3% ¹⁰⁰.

Apesar da frequência elevada, a triagem deste erro inato do metabolismo não está inclusa na maior parte dos programas de triagem neonatal. No Brasil vem sendo feita no Distrito Federal, por decisão da Secretaria de Saúde local e em São Paulo por recomendação da Procuradoria da República do Estado de São Paulo ¹⁰¹.

Assim, o conhecimento da prevalência da deficiência de G6PD e da frequência de mutação de classe II e III entre as crianças com deficiência enzimática, em áreas com elevada incidência de malária e hanseníase pode minimizar risco durante tratamento dessas condições.

A indicação da OMS de triar a deficiência de G6PD em áreas com prevalência da deficiência está entre 3 e 5%, adquire especial importância em regiões como Mato Grosso, onde 83% dos casos de malária são por *P.vivax* (50,7%) e *P. falciparum* (32,4%) ¹⁰². A identificação de crianças portadoras dessa deficiência enzimática determinaria uma subpopulação de risco para reações

adversas com antimaláricos, minimizando risco de morbimortalidade pelo tratamento.

A mesma preocupação está presente em relação à hanseníase. Trata-se de um problema de saúde pública no Brasil, já que nas últimas décadas, apresenta a situação mais desfavorável na América, sendo o país que ocupa o segundo lugar em quantidade de casos do mundo, depois da Índia ¹⁰³. No Brasil, estados da Amazônia legal apresentam uma taxa de detecção de novos casos três vezes maiores que a de outros estados do Brasil: Mato Grosso, Tocantins, Rondônia e Roraima destacam-se com taxas mais elevadas que a média da região ¹⁰³ (Figura 5).

Figura 5 – Taxa média de detecção de hanseníase por Municípios.
Brasil, 2000 a 2002 ¹⁰³.

Assim a triagem de deficiência de G6PD permitiria a identificação de crianças de maior risco para morbidade durante tratamento de malária e hanseníase.

A triagem neonatal também permite identificar crianças portadoras de morbidades associadas, como por exemplo, deficiência de G6PD e hemoglobinopatias. Isto poderia ajudar a compreender diferenças no comportamento clínico dessas crianças portadoras de hemoglobinopatias. Crianças portadoras de traço falciforme poderiam ter evolução agravada por concomitante deficiência de G6PD? Poderiam crianças com doença falciforme e deficiência de G6PD terem as manifestações da deficiência enzimática minimizadas?

Além disto, a determinação da prevalência desse erro inato do metabolismo, o conhecimento da presença dessas duas mutações de importância clínica, a correlação destas com a evolução no período neonatal e a análise crítica dessa avaliação dentro do contexto da triagem neonatal universal podem auxiliar no balizamento de políticas de saúde e trazer subsídios para a discussão sobre a importância de se incluir a triagem da deficiência de G6PD no programa de triagem neonatal.

2 JUSTIFICATIVA

Mato Grosso, estado brasileiro localizado na região Centro-Oeste, possui uma extensão de 903.329,700 Km², pouco menor que a aérea da Venezuela, sendo o maior estado da região e o terceiro maior do Brasil. Possui 3.035.122 habitantes¹⁰⁴, o que representa 1,59% da população brasileira, sendo 36,7% de caucasianos, 62,2% de afrodescendentes e 1,1% de asiáticos ou indígenas.

É um estado de elevada prevalência de malária, apesar da queda significativa do número de casos ao longo dos últimos anos, e está entre os estados brasileiros com maior prevalência de hanseníase.

Dos 141 municípios do estado, os três maiores estão localizados na região centro-sul: Cuiabá, a capital do estado; Várzea Grande, município vizinho e contíguo com a capital e Rondonópolis, o terceiro maior município, distante 214 Km de Cuiabá (Figura 6).

Figura 6 – Mapa de Mato Grosso com destaque para os três municípios mais populosos: Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis (mapas obtidos em pesquisa por imagem em: www.portallpower.com.br e www.guianet.com.br).

A população desses três municípios de Mato Grosso é, como no Brasil, de grande miscigenação: de um lado com número significativo de afrodescendentes e de outro, com considerável contingente de migrantes vindos da região sul do país, de ascendência europeia.

Dados demográficos e da triagem neonatal dos três municípios onde a pesquisa foi desenvolvida estão dispostos nas **tabelas 3 e 4**, respectivamente.

Tabela 3 – Área territorial, população e distribuição da população segundo raça / cor autodeclarada dos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis - MT

MUNICÍPIO	ÁREA (Km2)	POPULAÇÃO	DISTRIBUIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ACORDO COM ETNIA / COR (%)				
			BRANCOS	PRETOS	PARDOS	AMARELOS	INDÍGENAS
CUIABÁ	3.495	551.098	33,2%	10,8%	54,3%	1,3%	0,3%
V. GRANDE	1.048	252.596	28,4%	9,3%	60,3%	1,3%	0,2%
RONDONÓPOLIS	4.159	195.476	40,5%	7,2%	50,6%	1,3%	0,4%

Fonte: IBGE - censo 2010

Tabela 4 – Dados da triagem neonatal - 2010 nos Municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis e do estado de Mato Grosso

	Postos de coleta ²	Nascidos vivos ¹	Cobertura da triagem neonatal ²	
Cuiabá	104	9345	19%	69,0%
V. Grande	10	4416	9%	65,0%
Rondonópolis	47	3528	7,2%	79,4%
Mato Grosso	298	48929	100%	74,4%

¹ Fonte Datasus

² Dados do Serviço de Referência em Triagem Neonatal de Mato Grosso

No ano de 2010 nasceram 48.929 crianças em Mato Grosso, sendo 9.345 crianças em Cuiabá, 4.416 em Várzea grande e 3.528 em Rondonópolis. Nestes três municípios nasceram 35,3% dos nascidos vivos em todos os 141 municípios do estado.

São escassos dados sobre o seguimento pós-alta das maternidades, que ocorre na maioria dos municípios de forma precoce, antes de 48 horas de vida. A frequência de Kernicterus não é conhecida, nem o maior risco imposto pela possível deficiência de G6PD.

Em Mato Grosso de cada 1000 crianças triadas 26 têm traço falciforme e de cada 2.271 crianças triadas, uma tem doença falciforme (dados do laboratório de referência, 2010). O estudo da concomitância de traço ou doença falciforme

com a deficiência de G6PD pode oferecer subsídios para a compreensão de alterações na evolução clínica impostas pela associação de morbididades.

Essas características locais tornam importante o conhecimento da prevalência da deficiência de G6PD bem como a determinação da distribuição das mutações G202A (G6PD A-) e C563T (G6PD Mediterrânea) nas crianças desses municípios, permitindo ainda estudar a triagem desse erro inato do metabolismo dentro do contexto da triagem neonatal por amostra biológica, avaliando as etapas desse processo.

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Conhecer a prevalência da deficiência de G6PD em recém-nascidos dos três maiores municípios do estado de Mato Grosso, submetidos à triagem neonatal entre 20/04 e 27/07/2012, e das mutações G202A (G6PD A-) e C563T (G6PD Mediterrâneo) entre os portadores da deficiência enzimática.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a distribuição da deficiência de G6PD e de suas mutações em relação ao gênero, etnia e município de procedência da criança;
- Avaliar:
 - Histórico de transfusões, de anemia em familiares, icterícia neonatal, tratamento utilizado para icterícia neonatal entre as crianças com deficiência de G6PD confirmada;
 - Associação entre deficiência de G6PD e alterações no hemograma;
 - Percentual de falso-positivo na fase da triagem de deficiência de G6PD.
- Avaliar a estratégia de triagem de deficiência de G6PD no contexto do Programa Nacional de Triagem Neonatal.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Tipo e local do estudo

Foi realizado estudo descritivo transversal.

Foram elegíveis todas as crianças nascidas nos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis, submetidas à triagem neonatal de acordo com o estabelecido pelo PNTN do Ministério da Saúde. Os testes laboratoriais de triagem foram realizados no Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado de Mato Grosso (SRTN-MT), localizado no Hospital Universitário Júlio Müller - Universidade Federal de Mato Grosso.

Foram considerados critérios de exclusão - amostras inadequadas, recusa dos pais em participar da pesquisa, transfusão ocorrida antes da consulta para coleta de exame confirmatório.

4.2 Desenvolvimento do trabalho

Antecedendo o início da coleta das amostras foi elaborado Manual de Orientação para coleta do Teste do Pezinho e disponibilizado para toda a rede de postos de coleta do estado. Nesse período foi solicitado que o envio das amostras fosse feito em caixa térmica com gelo reciclável do tipo "gelox" protegidas em saco plástico e pote de plástico de tamanho adequado para o papel filtro.

No período de 20/04/2012 a 27/07/2012 foi realizada a dosagem semiquantitativa da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) em todas as amostras de sangue em papel filtro consideradas adequadamente coletadas, após retirada de amostras para a execução dos testes de triagem de hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria e hemoglobinopatias.

Foram excluídas da triagem de G6PD amostras que chegaram ao laboratório 30 dias ou mais depois da coleta.

As crianças triadas como portadoras de deficiência de G6PD foram convocadas para consulta no SRTN-MT - Hospital Universitário Júlio Müller.

Na primeira consulta as famílias receberam informações a respeito do motivo da convocação. Após esclarecimentos sobre a doença e sobre a pesquisa, incluindo a necessidade de coleta de sangue para exames, foi solicitado consentimento verbal e escrito de um dos pais ou responsável. Era então feito preenchimento de formulário de coleta de dados (história familiar, etnia/cor auto referida, dados geográficos, história neonatal incluindo de internação prévia, dados sobre icterícia e seu tratamento e transfusão sanguínea), exame físico, seguido pela coleta de amostra em papel filtro para nova avaliação da atividade da G6PD (mesma metodologia, mas sob condições diferentes), hemograma, reticulócitos e material para estudo das mutações G202A e C563T.

Se após duas tentativas não se conseguia obter todo o material, era colhido apenas sangue em papel filtro (duas gotas). Neste caso, se a deficiência de G6PD era confirmada, pedia-se novo consentimento aos pais para uma nova tentativa de coleta no dia do recebimento dos resultados. Se a deficiência de G6PD não era confirmada, não se tentava nova coleta.

Todas as crianças com deficiência de G6PD confirmada tiveram sangue colhido para hemograma, reticulócitos e estudo das mutações.

Todas as famílias foram contactadas para entrega de resultados. No caso de confirmação da deficiência de G6PD no segundo teste a família era convocada para nova consulta para informação dos resultados aos pais, novas orientações sobre a doença, forma de herança e entrega de material escrito com a relação de medicamentos que deveriam ser evitados.

4.3 Avaliação laboratorial

Para a dosagem de G6PD foram utilizados "kits" comercializados pela PerkinElmer - NEONATAL G6PD.

Nestes "kits" é utilizado método quantitativo, baseado na medida de produção de NADPH a partir dos substratos glicose-6-fosfato e NADP. O NADPH é uma molécula fluorescente que pode ser "visualizada" utilizando-se um comprimento de onda de excitação de 340 nm e comprimento de onda de emissão de 450 nm. A produção de NADPH ocorre na presença da enzima - G6PD, e é proporcional à atividade enzimática. A produção de NADPH é então

medida por fluorimetria por tempo resolvido. A fluorescência foi medida no fluorômetro de microplacas Victor D da PerkinElmer. Os "kits" utilizam o procedimento de normalização da hemoglobina por avaliação simultânea do conteúdo de hemoglobina e os resultados são expressos em unidades de atividade por grama de hemoglobina. Foi realizado controle interno em cada dia de trabalho, com amostras de controle negativo e positivo pré-estabelecidas.

Os testes laboratoriais para avaliação da atividade de G6PD foram feitos em até seis dias da chegada da amostra no laboratório de referência sendo a amostra armazenada congelada sob temperatura controlada - entre -18 °C e -20 °C, até envio para dosagem. Envio feito em caixas térmicas com controle de temperatura.

Foram consideradas amostras com atividade enzimática deficiente aquelas em que a atividade medida foi menor ou igual a 2,6 U/g de hemoglobina (o ponto de corte de 2,2 U/g Hb no kit da PerkinElmer corresponde ao ponto de corte de 4,6 U/g Hb do Kit da SigmaTM). Bilirrubina e concentração de hemoglobina não interferem com a avaliação da atividade de G6PD pela fluorimetria na metodologia utilizada.

O hemograma e a contagem de reticulócitos foram realizados no laboratório central do Hospital Universitário Júlio Müller no mesmo dia da coleta.

A pesquisa das mutações foi realizada pelo laboratório DLE-Rio de Janeiro nas amostras previamente congeladas das crianças consideradas como "deficientes". Logo depois da chegada das amostras foi realizada extração de DNA.

Após extração do DNA foi realizada investigação molecular da G6PD, por "Real Time PCR" utilizando o sistema de detecção TaqMan. O PCR em Tempo Real é considerado a metodologia mais sensível, específica e reprodutível para a detecção de mutações com elevadas sensibilidade e especificidade.

Sua reprodutibilidade se deve ao fato de os dados serem coletados na fase de replicação do DNA, na qual a variabilidade é menor e onde é gerada a curva exponencial (coleta de dados em tempo real). A detecção de mutações por "Real Time PCR" elimina os processamentos pós-amplificação, reduzindo a manipulação com etapas desnecessárias, reduzindo assim o risco de contaminação.

4.4 Análise de dados

Os dados foram armazenados em bancos elaborados e analisados no Programa IBM SPSS Statistics e em EpiData, avaliando-se frequências, médias e desvios-padrões de acordo com a natureza do dado analisado e avaliada associação entre diferentes alelos de G6PD identificados e dados clínicos - história de icterícia, transfusões, dosagens de bilirrubinas realizadas entre os deficientes em G6PD. Os dados de prevalência foram apresentados com intervalos de confiança de 95% (Mid-Point).

5 RESULTADOS

No período de estudo, 20/04/2012 a 27/07/2012, foi realizada avaliação da atividade da G6PD em todas as amostras do "Teste do Pezinho" adequadamente colhidas, nos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis.

Nesse período foram coletadas amostras do "Teste do Pezinho" de 3636 crianças dos três municípios estudados. O exame foi considerado adequado em 3573 (98,3%) das amostras recebidas (Tabela 5). Nestas amostras foram realizadas triagem de hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, hemoglobinopatias e deficiência de G6PD.

Tabela 5 – Amostras recebidas no período de 20/04/2012 a 27/07/2012, dos Municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis - MT

	MAT. INSUF	RET> 30 dias	NÃO ELUIU	PAPEL VENCIDO	AM. DILUÍDA	ADEQUADAS (% do total recebido)	TOTAL RECEBIDO
Cuiabá	27	3	1	2	0	1857 (98,2%)	1890
V. Grande	8	1	0	0	1	945 (98,9%)	955
Rondonópolis	18	1	1	0	0	771 (97,5%)	791
TOTAL	53	5	2	2	1	3573 (98,3%)	3636

Foram triadas 215 crianças com suspeita de deficiência de G6PD - atividade enzimática menor ou igual a 2,6 U/g Hb, sendo 114 em Cuiabá, 68 em Rondonópolis e 33 em Várzea Grande. Após convocação extensiva foram localizadas e compareceram à consulta para coleta do exame confirmatório (G6PD 2) 189 dessas 215 crianças (87,9%).

Uma criança do município de Várzea Grande foi excluída por ter sido transfundida antes da coleta do exame confirmatório. Desta forma, o exame confirmatório foi colhido em 188 crianças, distribuídas como apresentado no fluxograma da Figura 7.

A confirmação da deficiência de G6PD ocorreu em 31 das 1857 crianças triadas de Cuiabá (1,67%), em 20 das 945 crianças triadas de Várzea Grande (2,12%) e em 12 das 771 de Rondonópolis (1,56%), totalizando 63 crianças nos três municípios.

A prevalência nos três municípios (IC95%) foi de 1,76% (1,76; 2,24), considerando-se o total de nascidos vivos que tiveram amostras adequadamente colhidas para a Triagem Neonatal por amostras biológica na rede pública no período de estudo, que realizaram exame de triagem de deficiência de G6PD (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma da triagem e confirmação de Deficiência de G6PD nos municípios de Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis. G6PD1 - exame feito na etapa de triagem: normal se atividade enzimática > 2,6 U/g Hb e alterado se $\leq 2,6$ U/g Hb. Crianças com exame alterado na fase de triagem foram convocadas para coleta do exame confirmatório (G6PD2).

Houve diferença entre as médias da atividade da G6PD nos testes de triagem tendo sido de 1,44 U/g Hb (variância de 0,25; DP de 0,50; IC95% 1,31 - 1,56) entre as que confirmaram, e de 1,85 U/g Hb (variância de 0,36; DP de 0,60; IC 95% 1,75 - 1,96) entre as crianças que não confirmaram a deficiência de G6PD (Teste T de Student 5,03; Df 146,30; $p < 0,01$; IC 95% 0,25 - 0,58).

Entre as 3573 crianças triadas, 1795 (50,24%) eram meninos e 1778 (49,76%) eram meninas. Das 63 crianças com deficiência de G6PD confirmada, 60 (95,2%) eram meninos e somente três (4,8%) eram meninas (OR = 20,3; IC

Resultados

95% 6,0 - 68,2). Não houve associação entre cor/etnia e deficiência de G6PD mesmo agrupando-se as crianças em brancas e não brancas, excluindo as crianças de etnia indígena dessa análise (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise da distribuição de variáveis nas crianças triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD (n=188), separadas em dois grupos - deficiência de G6PD confirmada (n=63) e não confirmada (n=125).

VARIÁVEL	Deficiência de G6PD confirmada (n = 63)	Deficiência de G6PD NÃO confirmada (n = 125)	TOTAL (n=188)	p
Gênero				
Masculino	60	62	122	<0,001
Feminino	3	63	66	
Cor/etnia				
Branca	13	35	48	-
Afro-descendentes	49	89	138	
Amarela	0	0	0	
Indígena	1	1	2	
Cor/etnia - dados agrupados				
Branca	13	35	48	NS
Não Branca*	49	89	138	
Idade materna**				
<20 anos	18	25	43	NS
20 - 29 anos	32	67	99	
≥30 anos	13	32	45	
Idade paterna**				
<20 anos	8	5	13	NS
20 - 29 anos	32	60	92	
≥30 anos	21	54	75	

¹ χ^2 corrigido = 36,3; Df(1); p < 0.001

NS - não significativo

* Indígenas excluídos para análise estatística

** Dados não disponíveis em todos

A prevalência entre meninos (IC 95%) foi de 3,34% (2,58; 4,25), enquanto que em meninas foi de 0,17% (0,0143; 0,46) (Tabela 7).

Resultados

Tabela 7 – Análise de prevalências da deficiência de G6PD geral e de acordo com sexo da criança

Sexo	Realizaram triagem de deficiência de G6PD	Apresentaram testes de triagem alterados*	Confirmaram deficiência de G6PD	Prevalência (IC95%)
Masculino	1795	122	60	3,34% (2,58% - 4,25%)
Feminino	1778	66	3	0,17% (0,04% - 0,46%)
Total	3573	188	63	1,76% (1,37% - 2,24%)

* Considerados só os que colheram exame confirmatório

Chama a atenção o elevado percentual de falso-positivo no exame feito na etapa de triagem: de 188 crianças com atividade de G6PD $\leq 2,6$ U/g Hb, apenas 63 crianças confirmaram a deficiência enzimática (33,5%). Desta forma o percentual de falso-positivo foi de 66,5%. A tabela 8 apresenta a distribuição de falso-positivos por município: em Cuiabá foi de 67,7%, em Várzea Grande de 33,3% e em Rondonópolis de 80,6%.

Tabela 8 – Distribuição das crianças inicialmente triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD, de acordo resultados obtidos no exame confirmatório, nos três municípios Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis. Confirmação de deficiência de G6PD - segunda avaliação da atividade de G6PD $\leq 2,6$ U/g Hb.

Município de coleta do TP	Deficiência de G6PD confirmada (%)	Deficiência de G6PD não confirmada (%)	TOTAL
Cuiabá	31 (32,3)	65 (67,7)	96
Várzea Grande	20 (66,7)	10 (33,3)	30
Rondonópolis	12 (19,4)	50 (80,6)	62
TOTAL	63 (33,5)	125 (66,5)	188

$\chi^2 = 20.44$; Df(2); $p < 0.001$

A diferença no percentual de falso-positivo pode ser explicada pelas condições de transporte das amostras: Cuiabá não aderiu às recomendações de transporte em caixas térmicas; Rondonópolis apresentou o maior tempo entre coleta do exame e o envio da amostra para o laboratório de Serviço de Referência, denominado como "tempo de retenção".

Esse "tempo de retenção" foi: em Rondonópolis - 6,4 dias em média (variância = 36,20; mediana = 3; intervalo de 1 a 30 dias); em Cuiabá - 3,2 dias em média (variância = 6,01; mediana = 2; intervalo de 0 a 12 dias), e em Várzea Grande - a média foi de 3,1 dias (variância = 5,96; mediana = 3; intervalo de 0 a 12 dias).

A orientação era de que o tempo de retenção não deveria ser superior a cinco dias. Distribuindo o tempo de retenção em duas categorias - igual ou menor que cinco dias e maior que cinco dias, encontramos que houve diferença significativa em função do município de coleta. Várzea Grande foi o município que melhor aderiu às recomendações para envio das amostras e apresentou o menor tempo de retenção, sendo o município com menor número de falso-positivos na avaliação da atividade de G6PD na amostra do teste do Pezinho. Cuiabá apresentou tempos de retenção semelhantes ao de Várzea Grande, mas foi o único município que não aderiu às recomendações de transporte das amostras, agravado pelo fato de que 30% (29/96) das amostras tiveram tempo de retenção superior a cinco dias. Rondonópolis, por outro lado, aderiu às recomendações de transporte das amostras, mas apresentou o maior tempo de retenção, sendo o município com maior percentual de falso-positivos para deficiência de G6PD (Tabela 9).

Tabela 9 – Tempo de retenção das amostras - tempo decorrido entre a coleta do Teste do Pezinho e a chegada da amostra ao laboratório de referência em Cuiabá, nos três municípios Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis.

Município de coleta do Teste do Pezinho	Tempo de retenção		TOTAL
	≤ 5 dias	> 5 dias	
Cuiabá	67	29	96
Várzea Grande	27	3	30
Rondonópolis	36	26	62
TOTAL	130	58	188

$$\chi^2 = 9.70; Df(2); p = 0.0078$$

Resultados

Tabela 10 – Crianças com exames de triagem para deficiência de G6PD alterados, separadas de acordo com o exame confirmatório em dois grupos: deficiência confirmada e não confirmada. Idade na coleta do Teste do Pezinho e Tempo entre chegada da amostra e realização da avaliação da atividade de G6PD no laboratório de referência em Cuiabá.

Variável	Deficiência de G6PD confirmada (%)	Deficiência de G6PD não confirmada (%)	TOTAL (%)	p
Idade na coleta do Teste do Pezinho				
< 7 dias	12 (19,0%)	30 (24,0%)	42 (22,3%)	0,33 ¹
7 - 14 dias	29 (46,0%)	64 (51,2%)	93 (49,5%)	
> 14 dias	22 (34,9%)	31 (24,8%)	53 (28,2%)	
Tempo entre chegada da amostra e dosagem de G6PD				
≤ 2 dias	40 (63,5%)	90 (72,0%)	130 (69,1%)	NS
3 - 5 dias	20 (31,7%)	33 (26,4%)	53 (28,2%)	
6 dias	3 (4,8%)	2 (1,6%)	5 (2,7%)	

¹ $\chi^2 = 2.21$; Df(2) NS - estatisticamente não significativo

Analisando-se outras variáveis do programa de triagem neonatal, observa-se que:

(a) em relação à Idade na coleta do Teste do Pezinho – apesar da recomendação ser de coleta na primeira semana de vida, apenas 22,3% das crianças colheu o Teste do Pezinho nesse período (Tabela 10).

(b) em relação ao tempo entre chegada da amostra ao laboratório e avaliação da G6PD - a média foi de 1,9 dias (IC 95% de 1,67 - 2,18) com mediana de um dia. Apenas em cinco crianças esse tempo foi de seis dias, mas não houve influência deste tempo nos resultados (Tabela 10).

No período de estudo, entre as crianças triadas - quatro apresentaram TSH maior ou igual a 5UI/ μ L: duas meninas que não confirmaram a deficiência de G6PD (uma com TSH de 8,9 e outra de 5,1) e dois meninos que confirmaram deficiência de G6PD - um com TSH de 5,36 e outro de 5,40, sendo mantidos em acompanhamento ambulatorial. Nenhuma criança apresentou fenilcetonúria.

Em relação à triagem de hemoglobinopatias, entre as crianças com deficiência de G6PD confirmada, encontramos uma portadora de traço de hemoglobina S, uma com traço de hemoglobina C e uma com doença falciforme - SC. Entre as crianças que não confirmaram a deficiência de G6PD, uma tinha

Resultados

traço de hemoglobina C, cinco tinham traço de hemoglobina S e uma tinha doença falciforme - SC.

Em 182 crianças foi possível obter a informação de idade na alta da maternidade (informação não disponível para uma criança em processo de adoção, em três porque o acompanhante não soube informar, em duas por terem nascido em casa). A alta foi dada com um dia de vida em 37,9% das crianças, sendo que uma maternidade (hospital filantrópico) foi responsável por 71% dessa alta muito precoce. Analisando-se o grupo de crianças que confirmaram deficiência de G6PD, 26 tiveram alta com um dia de vida (41,3%) e 16 (25,4%) com dois dias de vida. Em relação a peso de nascimento e classificação da adequação do peso para a idade gestacional, não houve diferença entre as crianças que confirmaram e as que não confirmaram deficiência de G6PD (Tabelas 11 e 12).

Tabela 11 – Crianças com exames de triagem para deficiência de G6PD alterados, separadas de acordo com o exame confirmatório em dois grupos: deficiência confirmada e não confirmada. Distribuição de dados neonatais.

Variável	Deficiência de G6PD confirmada	Deficiência de G6PD não confirmada	TOTAL	p
Idade na alta da maternidade*				
≤ 24 horas	26	43	69	0,55
25 - 48 horas	16	40	56	
≥ 48 horas	21	39	60	
Peso de Nascimento				
≤ 2500 g	4	4	8	0,44**
>2500 g	59	120	179	
Classificação Peso/Idade Gestacional				
AIG	53	110	163	0,63
PIG	5	6	11	
GIG	5	8	13	

* Dados não disponíveis em todos: parto domiciliar / processo de adoção

**Teste de Fisher

Tabela 12 – Idade na alta da maternidade, em função da maternidade de nascimento.

Maternidade	IDADE NA ALTA DA MATERNIDADE			Total
	1 dia de vida	2 dias de vida	> 2 dias	
Particular	18	3	1	22
Publica/filantrópica	1	23	34	58
Filantrópica X	49	20	10	79
Hosp. Universitário	1	9	13	23
TOTAL	69	55	58	182

Não houve diferença quanto ao histórico de consanguinidade dos pais, de transfusão em familiares ou uso de fototerapia. Nenhuma criança avaliada apresentou esplenomegalia. No entanto houve diferença em relação à história de anemia em familiares e de icterícia neonatal, sendo a história de anemia na família presente em 23,8% nas crianças com deficiência enzimática e em 13,7% nas que não confirmaram (tabela 13).

Uma criança com deficiência de G6PD confirmada apresentava quadro de encefalopatia bilirrubínica crônica.

Tabela 13 – Dados de história clínica das crianças triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD, confirmada e não confirmada na etapa de exames confirmatórios.

Variável	G6PD Deficiente (n = 63)	Sem deficiência enzimática (n=124 ¹)	Total (n=187)	P
Pais consanguíneos	2 (3,2%)	2 (0,9%)	4	0,60 ²
Anemia em familiares	35 (55,6%)	50 (40,3%)	85	0,05
Transfusão em familiares	15 (23,8%)	17 (13,7%)	32	0,08
Icterícia neonatal	39 (61,9%)	54 (43,5%)	93	0,02
Fototerapia	5 (7,9%)	6 (4,8%)	11	0,51 ²
Encefalopatia bilirrubínica	1 (1,6%)	0	1	-

¹ Uma criança sem informações, em processo de adoção

² Teste de Fisher

Analisando-se os hemogramas, utilizando como valores de referência para a idade propostos os propostos em Orkin et al. (2009), observamos que não houve diferença entre contagem de leucócitos, de neutrófilos, concentração de hemoglobina e contagem de reticulócitos entre as crianças que confirmaram e as que não confirmaram deficiência de G6PD. Mas em relação ao hematócrito, foi significativamente mais baixo nas crianças com deficiência de G6PD confirmada (Tabela 14) ¹⁰⁵.

Resultados

Tabela 14 – Análise de parâmetros do hemograma das crianças que confirmaram e das que não confirmaram deficiência de G6PD - valores de referência para a idade ¹⁰⁵.

Parâmetro avaliado no hemograma		Deficiência de G6PD confirmada (%) n=63	Deficiência de G6PD não confirmada (%) n = 100*	Total	p
Contagem de leucócitos (leucócitos/mm ³)	Dentro do intervalo de referência/idade	57 (90,5%)	96 (96%)	153	0,26 ¹
	Leucopenia	5 (7,9%)	3 (3%)	8	
	Leucocitose	1 (1,6%)	1 (1%)	2	
Contagem de neutrófilos (neutrófilos/mm ³)	Dentro do intervalo de referência/idade	48 (76,2%)	85 (85%)	133	$\chi^2=2,00$ Df(1) 0,16 ²
	Neutropenia	15 (23,8%)	15 (15%)	30	
	Neutrofilia	0	0	00	
Hemoglobina (g/dL)	Dentro do intervalo de referência/idade	51 (80,9%)	85 (85%)	136	$\chi^2=0,46$ Df(1) 0,50
	Abaixo da referência	12 (19,1%)	15 (15%)	27	
Hematócrito (%)	Dentro do intervalo de referência/idade	38 (60,3%)	78 (78%)	116	$\chi^2=5,56$ Df(1) 0,02
	Abaixo da referência	25 (39,7%)	22 (22%)	47	
Reticulócitos (%)	0 - 1%	25	29	51	$\chi^2=3,11$ Df(3) 0,37
	1,1 - 2%	16	35	51	
	2,1 - 3,0	16	24	40	
	> 3%	5	12	17	

* Das 125 crianças com deficiência de G6PD não confirmada, 100 colheram hemograma

¹ Diferença entre normalidade e leucopenia - Teste de Fisher² Diferença entre normalidade e neutropenia

Em relação à pesquisa de mutações, nenhuma criança apresentou a mutação C563T. No entanto, em 58 das 63 crianças com deficiência de G6PD foi detectada presença da mutação G202A: 56 meninos em hemizigose e duas meninas em homozigose. Não foi encontrada na amostra analisada nenhuma menina em heterozigose. Entre as crianças com deficiência de G6PD que não apresentaram nenhuma das duas mutações estudadas, quatro eram do sexo masculino e uma do sexo feminino.

A prevalência da mutação G202A (IC 95%) foi de 92,06% (83,29%; 97,03%).

Entre as crianças com deficiência de G6PD confirmada uma apresentava sinais de encefalopatia bilirrubínica no momento da coleta do exame confirmatório, um menino, portador da Mutação G202A em hemizigose. Foi internado com sete dias de vida já com sinais neurológicos e bilirrubina de 30,35 mg/dL. Irmão gêmeo, sem icterícia, sem deficiência de G6PD.

Na tabela 15 são apresentados dados da pesquisa da mutação G202A em relação a sexo da criança, município, dados clínicos e de hemograma.

Resultados

Tabela 15 – Distribuição das crianças com deficiência de G6PD de acordo com a pesquisa da mutação G202A, município de procedência, sexo, variáveis de hemograma, icterícia neonatal e fototerapia.

Variável	Mutação G202A			Total (n=63)
	Ausente (n=5)	Hemizigose (n=56)	Homozigose (n=2)	
Município de procedência				
Cuiabá	2	28	1	31
Várzea Grande	1	19	0	20
Rondonópolis	2	9	1	12
Sexo				
Masculino	4	56	0	60
Feminino	1	0	2	3
Cor/Etnia				
Branca	0	13	0	13
Afrodescendentes	5	42	2	49
Indígena	0	1	0	1
Reticulócitos (%)				
0 - 2,0%	4	21	0	25
2,1 a 3,0%	1	14	1	16
> 3,0%	0	20	1	21
Hematócrito (%)				
Dentro da referência/idade	4	33	1	38
Abaixo da referência/idade	1	23	1	25
Hemoglobina (g/dL)				
Dentro da referência/idade	5	45	1	51
Abaixo da referência/idade	0	11	1	12
Icterícia				
Sim	3	34	2	39
Não	2	22	0	24
Fototerapia				
Sim	0	5	0	5
Não	5	51	2	58
Encefalopatia bilirrubínica				
Sim	0	1	0	1
Não	5	55	2	59

6 DISCUSSÃO

É cada vez maior o número de doenças que vêm sendo incluídas na estratégia da triagem neonatal universal, com o objetivo de se obter diagnóstico precoce possibilitando a redução da morbidade e mortalidade. No entanto trabalhos devem ser realizados para que o real benefício com esta metodologia de pesquisa diagnóstica seja estabelecido para uma determinada doença triada e numa determinada região.

Kaltman et al. (2013) discutem em editorial que muitas das triagens que vêm sendo propostas não reduzem mortalidade ou o fazem de forma muito modesta e muitas não dispõem de dados sobre seu real benefício. Que embora seja intuitivo pensar que é sempre melhor fazer o diagnóstico precoce é necessário avaliar a consequência dos resultados falso-positivos com a estratégia da triagem universal ¹⁰⁶.

Exemplificando a importância de estudos da natureza da presente pesquisa, o Ministério Público Federal em São Paulo ingressou em 2012 com uma ação civil pública de obrigação de fazer contra a União Federal e o estado de São Paulo para a inclusão da dosagem de G6PD no programa de triagem neonatal do estado (Ref. 8.^a Vara da Justiça Federal em São Paulo Processo N.º 0010114-89.2012.403.6100)¹. Os promotores públicos usaram como justificativa o fato de que

[...] a deficiência de G6PD poderia causar anemia hemolítica e, em casos extremos, dano neurológico permanente ou até a morte se os portadores ingerissem alguns alimentos, como feijão de fava ou medicamentos, como antibióticos, analgésicos e sulfonas.

Não dispunham de dados objetivos nacionais para balizamento de decisão.

Assim tem-se de um lado o conhecimento de que a maior parte das pessoas com deficiência hereditária dessa enzima não têm anemia e nunca apresentarão hemólise significativa durante suas vidas¹³. Por outro lado, a

¹ <http://www.jfsp.jus.br/assets/Uploads/administrativo/NUCS/decisoes/2012/120628testepezinho.pdf>

preocupação crescente com o risco de crianças com deficiência enzimática desenvolverem encefalopatia bilirrubínica, já que é conhecido o elevado percentual de deficiência de G6PD entre as crianças com *Kernicterus*⁷²⁻⁷⁴.

Por este motivo a avaliação da deficiência de G6PD foi realizada dentro do contexto da triagem neonatal estabelecida no estado de Mato Grosso, procurando avaliar não só a prevalência da doença numa determinada região do estado, mas também avaliar o processo dessa triagem enquanto triagem universal, nas condições operacionais locais, com coleta de sangue em papel filtro na unidade de saúde, tempo e forma de armazenamento dessas amostras nas unidades e condições de transporte para a realização do exame no laboratório de referência, fornecendo subsídios para embasamento de decisões no planejamento de estratégias para minimizar danos em relação à deficiência de G6PD e racionalizar a aplicação de recursos financeiros e humanos.

Para melhor controle de todas as etapas da triagem neonatal, foram selecionados três dos 161 municípios do estado de Mato Grosso para o desenvolvimento do estudo: Cuiabá, Várzea Grande e Rondonópolis.

Estes três municípios foram selecionados porque juntos ocupam pouco menos que 1% da área total do estado, mas compreendem 32,9% dos nascidos vivos em Mato Grosso. A distância máxima entre estes municípios e o serviço de referência é de aproximadamente 212 Km, facilitando acesso de exames e famílias a esse serviço. Juntos somam 54% dos postos de coleta do estado, o que permitiria estruturar melhor a busca ativa de crianças com exames alterados. Trabalhar com apenas três municípios também facilitaria o estabelecimento de regras para armazenamento e transporte de amostras, com a utilização de caixas de isopor e gelo em gel, com controle de temperatura de armazenamento e transporte, distâncias menores no transporte de amostras, tentando minimizar a possibilidade de falso-positivos.

O ponto de corte para triagem de deficiência da atividade enzimática - atividade menor ou igual a 2,6 U/g Hb, também foi escolhido buscando atender as recomendações da OMS: "só se justifica triar uma doença se há reais benefícios com a triagem"¹. Considerando como limite inferior de atividade normal de G6PD o valor de 9 U/g Hb para homens e de 9,5 U/g Hb para mulheres⁸¹, uma atividade de 2,6 U/g de Hb representaria atividade de 27 a 29% da atividade normal. O

objetivo dos testes de triagem é de selecionar crianças com atividade residual <20% da atividade normal ⁴⁶. Considerando que a maioria das crianças com deficiência de G6PD permanecerá assintomática durante suas vidas, seleção de crianças com atividade enzimática residual mais elevada não justificaria todo o desgaste com deslocamento de famílias para coleta de exames confirmatórios, angústia dos pais com uma doença de difícil compreensão, com risco de rotular crianças saudáveis como “doentes” colocando-as em risco de “medicalização” desnecessária.

No Brasil a prevalência desta deficiência enzimática tem sido bem variável de acordo com a região e metodologia de triagem. Na tabela 16 são condensados dados de pesquisas sobre deficiência de G6PD no Brasil.

Compri et al. (2000) encontraram prevalência de deficiência de G6PD de 1,7% estudando 4.621 amostras de doadores de sangue em Bragança Paulista (SP) ³⁹.

No Rio Grande do Sul, medindo atividade enzimática em material colhido para o Teste do Pezinho, sem realização de um segundo exame, foi observada prevalência total de 7,9%, sendo 6,4% com deficiência intermediária, com atividade enzimática entre 2 e 6 U/g Hb, e de 1,4% de deficiência grave, com atividade < 2 U/g Hb ⁹⁷.

Em Porto Alegre/RGS, Carvalho et al. (2011) em estudo do tipo caso-controle, estudando 490 recém-nascidos no Hospital de Clínicas, encontraram uma prevalência de deficiência de G6PD de 5,5% entre 243 crianças com icterícia e de 3,7% entre 247 crianças sem icterícia ¹⁰⁷.

No Distrito Federal, em triagem realizada em 7257 recém-nascidos de janeiro de 2007 a janeiro de 2010, foram detectadas 57 crianças com deficiência confirmada de G6PD – prevalência de 0,8%. Os autores também encontraram elevado percentual de falso-positivo na etapa de triagem - 75,85%. Concluíram que elevadas temperaturas, condições de acondicionamento das amostras e transporte podem ter influenciado nesse elevado percentual de falso-positivo ⁹⁸.

Nicolielo et al. (2006) estudando 2657 amostras de sangue colhidas no laboratório de análises clínicas da Universidade do Sagrado Coração, Bauru/SP de indivíduos do sexo masculino, encontraram uma prevalência de deficiência de G6PD de 3,6%. Discutem que no Brasil, entre homens de ascendência africana, a

prevalência da deficiência de G6PD estaria em torno de 10% enquanto que para homens de ascendência caucasiana entre 1 e 3%¹⁰⁰.

Tabela 16 – Estudos sobre deficiência de G6PD no Brasil com prevalências encontradas

Local do estudo	Amostra estudada	Prevalência encontrada	Autor, ano publicação
Manaus/AM	Homens, Comunidade Ismail Aziz / n = 200	3%	Santana et al., 2009 ⁹¹
Natal/RN	Sangue de cordão n = 204	3,9%	Iglessias et al., 2010 ⁹⁹
Bauru/SP	Amostras laboratoriais de homens / n = 2657	3,6%	Nicolielo et al., 2006 ¹⁰⁰
Bragança Paulista/SP	Doadores de sangue, homens / n = 4621	1,7 %	Compri et al., 2000 ³⁹
Brasília/DF	RN – triagem neonatal n = 7257	0,8% (confirmada por 2º teste)	Santos et al., 2010 ⁹⁸
Rio Grande do Sul/RS	RN – triagem neonatal universal n = 2251	7,9 % (1,4% < 2,0 U/gHb 6,4% de 2 a 6 U/g Hb)	Castro et al., 2006 ⁹⁷
Porto Alegre / RS	Caso/controle n = 490	5,5% no grupo Icterícia 3,7% nos sem icterícia	Carvalho et al., 2011 ¹⁰⁷
Mato Grosso (Cuiabá, Rondonópolis e Várzea Grande)	RN – triagem neonatal universal n = 3636	1,76%* (ponto de corte < 2,6 U/g Hb)	Presente pesquisa

* 3,34% em meninos / 0,17% em meninas

No presente estudo a prevalência global da deficiência de G6PD (IC95%) foi de 1,76% (1,37; 2,24), sendo de 3,34% em meninos (2,58; 4,25) e de 0,17% em meninas (0,04; 0,46). A prevalência global observada é quase duas vezes maior do que a de Brasília e próxima da encontrada em Manaus¹⁰⁸.

Este cálculo de prevalência foi baseado nas crianças que completaram a etapa de confirmação diagnóstica. Vinte e sete crianças, triadas como possíveis portadoras de deficiência de G6PD, não colheram exame confirmatório, tendo sido consideradas como perdas.

Para avaliar possível influência dessa perda na prevalência encontrada, analisamos a distribuição dessas crianças triadas e que não completaram a etapa de confirmação (Anexo C). Observou-se que a atividade enzimática média nos exames de triagem foi de 1,44 U/g Hb (variância de 0,24; DP = 0,50) para as

crianças que posteriormente confirmaram a deficiência de G6PD e de 1,85 U/g Hb (variância de 0,36; DP = 0,60) para as que não confirmaram. Para aquelas que não retornaram para confirmação (perdas) a atividade enzimática média foi de 1,58 U/g Hb (variância de 0,43; DP = 0,7). Este comportamento intermediário provavelmente reflete o fato que entre as crianças perdidas havia algumas com e outras sem deficiência de G6PD.

Entre as 27 crianças nas quais não foi possível colher exame confirmatório, 13 eram meninas e 14 eram meninos. Como o percentual de confirmação em meninos foi de 53,6% e de 4,5% em meninas, possivelmente teríamos perdido de sete a oito meninos e de nenhuma a uma menina. Isto elevaria a prevalência de deficiência enzimática para no máximo nove crianças (o que representaria 33,3% das crianças perdidas portadoras de deficiência enzimática), ou seja, 72 crianças entre as em 3573 triadas. A prevalência assim seria de 2%. Considerando-se só o sexo masculino, a prevalência seria de 69/1795 - 3,84%. Estes valores estão compreendidos no intervalo de confiança de 95% das prevalências observadas.

Por conta do risco de anemia hemolítica aguda grave desencadeada pelo uso de primaquina em indivíduos com deficiência de G6PD ⁵⁷, a OMS (1989) já havia recomendado a triagem da deficiência enzimática em áreas onde a prevalência dessa deficiência enzimática for superior a 3 - 5% ³⁴.

O encontro de uma prevalência em meninos de 3,34% (IC95% 2,58; 4,25) sugerem que a recomendação da triagem de deficiência de G6PD antes do início do uso de primaquina deva ser considerada em Mato Grosso.

Monteiro et al. (2014) apresentaram estudo das complicações clínicas da deficiência de G6PD na população da América Latina e Caribe e suas implicações para a eliminação da malária. Discutem o problema da restrição ao uso de primaquina em pacientes com malária, principalmente no controle da transmissão por *P. vivax*, que exige tratamento com a droga por 7 dias, reforçam que a frequência de hemólise em pacientes com deficiência de G6PD é de quase 90%. Que de 39 estudos que avaliaram anemia hemolítica aguda na América Latina, 34 relacionaram a primaquina com esta reação, sendo 23/47 casos relatados no Brasil (48,9% dos casos). A reação hemolítica à Primaquina só foi descrita em homens. A letalidade foi de 4,3% sendo os dois casos de óbito descritos no Brasil.

Alertam para o fato de que o diagnóstico e a letalidade provavelmente estão subavaliados porque não é fácil levantar a suspeita de reação hemolítica aguda num paciente com malária e em muitos locais da América Latina onde a malária é prevalente, o diagnóstico e o tratamento são feitos principalmente por técnicos. Somada à dificuldade no diagnóstico, há a dificuldade na publicação e divulgação dos dados quando o diagnóstico chega a ser feito ¹⁰⁹.

Assim, considerando a prevalência de deficiência de G6PD em meninos e a gravidade que pode envolver a reação hemolítica aguda quando é indicado o uso de primaquina, principalmente em esquemas com doses repetidas, a triagem da deficiência de G6PD deveria ser feita em meninos antes do uso de primaquina. O ideal é que fossem disponibilizados testes de fácil aplicação nas condições de campo. A identificação de meninos em risco de reação hemolítica com uso de primaquina permitiria a avaliação de outra possibilidade terapêutica.

Giovelli et al. (2007) compararam o teste de redução da meta-hemoglobina (Método de Brewer) com a determinação da atividade enzimática por método quantitativo de normalização de hemoglobina, considerando deficiência atividade enzimática $\leq 7,7$ U/g Hb. A sensibilidade do método de Brewer foi de 92,8% e a especificidade de 86,7%. O valor preditivo positivo foi de 86,7% e o valor preditivo negativo de 99%. Assim o teste de Brewer pode ser uma alternativa interessante para avaliação da deficiência de G6PD em locais com laboratórios mais simples ⁸⁷.

Em São Paulo, São José do Rio Preto, Onde et al. (2009) avaliando 544 amostras de sangue, 4,96% apresentava deficiência de G6PD. Nenhum havia apresentado crise hemolítica. A variante G6PD A- foi encontrada em 81,14% dos indivíduos com deficiência enzimática ¹¹⁰.

Carvalho et al. (2011) no Rio Grande do Sul, identificou a variante G6PD A- em 63,6% dos recém-nascidos com deficiência enzimática ¹⁰⁷.

Nos três municípios de Mato Grosso 92% (IC95%: 83,3-97,0) das crianças com deficiência de G6PD eram portadoras da mutação G202A, variante G6PD A-, prevalência superior à observada em outras regiões do Brasil. Nossos achados são concordantes com o mapeamento feito por Howes et al. (2013), que encontraram pouca diversidade de variantes no continente americano, com nítido predomínio da variante G6PD A- ⁴⁵.

A variante Mediterrâneo, segunda mais frequente, não foi identificada em nenhuma criança da região.

No presente trabalho não foi possível associar a deficiência enzimática com cor ou etnia da criança, mas chamou a atenção o fato de uma criança de etnia indígena ter tido o diagnóstico de deficiência de G6PD com identificação da mutação G202A em hemizigose. Saldanha et al. (1976) já haviam feito pesquisa de deficiência de G6PD em população indígena. Estudaram 154 índios do Alto Xingú - Mato Grosso. Não foi identificado nenhum caso de deficiência enzimática. Discutem inclusive se a aparente associação entre deficiência de G6PD e proteção contra a malária não seria "um acidente estatístico". A identificação na presente casuística de um menino com deficiência enzimática portador da mutação G202A, presente inclusive numa criança de etnia indígena, provavelmente está associada à grande miscigenação na constituição do povo brasileiro ¹¹¹.

Neste trabalho, o percentual de falso positivo foi de 66,5%, inferior do observado no Distrito Federal, mas ainda assim elevado, apesar de todos os cuidados com orientações sobre armazenamento das amostras e transporte, foi elevado o percentual de resultados falso-positivos no exame realizado no "Teste do Pezinho". Rondonópolis, município distante cerca de 200 Km do laboratório de referência, chegou a apresentar percentual de falso positivo foi de 80,6%, expondo a dificuldade de se introduzir a triagem universal dessa deficiência enzimática dentro do programa de triagem neonatal estadual, onde a grande maioria dos municípios fica a uma distância maior que 200 Km do serviço de referência e as temperaturas são elevadas a maior parte do ano. Condições climáticas e as grandes distâncias elevam o percentual de resultados falso-positivos a níveis inaceitáveis para um programa de triagem universal. Um teste de triagem não deve ter elevado percentual de resultado falso-positivo, a não ser que o benefício do diagnóstico precoce supere todas as dificuldades impostas com essa baixa especificidade.

A inclusão de teste com elevado percentual de falso-positivo dentro da estratégia da triagem universal traz, como consequência, a seleção de um grande número de crianças e famílias para busca ativa, saudáveis. Isto gera custos aos municípios, risco para as famílias durante transporte em estradas precárias, faltas

ao trabalho dos pais para acompanhamento, sobrecarregando todas as pessoas envolvidas no processo de busca ativa, exigindo grande controle e avaliação de todos os passos para cada criança reconvocada.

Desta forma, exames de triagem falsamente alterados podem influenciar negativamente na busca ativa de outras patologias triadas que têm exames de maior acurácia e valor inquestionável do procedimento de triagem.

O encontro de um elevado percentual de crianças que colheram o teste do pezinho depois da primeira semana de vida precisa ser melhorado no programa de triagem neonatal local. No entanto, mesmo com um programa de triagem idealmente estruturado, recomenda-se a coleta seja realizada entre o terceiro e o quinto dia de vida, que o tempo de armazenamento da amostra seja de até cinco dias e que os resultados sejam liberados em até cinco dias depois da chegada da amostra ao laboratório. Dessa forma, os tempos entre coleta e resultado não são inferiores há sete dias. Isto não permite o diagnóstico em tempo oportuno para a redução do risco de encefalopatia bilirrubínica.

Não foi possível identificar diferença em relação à contagem de reticulócitos, concentração de hemoglobina, leucócitos e neutrófilos entre as crianças com e sem deficiência enzimática. Só o hematócrito foi significativamente inferior nas crianças com deficiência enzimática. Mesmo assim 60,3% das crianças com deficiência de G6PD tinham hematócrito dentro dos valores de referência para a idade. Isto está de acordo com a mutação predominante na região, de menor risco para crises hemolíticas, mas também pode refletir a coleta relativamente precoce dos exames, ainda com pouca oportunidade de exposição a drogas ou eventos possivelmente desencadeadores de hemólise.

A história de anemia em familiares foi mais frequente nas crianças com deficiência de G6PD, o que poderia estar relacionado ao caráter hereditário da mutação, embora isto não tenha sido avaliado. No entanto, não houve associação com história de transfusão em familiares, o que está de acordo com a mutação prevalente na região, de menor morbidade.

Foi observada a associação de doença falciforme e deficiência de G6PD em uma criança. Warsy, 1985 já havia chamado a atenção de que na Arábia Saudita esta associação entre doença falciforme e deficiência de G6PD foi maior

que a esperada ¹¹². Ainda não há consenso sobre a interação entre deficiência de G6PD e doença falciforme. Alguns pesquisadores apontam para um possível efeito protetor, como Ahmed e Ibrahim (2002) que observaram menor frequência de fenômenos veno-oclusivos nos paciente com doença falciforme quando apresentavam também deficiência de G6PD ¹¹³. Outros, como Saad e Costa (1992) que avaliaram esta associação em Campinas - Brasil, estudando sete indivíduos com doença falciforme e deficiência de G6PD, não encontraram diferença na evolução clínica e laboratorial da associação das duas condições ¹¹⁴. Já outros, como Benkerrou et al. (2013), estudando crianças triadas na triagem neonatal, observaram que aquelas com diagnóstico de doença falciforme e deficiência de G6PD tiveram menores níveis de hemoglobina no estado basal e maiores contagens de reticulócitos. O número de transfusões também foi maior na presença da associação das duas doenças do que nas crianças que apresentavam apenas doença falciforme (72% x 46%, respectivamente). Não foram encontradas diferenças em relação à taxa fenômenos vaso-oclusivos, de infecções ou de eventos cerebrovasculares. As diferenças só foram vistas no primeiro ano de vida. Concluíram que a associação de deficiência de G6PD doença falciforme aumentava risco de anemia e necessidade de transfusão de sangue no primeiro ano de vida ¹¹⁵.

De qualquer forma esta associação deve ser pesquisada e estudada, já que a concomitância dessas doenças pode atuar de forma benéfica – crianças com doença falciforme tendem a ter maior proporção de hemácias mais jovens que têm maior atividade de G6PD – efeito protetor, mas estão mais sujeitas ao estresse oxidativo, tanto pelo maior risco de infecções, como pelo uso de drogas, com maior risco de hemólise atribuível à deficiência enzimática – efeito negativo. O que ocorre de fato deve ainda ser avaliado e monitorado para melhor entendimento.

Analisando-se a associação entre história de icterícia neonatal e indicação de fototerapia, observou-se que o relato de icterícia neonatal foi significativamente mais frequente entre as crianças com deficiência enzimática, mas não houve diferença em relação a indicação de fototerapia. Estes dados são preocupantes quando se observa que 66,7% das crianças com deficiência de G6PD tiveram alta da maternidade com até 48 horas de vida, sendo que em

41,3% essa alta aconteceu nas primeiras 24 horas de vida, porque o pico da hiperbilirrubinemia nas crianças com deficiência de G6PD costuma acontecer depois desse período. Assim muitas dessas crianças tiveram seus picos de hiperbilirrubinemia em casa, muitas vezes distantes de olhos treinados em avaliar sua intensidade, vulneráveis ao dano neurológico.

Uma criança apresentou encefalopatia bilirrubínica – prevalência de 1:3.573 crianças triadas e de 1/63 crianças com deficiência de G6PD, prevalência de 1,6% (IC95%: 0,08-7,58), sendo esta criança portadora da mutação G202A. Como a triagem neonatal universal não se mostrou eficaz para a prevenção desta morbidade outras estratégias devem ser pensadas.

Estando o risco de Kernicterus associado à hiperbilirrubinemia, principalmente na primeira semana de vida, medidas como garantia de consulta de retorno na rede de saúde entre o terceiro e o quinto dia de vida, treinamento dos que atendem crianças na observação clínica da icterícia, já que na rede de atenção básica à saúde muitas vezes a avaliação desses recém-nascidos não é feita por pediatras, facilitação do acesso à dosagem de bilirrubinas, permitindo classificação de risco mais objetiva e facilitação do acesso à avaliação da atividade de G6PD minimizariam o risco da encefalopatia associada a qualquer causa de hiperbilirrubinemia, inclusive a deficiência de G6PD.

Avaliação da atividade de G6PD em grupos específicos tais como: recém-nascidos com hiperbilirrubinemia fora dos padrões fisiológicos, crianças com anemias hemolíticas de outras etiologias ou com quadro de anemia hemolítica de causa indeterminada e em meninos com indicação do uso de primaquina ou dapsona por tempo prolongado, identificariam de forma mais objetiva e racional crianças de maior risco para reações hemolíticas agudas associadas à deficiência enzimática, permitindo orientação da família quanto as medidas que podem reduzir este risco, como o de evitar uso de medicamentos e alimentos relacionados com esses quadros hemolíticos.

Uma possível limitação da pesquisa foi a incapacidade de se conseguir identificar meninas heterozigotas, sugerindo que ou a metodologia empregada ou o ponto de corte estabelecido não foram capazes de identificar essas meninas - falso negativo. Isto pode levar a uma subestimação da prevalência global de deficiência de G6PD. No entanto a menina heterozigota podem não ter a mesma

morbidade e risco que o menino em hemizigose. Tanto que Monteiro et al (2014) não encontraram nenhuma mulher com deficiência de G6PD com reação hemolítica na America Latina e Caribe¹⁰⁹.

7 CONCLUSÕES

- A prevalência total encontrada de deficiência de G6PD nos três municípios estudados foi de 1,7% (IC95%: 1,37 - 2,24);
- A única mutação encontrada foi a G202A, presente em 92% das crianças com diagnóstico de deficiência enzimática, uma mutação de classe III, que em geral é de menor morbidade;
- A prevalência em meninos foi de 3,34% (IC95%: 2,58 - 4,25), enquanto que em meninas foi de 0,17% (IC95%: 0,04 - 0,46), o que sugere que em Mato Grosso é necessário triar a deficiência de G6PD em um grupo específico de risco - em indivíduos do sexo masculino, em qualquer idade, antes do uso de primaquina;
- Foram poucas as meninas identificadas com deficiência de G6PD e não houve nenhuma com mutação em heterozigose. Isto chama a atenção para a hipótese de que a metodologia empregada na triagem e/ou ponto de corte estabelecido não sejam adequados para a triagem de meninas heterozigotas (falso-negativo);
- Foi elevado o percentual de resultado falso-positivo no exame realizado na etapa de triagem, chegando a ser de 80,6% no município de Rondonópolis, distante pouco mais de 200 Km do laboratório de referência. Isto expõe uma das dificuldades de se introduzir a triagem universal dessa deficiência enzimática no programa estadual de triagem neonatal;
- O encontro de uma criança com Kernicterus em 63 crianças com deficiência de G6PD chama a atenção para o fato de que a deficiência de G6PD representa um fator de risco para essa encefalopatia no estado.
- A observação de que crianças com deficiência de G6PD apresentaram maior frequência de icterícia neonatal e que 41,3% dessas crianças tiveram alta com 24 horas ou menos de vida, alerta para o risco de dano neurológico associado à hiperbilirrubinemia nesta região, sendo este risco pouco conhecido e valorizado, devendo ser considerado no planejamento do atendimento ao recém-nascido após alta da maternidade;

- A preocupação com a encefalopatia bilirrubínica no estado de Mato Grosso é pertinente. Isto chama a atenção para a necessidade de se discutir estratégias para minimizar esse risco, como:
 - Garantia de consulta de retorno na rede de saúde entre o terceiro e o quinto dia de vida;
 - Educação permanente das equipes responsáveis pelo atendimento de recém-nascidos na atenção básica na observação clínica da icterícia;
 - Facilitação do acesso à dosagem de bilirrubinas, permitindo classificação de risco mais objetiva;
 - Facilitação do acesso à avaliação da atividade de G6PD diante de crianças com icterícia neonatal.

- Em resumo, a estratégia da triagem neonatal de deficiência de G6PD para todos os RN no estado de Mato Grosso não se justifica devido ao alto custo, alto percentual de falso-positivo, baixa prevalência global da deficiência, elevada prevalência de mutação de baixa morbidade e impossibilidade desta estratégia em disponibilizar resultado em tempo oportuno para prevenção do desenvolvimento de Encefalopatia Bilirrubínica.

8 REFERÊNCIAS

1. Wilson JMG, Jungner F. Principles and practice of screening for diseases. Public Health Papers, n. 34. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1968
2. Leão LL, Aguiar MJB. Newborn screening: what pediatricians should know. J Pediatr (Rio J). 2008; 84 (4 Supl):S80-90.
3. Portaria GM/MS no 822, de 06 de junho de 2001. <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2001/GM/GM-822.htm>. Último acesso em 21/04/2014.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal, Série A - Normas e Manuais Técnicos, 2a edição ampliada, Brasília, Editora MS, 2004
5. Portaria GM/MS nº 2829, de 14 de dezembro de 2012. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt2829_14_12_2012.html. Último acesso em 21/04/2014.
6. Consulta Pública nº 18, de 20 de setembro de 2013, Ministério da Saúde, SAS. Acessado em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/cop0018_20_09_2013.html. Último acesso em 21/04/2014.
7. Fay DL, Schelhase KG, Suresh GK. Bilirubin screening for normal newborns: a critique of the hour-specific bilirubin nomogram. Pediatrics. 2009;124(4):1203-1205.
8. American Academy of Pediatrics, Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics. 2004;114(1):297-316.
9. Maisels MJ, Bhutani VK, Bogen D, Newman TB, Stark AR, Watchko JF. Hyperbilirubinemia in the newborn infant > or = 35 weeks' gestation: an update with clarifications. Pediatrics. 2009;124(4):1193-1198.
10. Watchko JF, Kaplan M, Stark DK, Bhutani VK. Should we screen newborns for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the United states? J Perinatol. advance online publication, 21 february 2013; doi: 10.1038/jp.2013.14, pg 1 - 6.

11. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet*. 2008;371:64-74.
12. Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, Alving AS. Enzymatic Deficiency in Primaquine-Sensitive Erythrocytes. *Science*. 1956;124(3220):484-485.
13. Luzzatto L, Poggi V. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. In Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE. *Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood*. 7th ed, 2009, Saunders Elsevier, Philadelphia. 883-907.
14. Luzzatto L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype. *Haematologica / The Hematology Journal*. 2006;91(10):1303-1306.
15. Dallol A, Banni H, Gari MA, Al-Qahtani MH, Abuzenadeh AM, Al-Sayes F, Chaudhary AG, Bidwell J, Kafienah W. Five novel glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency haplotypes correlating with disease severity. *J Transl Med*. 2012;10:199. doi: 10.1186/1479-5876-10-199.
16. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*. 1997; 43(1):61-68.
17. Xu Y, Zhang Z, Hu J, Stillman IE, Leopold JA, Handy DE, Loscalzo J, Stanton RC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient mice have increased renal oxidative stress and increased albuminuria. *Faseb J*. 2010; 24:609–616.
18. Zhang Z, Liew CW, Handy DE, Zhang Y, Leopold JÁ, HU J, Guo L, Kulkarni RN, Loscalzo J, Stanton RC. High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and beta-cell apoptosis. *Faseb J*. 2010;24:1497–1505.
19. van Zwieten R, Verhoeven AJ, Roos D. Inborn defects in the antioxidant systems of human red blood cells. *Free Radic Biol Med*. 2014;67:377-386.
20. Stanton RC. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, NADPH, and Cell Survival. *IUBMF Life*. 2012;64(5):362-369.
21. Luzzatto L, Battistuzzi G. Glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Adv Hum Genet*. 1985;14(5):217-329.
22. Antonenkov VD. Dehydrogenases of the pentose phosphate pathway in the rat liver peroxisomes. *Eur J Biochem*. 1989;183(1):75-82.

23. Manson PF, Bautista FM, Gilsans F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev.* 2007;21(5):267-283.
24. Wang J, Matsuoka H, Hirai M, Mu L, Yang L, Luo E. The first case of a class I glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, G6PD Santiago de Cuba (1339G>A), in a Chinese population as found in a survey for G6PD deficiency in Northeastern and Central China. *Acta Med Okayama.* 2010; 64(1):49-54.
25. Miwa S, Fujii H. Molecular basis of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia: tabulation of mutant enzymes. *Am J Hematol.* 1996;51(2):122-132.
26. Manson PF, Bautista FM, Gilsans F. Corrigendum to "G6PD deficiency: the genotype-phenotype association" [*Blood Rev.* 21 (2007) 267 - 283]. *Blood Rev.* 2010;24(1):49.
27. Chen EY, Zollo M, Mazzarella R, Ciccodicola A, Chen CN, Zuo L, Heiner C, Burroughs F, Repetto M, Schlessinger D, D'Urso M. Long-range sequence analysis in Xq28: thirteen known and six candidate genes in 219.4 kb of high GC DNA between the RCP/GCP and G6PD loci. *Hum Mol Genet.* 1996;5(5):659-668.
28. Lyon MF. Possible mechanisms of X chromosome inactivation. *Nature New Biology.* 1971;232(34):229-232.
29. WHO Technical Report Series, No. 366. Standardizations of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase: report of a WHO Scientific Group. Geneva, 1967, pp 56.
30. Childs B, Zinkham W, Browne E A, Kimbro E L, Torbert JV. A genetic study of a defect in glutathione metabolism of the erythrocytes. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 1958;102(1):21-37.
31. Beutler E. G6PD: Population genetics and clinical manifestations. *Blood Reviews.* 1996;10(1):45-52.
32. McDade J, Abramova T, Mortier N, Howard T, Ware RE. Brief Report: A Novel G6PD Mutation Leading to Chronic Hemolytic Anemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2008; 51(6): 816-819.
33. Tanphaichitr VS, Hirono A, Pung-amritt P, Treesucon A, Wanachiwanawin W. Chronic nonspherocytic hemolytic due glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: report of two families with novel mutations

- causing G6PS Bangkok and G6PD Bangkok Noi. *Ann Hematol.* 2011;90(7):769-775.
34. WHO Working Group. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Bull World Health Organ* 1989;67(6):601-611.
 35. Oliveira RAG, Oshiro M, Hirata MH, Hirata RDC, Ribeiro GS, Medeiros TMD, Barreto OCO. A novel point mutation in a class IV glucose-6-phosphate dehydrogenase variant (G6PD São Paulo) and polymorphic G6PD variants in São Paulo State, Brazil. *Genet Mol Biol.* 2009;32(2):251-254.
 36. Dern RJ, McCurdy PR, Yoshida A. A new structural variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase with a high production rate (G6PD Hektoen). *J Lab Clin Med.* 1969;73:283-290.
 37. Beutler E, Vulliamy TJ. Hematologically Important Mutations: Glucose-6-phosphate Dehydrogenase. *Blood Cells Mol Dis.* 2002;28(2):93-103.
 38. Manco L, Gonçalves P, Antunes P, Maduro F, Abade A, Ribeiro ML. Mutations and haplotype diversity in 70 Portuguese G6PD-deficient individuals: an overview on the origin and evolution of mutated alleles. *Haematologica.* 2007;92(12):1713-1714.
 39. Compri MB, Saad STO, Ramalho AS. Investigação genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G6DP em uma comunidade brasileira. *Cad Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2000;16(2):335-342.
 40. Weimer TA, Salzano EM, Westwood B, Beutler E. G-6-PD variants in three South American ethnic groups: population distribution and description of two new mutations. *Human Heredity.* 1998;48(2):92-96.
 41. Gómez-Gallego F, Garrido-Pertierra A, Mason PJ, Bautista JM. Unproductive folding of the human G6PD-deficient variant A-. *FASEB J.* 1996;10(1):153-158.
 42. Wilmanski J, Villanueva E, Deitch EA, Spolarics Z. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and the inflammatory response to endotoxin and polymicrobial sepsis. *Crit Care Med.* 2007;35(2):510-518.
 43. Hsieh Y-T, Lin M-H, Ho H-Y, Chen L-C, Chen C-C, Shu J-C. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD)-Deficient Epithelial Cells Are Less Tolerant to Infection by *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE.* 2013;8(11):e79566.

44. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42(3):267-278.
45. Howes RE, Piel FB, Patil AP, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, Hogg MM, Battle KE, Padilla CD, Baird JK, Hay SI. G6PD Deficiency Prevalence and Estimates of Affected Populations in Malaria Endemic Countries: A Geostatistical Model-Based Map. *PLOS Medicine.* 2012;9(11):e1001339.
46. Kaplan M, Hammerman C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and severe neonatal hyperbilirubinemia: a complexity of interactions between genes and environment. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15(3):176-182.
47. Fiorelli G, di Montemuros FM, Cappellini MD. Chronic non-spherocytic haemolytic disorders associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol.* 2000;13(1):39-55.
48. Beutler E. The hemolytic effect of primaquine and related compounds. *Blood.* 1959;14(2):103-139.
49. Arese P, Gallo V, Pantaleo A, Turrini F. Life and Death of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficient Erythrocytes – Role of Redox Stress and Band 3 Modifications. *Transfus Med Hemother.* 2012;39(5):328-334.
50. Schiliro G, Russo A, Curreri R, Marino S, Sciotto A, Russo G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Sicily: incidence biochemical characteristics and clinical implications. *Clin Genet.* 1979;15(2):183-188.
51. Bicakci Z. A hemolysis trigger in glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme deficiency. *Vicia sativa (Vetch). Saudi Med J.* 2009;30(2):292-294.
52. Olowe SA, Ransome-Kuti O. The risk of jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient babies exposed to menthol. *Acta Paediatr Scand.* 1980;69(3):341-345.
53. Farhud DD, Yazdanpanah L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) Deficiency. *Iranian J Publ Health* 2008;37(4):1-18.
54. Youngster I, Arcavi L, Schechmaster R, Akayzen Y, Popliski H, Shimonov J, Beig S, Berkovitch M. Medications and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: an evidence-based review. *Drug Saf.* 2010;33(9):713-726.

55. Herman J, Ben-Meir S. Overt hemolysis in patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a survey in general practice. *Isr J Med Sci.* 1975; 11(4):340-346.
56. Najafi N1, Van de Velde A, Poelaert J. Potential risks of hemolysis after short-term administration of analgesics in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Pediatr.* 2011;159(6):1023-1028.
57. Luzzatto L, Seneca E. G6PD deficiency: a classic example of pharmacogenetics with on-going clinical implications. *Br J Haematol.* 2014; 164(4):469-480.
58. Kaplan M, Waisman D, Mazor D, Hammerman C, Bader D, Abrahamov A, Meyerstein N. Effect of vitamin K1 on glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient neonatal erythrocytes in vitro. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1998;79(3):F218-F220.
59. Rifkind RA. Heinz bodies anaemia: an ultrastructural study. II. Red cell sequestration and destruction. *Blood.* 1965;26(4):433-448.
60. Arese P, De Flora A. Pathophysiology of hemolysis in glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Semin Hematol.* 1990;27(1):1-40.
61. Chhabra A, Raj D, Choudhary PN, Grover A. Interesting case of G6PD deficiency anemia with severe hemolysis. *Asian J Transfus Sci.* 2013;7(2): 147-148.
62. Murki S, Dutta S. Onset of bilirubin rise in G6PD deficient neonates - prenatal or postnatal? *Indian Pediatr.* 2005(letter);42(10):1053.
63. Kaplan M, Muraca M, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Rudensky B, Rubaltelli FF. Bilirubin conjugation, reflected by conjugated bilirubin fractions, in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient neonates: a determining factor in the pathogenesis of hyperbilirubinemia. *Pediatrics.* 1998;102(3):E37.
64. Rivero MEJ, Diniz EMA, Nonoyama K, Barreto OCO, Vaz FAC. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos. *Pediatr. (S. Paulo).* 1981;3:214-216.
65. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood.* 1994;84(11):3613-3636.
66. Huang CS, Chang PF, Huang MJ, Chen ES, Chen WC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, the UDP-glucuronosyl transferase 1A1 gene, and neonatal hyperbilirubinemia. *Gastroenterology.* 2002;123(1): 127-133.

67. Meloni T, Cutillo S, Testa U, Luzzatto L. Neonatal jaundice and severity of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency in Sardinian babies. *Early Hum Dev.* 1987;15(6):317-322.
68. Riskin A, Gery N, Kugelman A, Hemo M, Spevak I, Bader D. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and borderline deficiency: association with neonatal hyperbilirubinemia. *J Pediatr.* 2012;161(2):191-572.
69. Volpe, JJ. Bilirubin and brain injury. In: *Neurology of the newborn*, 5th edition, Philadelphia, W.B. Saunders Company - Elsevier, 2008, p 619-650.
70. Hansen TWRH. Kernicterus: an international perspective. *Semin Neonatol.* 2002;7(2):103-109.
71. Kaplan M, Hammerman C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a potencial source of severe neonatal hyperbilirubinemia and kernicterus. *Semin Neonatol.* 2002;7(2):121-128.
72. Ogunlesi TA, Ogunfowora OB. Predictors of acute bilirubin encephalopathy among Nigerian term babies with moderate-to-severe hyperbilirubinaemia. *J Trop Pediatr.* 2011; 57(2):80-86.
73. Johnson L, Bhutani VK, Karp K, Sivieri EM, Shapiro SM. Clinical report from pilot USA Kernicterus Registry (1992 to 2004). *J. Perinatol.* 2009;29 (Suppl.1):S25-45.
74. AlOtaibi SF, Blaser S, MacGregor DL. Neurological complications of kernicterus. *Can J Neurol Sci.* 2005;32(3):311-315.
75. Kaplan M, Abramor A. Neonatal hyperbilirubinemia associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Sephardic-Jewish infants: incidence, severity and the effect of phototherapy. *Pediatrics.* 1992; 90(3):401-405.
76. Zangen S, Kidron D, Gelbart T, Roy-Chowdhury N, Wang X, Kaplan M. Fatal kernicterus in a girl deficient in glucose-6-phosphate dehydrogenase: a paradigm of synergistic heterozygosity. *J Pediatr.* 2009;154(4):616-619.
77. Rawa K, Adamowicz-Salach A, Matysiak M, Trzemecka A, Burzynska B. Coexistence of Gilbert syndrome with hereditary haemolytic anaemias. *J Clin Pathol.* 2012;65(7):663-665.
78. Vockley J, Rinaldo P, Bennett MJ, Matern D, Vladutiu GD. Synergistic heterozygosity: disease resulting from multiple partial defects in one or more metabolic pathways. *Mol Gent Metab.* 2000(1-2);74:51-63.

79. Reclos GJ, Hatzidakis cj, Schulpis KH. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency neonatal screening: preliminary evidence that a high percentage of partially deficient female neonates are missed during routine screening. *J Med Screen*. 2000;7(1):46-51.
80. Nadarajan V, Shanmugam H, Sthaneshwar P, Jayaranee S, Sultan KS, Ang C, Arumugam S. Modification of reporting of qualitative fluorescent spot test results improves detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient heterozygote female newborns. *Int J Lab Hematol*. 2011; 33(5):463-470.
81. Algur N, Avraham I, Hammerman C, Kaplan M. Quantitative Neonatal Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Screening: Distribution, Reference Values, and Classification by Phenotype. *J Pediatr*. 2012;161(2):197-200.
82. De Niz M, Eziefula AC, Othieno L, Mbabazi E, Nabukeera D, Ssemmondo E, Gonahasa S, Tumwebaze P, Diliberto D, Maiteki-Sebuguzi C, Staedke SG, Drakeley C. Tools for mass screening of G6PD deficiency: validation of the WST8/1-methoxy-PMS enzymatic assay in Uganda. *Malar J*. 2013;12: 210. doi: 10.1186/1475-2875-12-210.
83. Brewer GJ, Tarlov AR, ALVING AS. Methaemoglobin Reduction Test: a new, simple, in vitro Test for Identifying Primaquine-Sensitivity. *Bull WHO*. 1960;22:633-640.
84. Beutler E, Blume KG, Kaplan JC, Löhr GW, Ramot B, Valentine WN. International Committee for Standardization in Haematology: recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. *Br J Haematol*. 1979; 3:465-467.
85. Muller R. Use of a simplified spectrophotometric method for quantitative determination of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in normal children from two day-care centers of the city of São Paulo. *Einstein* 2003; 1:89-94.
86. Al-Abdi SY, Alsaigh AS, Aldawoud FL, Al Sadiq AA. Lower reference limits of quantitative cord glucose-6-phosphate dehydrogenase estimated from healthy term neonates according to the clinical and laboratory standards institute guidelines: a cross sectional retrospective study. *BMC Pediatr*. 2013;13:137-151. doi: 10.1186/1471-2431-13-137.
87. Giovelli LL, Dal Bó S, Weber R, Santin AP, Castro SM. Determinação da acurácia do método quantitativo da medida da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29(4):378-381.

88. Carter R, Mendis KN. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4): 564-594.
89. Ruwando C, Khea SC, Snow RW, Yates SNR, Kwiatkowiec D, Gupta S, Warn P, Alisopp C, Peshu N, Newbold CI, Greenwood SM, Marsh K, Hill AVS. Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature.* 1995; 376(6537):246-249.
90. Cappadoro M, Giribaldi G, O'Brien E, Turrini F, Mannu F, Ulliers D, Simula G, Luzzatto L, Arese P. Early phagocytosis of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient erythrocytes parasitized by *Plasmodium falciparum* may explain malaria protection in G6PD deficiency. *Blood.* 1998; 92(7):2527-2534.
91. Santana MS, Rocha MAF, Arcanjo ARL, Sardinha JFJ, Alecrim WD, Alecrim MGC. Associação de metemoglobinemia e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes com malária tratados com primaquina. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2007;40(5):533-536.
92. Vale N, Moreira R, Gomes P. Primaquine revisited six decades after its discovery. *Eur J Med Chem.* 2009; 44(3):937-953.
93. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia prático de tratamento da malária no Brasil. Série A. Normas e Manuais Técnicos, 1a edição, Brasília, Editora MS, 2010.
94. Kondrashin A, Baranova AM, Ashley EA, Recht J, White NJ, Sergiev VP. Mass primaquine treatment to eliminate vivax malaria: lessons from the past. *Malar J.* 2014;13(1):51. doi: 10.1186/1475-2875-13-51.
95. Shekalaghe SA, ter Braak R, Daou M, Kavishe R, van den Bijllaardt W, van den Bosch S, Koenderink JB, Luty AJ, Whitty CJ, Drakeley C, Sauerwein RW, Bousema T. In Tanzania, hemolysis after a single dose of primaquine coadministered with an artemisinin is not restricted to glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient (G6PD A-) individuals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(5):1762-1768.
96. Mysore V, al-Suwaid AR. Efficacy of WHO regimens in the management of leprosy patients with G6PD deficiency. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1999;67(2):159-161.
97. Castro S, Webwe R, Dalalt V, Tavares V, Giugliani R. Prevalence of G6PD deficiency in newborns in the south of Brazil. *J Med Screen.* 2006;13(2):85-86.

98. Santos ER, Menezes FL, Cavalcante PN, Luitgards BF, Abdalla LF, Costa SS, Fonseca SF. Incidência de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) na triagem neonatal em Brasília. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010; 32(supl. 4):207-222.
99. Iglessias MAC, Santos RMV, Amorim MST, Silva RT, Moreira SS, Barretto OCO, Medeiros TMD. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in male newborn babies and its relationship with neonatal jaundice. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010; 32(6):434-438.
100. Nicolielo DB, Ferreira RIP, Leite AA. Atividade da 6-fosfogliconato desidrogenase em deficientes de glicose-6-fosfato desidrogenase. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2006; 28(2):135-138.
101. Ação Civil Pública nº 0010114-89.2012.4.03.6100. Notícia: MPF/SP quer incluir diagnóstico de mais cinco doenças no teste do pezinho. Site: http://noticias.pgr.mpf.mp.br/noticias/noticias-do-site/copy_of_geral/06-06-12-2013-mpf-quer-incluir-diagnostico-de-mais-cinco-doencas-no-teste-do-pezinho [Último acesso em 21/04/2014].
102. Arruda ME, Zimmerman RH, Souza RMC; Oliveira-Ferreira, J. Prevalence and level of antibodies to the circumsporozoite protein of human malaria parasites in five states of the Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2007;102(3):367-371.
103. Magalhães MCC, Rojas LI. Diferenciação territorial da hanseníase no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília.* 2007;16(2):75-84.
104. IBGE. Cidades Censo 2010. <http://www.ibge.gov.br/cidadesat> . Acessado em 21 de abril de 2014.
105. Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE. Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 7th ed., Philadelphia, Saunders - Elsevier, 2009.
106. Kaltman JR, Burns KM, Pearson GD. Screening in Pediatrics - More questions than answers? *J Pediatr.* 2013;162(3):454-456.
107. Carvalho CG, Castro SM, Santin AP, Zaleski C, Carvalho FG, Giugliani. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and its correlation with other risk factors in jaundiced newborns in Southern Brazil. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2011;1(1):110-113.
108. Santana MS, de Lacerda MV, Barbosa Md, Alecrim WD, Alecrim Md. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in an endemic area for

- malaria in Manaus: a cross-sectional survey in the Brazilian Amazon. *PLoS One*. 2009;4(4):e5259. doi: 10.1371
109. Monteiro WM, Franca GP, Melo GC, Queiroz AL, Brito M, Peixoto HM, Oliveira MR, Romero GA, Bassat Q, Lacerda MV. Clinical complications of G6PD deficiency in Latin American and Caribbean populations: systematic review and implications for malaria elimination programmes. *Malar J*. 2014;13(1):70-83.
 110. Ondei LS, Silveira LM, Leite AA, Souza DRS, Pinhel MAS, Percário S, Ricci Júnior O, Bonini-Domingos CR. Lipid peroxidation and antioxidant capacity of G6PD-deficient patients with A-(202G>A) mutation. *Genet Mol Res*. 2009; 8(4):1345-1351.
 111. Saldanha PH, Lebensztajn B, Itskan SB. Activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase among Indians living in a malarial region of Mato Grosso and its implication to the Indian-mixed populations in Brazil. *Hum Hered*. 1976;26(4):241-251.
 112. Warsy AS. Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in sickle-cell disease: a study in Saudi Arabia. *Hum Hered*. 1985;35(3):143-147.
 113. Ahmed SG, Ibraim UA. Clinical significance of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Nigerian patients with sickle cell disease. *Niger Postgrad Med J*. 2002;9(4):181-185.
 114. Saad STO, Costa EF. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle cell disease in Brazil. *Hum Hered*. 1992;42(2):125-128.
 115. Benkerrou M, Alberti C, Couque N, Haouari Z, Ba A, Missud F, Boizeau P, Holvoet L, Ithier G, Elion J, Baruchel A, Ducrocq R. Impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on sickle cell anaemia expression in infancy and early childhood: a prospective study. *Brit J Haematol*. 2013; 163(5):646-654.

ANEXOS

Anexo A - Drogas que podem causar hemólise em pacientes com deficiência de G6PD

DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

NOME DA CRIANÇA		
NOME DA MÃE		
DATA DE NASCIMENTO	DATA DO 1º EXAME	DATA DO 2º EXAME
RESULTADO 1º EXAME*		
RESULTADO 2º EXAME*		

* Valor de referência: Acima de 2,6 U/g de Hb. Metodologia: Fluorimetria

CONCLUSÃO: CRIANÇA PORTADORA DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

Guardar este documento e apresentá-lo nas consultas médicas para orientar medicamentos que a criança não pode usar ou aqueles que pode usar mas com cuidado.

CATEGORIA	PODEM SER USADOS EM DOSES HABITUAIS (SUPERVISIONAR)	DEVEM SER EVITADOS
ANALGÉSICOS E ANTIPIRÉTICOS	Acetaminofen/Paracetamol Ácido acetilsalicílico (em doses habituais), Antipirina (soluções otológicas) Dipirona	
ANTI-HIPERTENSIVOS	Captopril, enalapril (maleato), hidralazina (cloridrato)	
ANTI-MALÁRICOS	Cloroquina, pirimetamina, quinacrina (mepacrina), quinino	Primaquina
ANTI-ANGINOSOS	Dinitrato de isossorbida	
ANTIBACTERIANOS	Isoniazida, Trimetopina, Cloranfenicol, Ciprofloxacino, Ofloxacino, Norfloxacino, Ácido Nalidíxico, Co-trimoxazol, Nitrofurazona (Furacin®),	Dapsona, Fenazopiridina (Pyridium®), Nitrofurantoína,

CATEGORIA	PODEM SER USADOS EM DOSES HABITUAIS (SUPERVISIONAR)	DEVEM SER EVITADOS
ANTIPROTOZOÁRIOS	Furazolidona	
ANTI-SÉPTICOS		Azul de Metileno
ANTITÓXICOS		Dimercaprol (BAL)
CITOSTÁTICOS		Rasburicase (Urato oxidase - utilizado no tratamento e prevenção da sínd. de lise tumoral)
CONTRASTES		Azul de Toluidina
SULFONAMIDAS E SULFONAS	Sulfisoxazole, Sulfametoxipiridazina, Sulfassalazina Sulfapiridina Sulfacetamida (oftalmológica) Sulfanilamida (Paraqueimol ® tópico)	Dapsona Sulfametoxazol + Trimetoprin (Cotrimoxazol)
VITAMINAS	Vitamina C (Ácido Ascórbico),	Vitamina K3
ALIMENTOS / USO DOMÉSTICO	Água tônica (quinino) Tintura a base de henna	Grãos de fava Naftalina

Bibliografia

Azevedo LA, Heineck I, Castro SM. Avaliação das bulas de medicamentos contra-indicados para pacientes com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase. Ver Bras Farm. 2011; 92 (3): 123 - 127.

Farhud DD e Yazdanpanah L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) Deficiency. Iranian J Publ Health. 2008; 37 (4): 1 - 18.

Luzzatto L, Poggi V. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. In Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE. Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 7th ed, 2009, Saunders Elsevier, Philadelphia. 883 - 907.

Luzzatto L, Seneca E. G6PD deficiency: a classic example of pharmacogenetics with on-going clinical implications. Br J Haematol. 2014; 164 (4): 469 - 480.

Najafi N1, Van de Velde A, Poelaert J. Potential risks of hemolysis after short-term administration of analgesics in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. J Pediatr. 2011 Dec;159(6):1023-8

Anexo B - Dados das crianças que CONFIRMARAM deficiência de G6PD, de hemograma, atividade enzimática e presença da mutação G202A

ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	COR	MUNICIPIO	DATA COLETA G6PD1	G6PD1	HB	DATA COLETA G6PD2	G6PD2	HTC	HGB	VCM	HCM	CHCM	RDW	RETICUL	LEUC. TOTAIS	NEUT. TOTAIS	MUT202
279915	10/04/2012	MAS	PARDA	CBA	18/04/2012	1,3	AF	18/05/2012	1,7	28,6	9,9	81,9	28,4	34,6	13,5	2,8	5690	1195	HEMIZIGOSE
280564	18/04/2012	MAS	PARDA	CBA	25/04/2012	1,5	FA	17/05/2012	0,5	30,3	11	93,5	34	36,3	15,6	1	12400	1984	HEMIZIGOSE
279634	12/04/2012	MAS	BRANCA	CBA	16/04/2012	1,1	FA	08/05/2012	0,9	34	12,4	92,14	33,6	36,5	14,3	1,4	12820	2436	HEMIZIGOSE
280539	29/03/2012	FEM	PARDA	ROO	23/04/2012	1,2	FA	22/05/2012	1,6	28,3	9,8	81,1	28,1	34,6	14,2	1,6	8970	538	HOMOZIGOSE
280512	07/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	24/04/2012	1,7	FA	22/05/2012	1,5	25,3	9	84,1	29,9	35,6	13,3	0,8	6660	932	HEMIZIGOSE
280047	11/04/2012	MAS	PARDA	VG	16/04/2012	1	FA	29/05/2012	1,9	27	9,7	87,1	31,3	35,9	12,9	2,6	8720	698	HEMIZIGOSE
279862	05/04/2012	MAS	PARDA	ROO	17/04/2012	0,3	FA	24/05/2012	0,7	35,8	12,8	85,4	30,5	35,8	13,4	0,9	10270	1335	AUSENTE
280066	08/04/2012	MAS	PARDA	VG	17/04/2012	1,3	FA	29/05/2012	2,3	29	10	89,23	30,8	34,5	15,9	2,7	9380	1032	HEMIZIGOSE
280046	28/03/2012	MAS	NEGRA	VG	16/04/2012	2,4	FA	29/05/2012	1,9	24,8	8,7	82,67	29	35,1	14,6	2,7	6250	1250	HEMIZIGOSE
282289	04/05/2012	MAS	BRANCA	VG	08/05/2012	2	FA	14/06/2012	2,2	29,6	10,9	86	31,7	36,8	13,6	1,1	9850	1182	HEMIZIGOSE
279970	10/04/2012	MAS	NEGRA	VG	19/04/2012	1,7	FA	01/06/2012	0,9	27,2	9,9	85,27	31	36,4	13,8	1,6	6090	426	HEMIZIGOSE
281102	14/04/2012	MAS	PARDA	ROO	24/04/2012	0,8	FA	31/05/2012	1,7	28,6	9,9	92,9	32,1	34,6	14,4	3	6290	566	HEMIZIGOSE
281947	25/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	04/05/2012	1,2	FA	04/06/2012	1,9	29,2	10,1	95,1	32,9	34,6	14,7	6	11880	2732	HEMIZIGOSE
281182	20/04/2012	MAS	NEGRA	VG	24/04/2012	2,3	FA	01/06/2012	1,8	25,3	8,6	68,4	23,2	34	24,9	2,4	8470	2456	HEMIZIGOSE
280810	10/04/2012	FEM	NEGRA	CBA	25/04/2012	2,1	FA	21/06/2012	2,1	26,1	8,6	81,82	27	33	15,4	5,7	7950	1908	HOMOZIGOSE
280563	19/04/2012	MAS	NEGRA	CBA	25/04/2012	1,4	FA	21/06/2012	2,5	28,3	9,7	83	28,4	34,3	13,2	1,7	9200	2392	HEMIZIGOSE

ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	COR	MUNICIPIO	DATA COLETA G6PD1	G6PD1	HB	DATA COLETA G6PD2	G6PD2	HTC	HGB	VCM	HCM	CHCM	RDW	RETICUL	LEUC. TOTAIS	NEUT. TOTAIS	MUT202
281199	24/04/2012	MAS	PARDA	VG	02/05/2012	1,2	AF	12/06/2012	2,5	25,6	9,2	88,6	31,8	35,9	14,5	-	10540	2108	HEMIZIGOSE
280511	19/04/2012	MAS	PARDA	ROO	23/04/2012	1,4	FA	01/06/2012	2	25,4	8,7	90,1	30,9	34,3	14,4	13	6250	500	HEMIZIGOSE
282272	11/04/2012	MAS	NEGRA	VG	07/05/2012	1,1	FA	14/06/2012	1,9	29	9,7	84,5	28,3	33,4	14	0,9	6790	951	HEMIZIGOSE
282288	22/04/2012	MAS	BRANCA	VG	08/05/2012	1,8	FA	14/06/2012	2,1	26,9	9,3	88,2	30,5	34,6	13,9	2,6	8010	2723	HEMIZIGOSE
282543	04/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	14/05/2012	1,5	FA	19/06/2012	2	31,2	10,9	89,14	31,1	34,9	14,6	1,5	10090	1009	HEMIZIGOSE
286004	31/05/2012	MAS	BRANCA	VG	12/06/2012	1,7	FA	10/07/2012	1,9	33,4	11,6	86,5	30,1	34,7	13,5	0,6	9780	1956	HEMIZIGOSE
289422	25/06/2012	MAS	NEGRA	ROO	17/07/2012	2,6	FSC	03/10/2012	2	24,7	8,8	72,43	25,8	35,6	16,1	2,6	8930	1697	HEMIZIGOSE
282518	03/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	14/05/2012	0,8	FA	04/10/2012	1	28,1	9,5	74,93	25,3	33,8	13,3	2,8	6710	1678	HEMIZIGOSE
287674	05/06/2012	MAS	NEGRA	VG	21/06/2012	1,4	FA	17/09/2012	1,5	30,4	10,1	81,3	27	33,2	13,4	1,1	8710	1568	HEMIZIGOSE
287219	16/06/2012	MAS	BRANCA	ROO	25/06/2012	1,4	FA	20/09/2012	1,9	32,1	10,8	79,5	26,7	33,6	14,2	1,5	11740	2465	HEMIZIGOSE
288452	26/06/2012	MAS	BRANCA	CBA	09/07/2012	1	FA	18/09/2012	1,8	29,5	10	81,5	27,6	33,9	13	2,3	8420	1010	HEMIZIGOSE
281327	27/04/2012	MAS	NEGRA	CBA	02/05/2012	1,7	FA	18/09/2012	2	33,3	11,1	75,5	25,2	33,3	14	2,2	9810	1079	HEMIZIGOSE
288955	24/06/2012	MAS	PARDA	VG	12/07/2012	2,1	FA	05/09/2012	2,4	28,5	9,8	85,6	29,4	34,4	12,8	1,7	9660	1063	HEMIZIGOSE
285132	28/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	05/06/2012	1,1	FA	30/08/2012	1	32,5	11,6	79,9	28,5	35,7	12	0,5	20620	5361	HEMIZIGOSE
283246	24/04/2012	MAS	NEGRA	CBA	21/05/2012	0,9	FA	28/08/2012	2,2	33	10,9	77,5	25,6	33	13,8	1	12480	2496	HEMIZIGOSE
286648	05/06/2012	MAS	PARDA	CBA	20/06/2012	1,2	FA	30/08/2012	1,9	32,5	11,2	84,4	29,1	34,5	13	1	8690	2346	HEMIZIGOSE
289704	10/07/2012	MAS	PARDA	VG	18/07/2012	1,3	FA	31/08/2012	1,8	25,8	9	90,5	31,6	34,9	14,2	3,3	7400	814	HEMIZIGOSE
285439	29/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	12/06/2012	1	FA	28/08/2012	1	28,3	9,8	78,8	27,3	34,6	13,1	1	7340	1028	AUSENTE

ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	COR	MUNICIPIO	DATA COLETA G6PD1	G6PD1	HB	DATA COLETA G6PD2	G6PD2	HTC	HGB	VCM	HCM	CHCM	RDW	RETICUL	LEUC. TOTAIS	NEUT. TOTAIS	MUT202
289402	30/06/2012	MAS	PARDA	ROO	16/07/2012	2,4	FA	30/08/2012	1,6	30,2	9,8	80,75	26,2	32,5	13,9	1	5810	1220	HEMIZIGOSE
283229	18/05/2012	MAS	PARDA	CBA	21/05/2012	1,5	FA	23/08/2012	1,6	35,9	11,9	80,1	26,6	33,1	11,9	0,5	6080	1034	HEMIZIGOSE
289041	05/07/2012	MAS	NEGRA	VG	13/07/2012	2,3	FA + BARTS	31/08/2012	2,1	31,4	10,4	74,41	24,6	33,1	15,1	1,5	8710	1307	HEMIZIGOSE
288992	22/06/2012	MAS	PARDA	VG	10/07/2012	1,7	FA	14/08/2012	2,2	30,3	10,6	87,1	30,5	35	13,3	0,8	6260	626	HEMIZIGOSE
285230	29/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	11/06/2012	2	FA	24/08/2012	1,7	35,9	12,2	81,4	27,7	34	13,4	0,6	8530	938	HEMIZIGOSE
288102	28/06/2012	MAS	BRANCA	CBA	04/07/2012	1,7	FA	23/08/2012	2,2	30,9	10,9	88,3	31,1	35,3	12,9	0,4	9990	1598	HEMIZIGOSE
283126	01/05/2012	MAS	PARDA	CBA	16/05/2012	0,8	FA	21/08/2012	2,2	30,8	10,4	78,6	26,5	33,8	13,3	0,8	8760	2190	HEMIZIGOSE
281637	22/04/2012	MAS	PARDA	CBA	07/05/2012	2,3	FA	21/08/2012	1,7	33,1	10,9	74,7	24,6	32,9	14,2	0,6	6700	1340	HEMIZIGOSE
288455	28/06/2012	MAS	PARDA	CBA	05/07/2012	1,2	FA	07/08/2012	2,1	30,8	10,1	96,3	31,6	32,8	15	2,5	14620	1754	HEMIZIGOSE
287521	04/06/2012	MAS	PARDA	VG	27/06/2012	2,2	FA	14/08/2012	1,7	33,6	11,7	76,89	26,8	34,8	13,5	0,9	7390	739	HEMIZIGOSE
287132	21/05/2012	FEM	NEGRA	CBA	21/06/2012	0,9	FA	07/08/2012	2	34	11,7	84,8	29,2	34,4	14	0,8	8100	1620	AUSENTE
287139	16/06/2012	MAS	NEGRA	CBA	27/06/2012	0,9	FA	07/08/2012	1,4	29,4	9,8	90,7	30,2	33,3	14,4	3	4900	392	HEMIZIGOSE
287517	12/06/2012	MAS	BRANCA	VG	27/06/2012	2,1	FA	14/08/2012	2,3	27,7	9	79,6	25,9	32,5	14	1	8710	871	HEMIZIGOSE
288096	27/06/2012	MAS	NEGRA	CBA	03/07/2012	1,7	FA	13/08/2012	2,3	29,3	10,2	91,56	31,9	34,8	14,4	3	7440	2009	HEMIZIGOSE
282805	06/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	14/05/2012	0,9	FA	09/07/2012	1,9	26,4	9	80	27,3	34,1	15,5	0,6	7430	1486	HEMIZIGOSE
280065	25/03/2012	MAS	PARDA	VG	17/04/2012	1,1	FA	01/08/2012	2,4	32,2	11,4	77,8	27,5	35,4	12,4	1,5	14080	4365	AUSENTE
285785	02/06/2012	MAS	NEGRA	ROO	06/06/2012	1,1	FA	01/08/2012	2,1	29,6	10	87,1	29,4	33,8	13,5	2	10500	1470	HEMIZIGOSE
283475	14/05/2012	MAS	PARDA	CBA	22/05/2012	1,1	FAS	02/08/2012	2,4	27,9	9,6	81,6	28,1	34,4	15	4,8	12620	1641	HEMIZIGOSE

ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	COR	MUNICIPIO	DATA COLETA G6PD1	G6PD1	HB	DATA COLETA G6PD2	G6PD2	HTC	HGB	VCM	HCM	CHCM	RDW	RETICUL	LEUC. TOTAIS	NEUT. TOTAIS	MUT202
287111	10/06/2012	MAS	NEGRA	CBA	22/06/2012	1,2	FA	02/08/2012	2,2	30,1	10,5	86	30	34,9	13,7	2	6640	598	HEMIZIGOSE
283595	11/04/2012	MAS	PARDA	ROO	20/05/2012	1,1	FAC	27/07/2012	2,1	32,1	10,7	76,07	25,3	33,3	11,5	1	8500	1836	AUSENTE
284498	19/05/2012	MAS	NEGRA	ROO	29/05/2012	1,1	FA	31/07/2012	1,5	28,4	10	81,6	28,7	35,2	12,7	1,5	5090	1120	HEMIZIGOSE
282820	05/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	16/05/2012	1,3	FA	26/07/2012	2,1	34	11,5	86,1	29,1	33,8	14	2,8	16470	1647	HEMIZIGOSE
284876	18/05/2012	MAS	BRANCA	CBA	01/06/2012	1,9	FA	10/07/2012	1,9	26,4	9,7	86,6	31,6	36,7	12,9	0,8	8260	1322	HEMIZIGOSE
284878	18/05/2012	MAS	BRANCA	CBA	01/06/2012	1,9	FA	10/07/2012	2,3	26	9,1	87,5	30,6	35	13	1	11180	2012	HEMIZIGOSE
280197	16/04/2012	MAS	INDIGENA	CBA	23/04/2012	1,2	FA	19/06/2012	2,4	26,7	9,4	86,13	30,3	35,2	13,9	2,7	10230	1023	HEMIZIGOSE
289007	16/05/2012	MAS	PARDA	VG	09/07/2012	1,5	AF	25/09/2012	1,2	29,6	10,3	80,87	28,1	34,8	12,7	2	7850	1570	HEMIZIGOSE
284232	21/05/2012	MAS	PARDA	CBA	25/05/2012	0,8	FA	17/09/2012	1,5	29,5	9,9	72,8	24,4	33,6	13,3	0,8	7320	1318	HEMIZIGOSE
285519	25/05/2012	MAS	BRANCA	VG	13/06/2012	1	FA	06/09/2012	2,2	34,7	11,3	76,4	24,9	32,6	13,1	1,6	9740	2240	HEMIZIGOSE
284890	23/05/2012	MAS	NEGRA	CBA	04/06/2012	1,1	FA	24/09/2012	1,2	29,7	10,5	74,62	26,4	35,4	11,7	1	3620	977	HEMIZIGOSE

Anexo C - Dados das crianças que não confirmaram deficiência de G6PD, de hemograma e de atividade enzimática

ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	COR	MUNICIPIO	DATA COLETA G6PD1	G6PD1	HB	DATA COLETA G6PD2	G6PD2	HTC	HGB	VCM	HCM	CHCM	RDW	RETICUL	LEUCOCITOS TOTAIS	NEUT. TOTAIS
279626	26/03/2012	FEM	PARDA	CUIABA	17/04/2012	2,3	FA	03/05/2012	4,9	32,2	11,1	89,4	30,8	34,5	14,4	3,2	7570	2195
279643	04/04/2012	FEM	PARDA	CUIABA	11/04/2012	2,1	FA	08/05/2012	5,4	33,6	11,8	97,11	34,1	35,1	15,3	1	11280	3271
279630	05/04/2012	FEM	PARDA	CUIABA	13/04/2012	2,3	FA	17/05/2012	5,5	35,8	12,6	86,5	30,4	35,2	14,2	0,5	8260	1982
280537	06/04/2012	MAS	PARDA	ROO	23/04/2012	1,5	FA	22/05/2012	5,6	31,6	11,1	83,6	29,4	35,1	14,7	3,1	9280	1578
280524	14/03/2012	FEM	BRANCA	ROO	20/04/2012	2,5	AF	22/05/2012	5,9	28,3	9,8	85,5	29,6	34,6	13	1,5	10680	2350
280523	15/04/2012	MAS	PARDA	ROO	25/04/2012	0,8	FA	22/05/2012	5,7	33,9	12,3	92,9	33,7	36,3	15,6	0,4	8060	1290
281081	18/04/2012	MAS	PARDA	CUIABA	02/05/2012	2,2	FA	23/05/3012	5,6	28,6	10,1	80,79	28,5	35,3	13,5	3	12560	1633
280575	27/03/2012	FEM	BRANCA	CUIABA	24/04/2012	2	FA	28/05/2012	3,9	29,6	10,4	85,3	30	35,1	13,9	2,3	8460	677
279865	08/04/2012	MAS	PARDA	ROO	13/04/2012	2	FA	24/05/2012	6	30,7	10,7	82,7	28,8	34,9	14,4	0,9	7910	1266
281106	05/04/2012	FEM	PARDA	ROO	16/04/2012	2	FA	31/05/2012	6,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
281950	10/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	02/05/2012	2,3	FA	04/06/2012	5,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
281099	20/03/2012	MAS	PARDA	ROO	12/04/2012	2,4	FA	31/05/2012	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
280525	17/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	24/04/2012	1	FA	04/06/2012	6,1	26,5	9,3	92	32,3	35,1	13,3	0,7	6830	1025
281952	27/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	02/05/2012	0,9	FA	04/06/2012	4,5	31,2	11,1	89,66	31,9	35,6	13,5	0,5	9340	2148
281098	24/03/2012	FEM	PARDA	ROO	11/04/2012	1,9	FA	31/05/2012	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
281100	31/03/2012	MAS	BRANCA	ROO	18/04/2012	2,1	FA	31/05/2012	6,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
279863	05/04/2012	FEM	NEGRA	ROO	16/04/2012	0,9	FA	31/05/2012	7,5	30,9	10,6	88	30,2	34,3	13,3	1,3	9490	1234

281944	22/04/2012	FEM	BRANCA	ROO	04/05/2012	2,5	FA	04/06/2012	5,2	34,1	12,1	91,4	32,4	35,5	13,2	1,1	8370	2260
280190	14/04/2012	MAS	PARDA	CUIABA	19/04/2012	1,9	FAS	28/05/2012	6,8	30,9	11,3	79,4	29	36,6	14,4	2,3	6530	718
279864	06/04/2012	FEM	PARDA	ROO	13/04/2012	2,2	FA	24/05/2012	6,8	32,7	11,5	88,9	31,3	35,2	13,3	2,1	15990	3198
285732	31/05/2012	FEM	PARDA	ROO	12/06/2012	1,1	FA	05/07/2012	4,8	36,3	12,5	86,43	29,8	34,4	14,9	0,3	4720	1086
286032	30/05/2012	MAS	NEGRA	CUIABA	12/06/2012	1,7	FA	09/07/2012	5,8	33,2	11,7	88,77	31,3	35,2	15,1	0,7	6420	1348
285708	18/05/2012	FEM	PARDA	ROO	11/06/2012	1,8	FAS	03/07/2012	8,4	29,3	10,2	84,2	29,3	34,8	15,1	3,1	7110	640
285705	01/06/2012	FEM	PARDA	ROO	05/06/2012	1,1	FA	03/07/2012	7,5	30,1	10,5	92,9	32,4	34,9	14,7	3	5790	1274
282268	02/05/2012	MAS	NEGRA	VG	07/05/2012	1,9	FA	14/06/2012	3,1	23,4	8,1	89	30,8	34,6	14,3	1,9	9220	2489
282565	08/05/2012	FEM	BRANCA	CUIABA	14/05/2012	2,5	FA	21/06/2012	4,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
282549	06/05/2012	MAS	NEGRA	CUIABA	14/05/2012	2,5	FA	19/06/2012	6	36,4	12,6	87,29	30,2	34,6	13,4	2,3	8850	885
282635	24/04/2012	FEM	PARDA	CUIABA	14/05/2012	2,4	FA	18/06/2012	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
280992	17/04/2012	FEM	NEGRA	CUIABA	25/04/2012	2,5	FA	18/06/2012	6	26,3	9,1	78,51	27,2	34,6	13,4	1,7	7070	1061
285716	06/06/2012	MAS	PARDA	ROO	11/06/2012	2,3	FA	05/07/2012	6,4	33,4	11,9	93,8	33,4	35,6	14,6	0,3	4950	842
280048	09/04/2012	FEM	PARDA	VG	16/04/2012	2,5	FA	29/05/2012	3,4	31,6	11	86,3	30,1	34,8	12,9	2,2	8260	1239
280989	23/04/2012	FEM	BRANCA	CUIABA	28/04/2012	1,9	FA	28/05/2012	7	34,8	12,3	94,1	33,2	35,3	16,6	1,1	9990	1598
282530	04/05/2012	FEM	PARDA	CUIABA	11/05/2012	2,5	FA	02/07/2012	4,7	31,3	10,7	87,43	29,9	34,2	14	1	8650	1817
285700	21/05/2012	MAS	PARDA	ROO	04/06/2012	0,8	FA	03/07/2012	7,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
285706	30/05/2012	FEM	PARDA	ROO	05/06/2012	0,6	FA	03/07/2012	8	38,7	13,6	88,2	31	35,1	14,9	1,2	9790	685
285722	25/05/2012	MAS	NEGRA	ROO	05/06/2012	2,1	FA	05/07/2012	6,9	34,7	12,4	86,3	30,8	35,7	14,7	1,2	6360	1145
280515	15/03/2012	MAS	PARDA	ROO	27/03/2012	2	FA	13/06/2012	6	29,8	10,1	77,2	26,2	33,9	13,1	0,5	6080	365
279974	07/04/2012	MAS	PARDA	VG	19/04/2012	2,2	FA	11/06/2012	3,7	25	8,6	85,9	29,6	34,4	14,3	1,4	11590	3941

284516	05/05/2012	MAS	BRANCA	ROO	11/05/2012	1,5	FA	31/07/2012	8,2	27,2	9,1	72,5	24,3	33,5	15	2,5	17020	3915
283600	15/04/2012	MAS	NEGRA	ROO	22/05/2012	2,5	FA	30/07/2012	5,2	32,5	11,5	78,69	27,8	35,4	12,5	1,2	9190	1287
283614	14/05/2012	FEM	NEGRA	ROO	21/05/2012	2,2	FA	30/07/2012	6,2	29,1	10,1	83,14	28,9	34,7	12,9	3,2	10130	2431
285739	02/06/2012	MAS	PARDA	ROO	11/06/2012	2,3	FA	01/08/2012	7,4	33,8	12,1	89,7	32,1	35,8	14,3	1,2	16620	2825
285734	23/05/2012	FEM	PARDA	ROO	05/06/2012	2,5	FA	01/08/2012	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
284527	17/05/2012	FEM	BRANCA	ROO	29/05/2012	2,6	FA	01/08/2012	6,3	27,7	9,8	82,69	29,3	35,4	12,8	1,4	8980	2335
283621	23/04/2012	MAS	BRANCA	ROO	21/05/2012	2,5	FA	30/07/2012	7	31,2	10,3	77,42	25,6	33	13,8	1	11010	1762
284490	23/05/2012	FEM	PARDA	CUIABA	30/05/2012	1,9	FA	31/07/2012	3,4	31,9	11	86,2	29,7	34,5	13,1	1,3	6620	662
284479	03/05/2012	FEM	PARDA	CUIABA	30/05/2012	2,5	FA	02/08/2012	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
286993	13/06/2012	FEM	NEGRA	CUIABA	18/06/2012	2,3	FA	02/08/2012	6,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
280602	11/04/2012	MAS	BRANCA	CUIABA	24/04/2012	2,6	FA	02/08/2012	7	30,6	10,5	75,2	25,8	34,3	13,5	1,2	8400	1260
285495	05/06/2012	FEM	BRANCA	CUIABA	12/06/2012	0,7	FA	02/08/2012	7	37	13	87,89	30,9	35,1	14	1,8	11240	3484
283238	07/05/2012	MAS	NEGRA	CUIABA	16/05/2012	2,5	FA	02/08/2012	7,4	33,8	11,8	86,45	30,2	34,9	12,9	1,5	7960	955
284231	16/05/2012	MAS	PARDA	CUIABA	25/05/2012	2,1	FA	24/07/2012	5,2	31,3	10,6	90,46	30,6	33,9	13,8	3,9	21460	2790
287657	17/06/2012	FEM	PARDA	CUIABA	26/06/2012	2,3	FA	27/07/2012	5,8	27,2	9,5	88,6	30,9	34,9	14,5	2,9	8140	1872
288469	28/06/2012	MAS	NEGRA	CUIABA	06/07/2012	2,6	FA	02/08/2012	6,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
287796	27/05/2012	MAS	BRANCA	CUIABA	22/06/2012	1,6	FA	25/07/2012	7,5	33,2	11,6	77,93	27,2	34,9	14,5	2	10910	1964
279642	12/03/2012	FEM	NEGRA	CUIABA	16/04/2012	1,8	FA	25/07/2012	6	29,1	10,5	81,74	29,5	36,1	11,7	0,2	12930	2069
282741	19/04/2012	MAS	PARDA	ROO	26/04/2012	2,2	FA	26/07/2012	8,1	30,4	10,6	82,61	28,8	34,9	14	2,9	9600	1824
280542	13/04/2012	FEM	NEGRA	ROO	23/04/2012	2,5	FA	26/07/2012	5,1	29,9	10,9	79,1	26,5	33,4	14,8	4,2	8410	1514
282825	02/05/2012	FEM	PARDA	ROO	14/05/2012	2,1	FA	27/07/2012	7,8	30	10,4	84,7	29,4	34,7	12,6	1	6480	1620

282526	07/05/2012	MAS	PARDA	CUIABA	11/05/2012	2,2	FA	23/08/2012	6,8	27,5	9,3	78,1	26,4	33,8	13,4	0,5	8660	1212
287102	18/06/2012	FEM	PARDA	CUIABA	22/06/2012	2,3	FA	24/08/2012	5,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
287761	29/05/2012	MAS	PARDA	CUIABA	29/06/2012	2,3	AF	24/08/2012	6,6	29,6	10,1	80,2	27,4	34,1	12,9	0,6	14470	4920

Anexo D - Dados das crianças triadas com primeiro exame alterado para deficiência de G6PD, que não colheram exame confirmatório - por não localização ou exclusão (perdas).

NÚMERO	ETIQUETA	DATA NASCIMENTO	SEXO	DATA DA COLETA	IDADE NA COLETA (DIAS)	MUNICÍPIO DE COLETA	DATA CHEGADA AMOSTRA	TEMPO COLETA - CHEGADA	DATA LIBERAÇÃO G6PD	TEMPO CHEGADA - LIBERAÇÃO	G6PD TRIAGEM (U/g Hb)
1	280044	11/02/2012	FEM	16/04/2012	65	VG	20/04/2012	4	24/04/2012	4	2,5
2	280187	17/04/2012	MAS	23/04/2012	6	CBA	24/04/2012	1	25/04/2012	1	2,2
3	280325	15/04/2012	FEM	23/04/2012	8	CBA	25/04/2012	2	26/04/2012	1	0,9
4	280595	15/04/2012	MAS	24/04/2012	9	CBA	26/04/2012	2	27/04/2012	1	1,1
5	280938	04/04/2012	FEM	25/04/2012	21	CBA	30/04/2012	5	02/05/2012	2	2,4
6	280990	04/04/2012	FEM	27/04/2012	23	CBA	02/05/2012	5	04/05/2012	2	1,8
7	281747	25/04/2012	MAS	04/05/2012	9	CBA	09/05/2012	5	09/05/2012	0	1,7
8	282747	02/05/2012	FEM	15/05/2012	13	ROO	17/05/2012	2	17/05/2012	0	2,4
9	282755	17/04/2012	FEM	14/05/2012	27	ROO	17/05/2012	3	17/05/2012	0	1,3
10	282802	11/05/2012	MAS	14/05/2012	3	CBA	17/05/2012	3	17/05/2012	0	0,9
11	283231	05/05/2012	FEM	17/05/2012	12	CBA	22/05/2012	5	22/05/2012	0	2,4
12	283355	21/03/2012	MAS	18/04/2012	28	CBA	22/05/2012	4	24/05/2012	2	1,6
13	283625	11/05/2012	MAS	22/05/2012	11	ROO	24/05/2012	2	28/05/2012	4	1,8
14	283656	02/03/2012	MAS	23/05/2012	82	CBA	25/05/2012	2	28/05/2012	3	0,8
15	284493	20/05/2012	MAS	30/05/2012	10	CBA	31/05/2012	1	05/06/2012	5	2,4
16	284541	21/05/2012	FEM	29/05/2012	8	ROO	31/05/2012	2	05/06/2012	5	0,5

17	284647	21/05/2012	FEM	30/05/2012	9	CBA	01/06/2012	2	05/06/2012	4	0,7
18	285731	25/05/2012	FEM	04/06/2012	10	ROO	14/06/2012	10	15/06/2012	1	0,7
19	286294	11/06/2012	MAS	18/06/2012	7	CBA	19/06/2012	1	21/06/2012	2	1
20	286339	31/05/2012	FEM	19/06/2012	19	CBA	20/06/2012	1	21/06/2012	1	2,2
21	286340*	29/05/2012	MAS	19/06/2012	21	CBA	20/06/2012	1	21/06/2012	1	2,3
22	286544	04/06/2012	FEM	19/06/2012	15	CBA	21/06/2012	2	21/06/2012	0	1,1
23	288673	02/07/2012	MAS	11/07/2012	9	CBA	12/07/2012	1	13/07/2012	1	1,7
24	289423	28/06/2012	MAS	03/07/2012	5	ROO	19/07/2012	16	20/07/2012	1	1,3
25	289679	08/07/2012	FEM	12/07/2012	4	VG	20/07/2012	8	25/07/2012	5	0,8
26	289682 **	28/06/2012	MAS	11/07/2012	13	VG	20/07/2012	9	25/07/2012	5	2
27	290097	10/06/2012	MAS	24/07/2012	44	CBA	26/07/2012	2	27/07/2012	1	2,2

* Mudou-se para Goiânia

** Transfundido antes da coleta do exame confirmatório - localizado pela busca ativa, mas excluído.