



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DR HEITOR VIEIRA DOURADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**



**ESPECTRO CLÍNICO DA HEMÓLISE INDUZIDA POR PRIMAQUINA EM
PACIENTES COM MALÁRIA VIVAX DEFICIENTES DE GLICOSE 6-FOSFATO
DESIDROGENASE ADMITIDOS EM UMA UNIDADE DE REFERÊNCIA DE
MANAUS, AMAZONAS**

JOSE DIEGO DE BRITO SOUSA

MANAUS

2019



JOSE DIEGO DE BRITO SOUSA

**ESPECTRO CLÍNICO DA HEMÓLISE INDUZIDA POR PRIMAQUINA EM
PACIENTES COM MALÁRIA VIVAX DEFICIENTES DE GLICOSE 6-FOSFATO
DESIDROGENASE ADMITIDOS EM UMA UNIDADE DE REFERÊNCIA DE
MANAUS, AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, para obtenção do grau de *Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas*.

Orientador: **Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro**

Co-orientador: **Prof. Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda**

MANAUS

2019

Sousa, José Diego De Brito

Espectro clínico da hemólise induzida por primaquina em pacientes com malária vivax deficientes de glicose 6-fosfato desidrogenase admitidos em uma unidade de referência de Manaus-AM – Manaus, 2019

IV. 86f.

Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Medicina Tropical – Mestrado em Doenças Tropicais e infecciosas

Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019

Inclui bibliografia

Orientador: Monteiro, Wuelton Marcelo

Co-orientador: Lacerda, Marcus Vinicius Guimarães de

1. eliminação da malária vivax. 2. Amazônia brasileira. 3. hospitalização. 4. anemia grave. 5. injúria renal aguda

I. Wuelton Marcelo Monteiro (Orient.)

II. Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda (Co-orient.)

II. Universidade do Estado do Amazonas.

III. Espectro clínico da hemólise induzida por primaquina em pacientes com malária vivax deficientes de glicose 6-fosfato desidrogenase admitidos em uma unidade de referência de Manaus-AM.

FOLHA DE JULGAMENTO

ESPECTRO CLÍNICO DA HEMÓLISE INDUZIDA POR PRIMAQUINA EM PACIENTES COM MALÁRIA VIVAX DEFICIENTES DE GLICOSE 6-FOSFATO DESIDROGENASE ADMITIDOS EM UMA UNIDADE DE REFERÊNCIA DE MANAUS-AM

JOSE DIEGO DE BRITO SOUSA

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

Banca Julgadora:

**Wuelton Marcelo Monteiro
Presidente**

**Fábio Trindade Maranhão Costa
Membro**

**Marcelo Cordeiro dos Santos
Membro**

AGRADECIMENTOS

À minha família no Piauí, José Anísio, Maria Deuza, e minha irmã Dayane além da minha segunda família em Manaus, especialmente minha noiva Thaliê, Lourdene e Jozilena, por todo o apoio durante esse período;

Ao meu orientador e amigo Wuelton, e co-orientador Marcus, por terem acreditado em minha capacidade e proporcionado aprendizado contínuo, através de experiências e desafios, colocando-me no caminho da verdadeira pesquisa científica;

Aos meus caros colegas de curso, especialmente Laila, Janaina, Beatriz, Marcelo, Anne, Cecilia, Susan, Glenda, Tirza, Jorge, José Carlos e João Arthur pelos bons momentos compartilhados;

Ao programa de Pós-graduação em Medicina Tropical (PPGMT) da Universidade do Estado do Amazonas e seus docentes por proporcionarem o título de mestre em DTI;

À Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, em especial o Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema e Departamento de Malária pelas instalações fornecidas muitas vezes servindo como uma segunda casa e a toda equipe técnica, laboratorial e administrativa do IPCCB e do PPGMT, especialmente Marly, Tereza, Eduardo, Aleksey, Elcimar, Ana Paula, Paula, Mônica, Lúcia, Waldirene, Esmeralda, Iza e Conceição. Vocês fazem o dia-a-dia no IPCCB sempre melhor;

À banca julgadora por prontamente aceitar o convite de participação além da dedicação para a análise crítica desta dissertação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo financiamento estudantil durante todo o período de condução deste estudo;

O meu muito obrigado a todos!

DECLARAÇÃO DAS AGÊNCIAS FINANCIADORAS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e Fundació Cellex.

ΕΠΪΓΡΑΦΕ

“Science cannot solve the ultimate mystery of nature. And that is because, in the last analysis, we ourselves are a part of the mystery that we are trying to solve.”

Max Planck

RESUMO

A maioria dos casos de malária no Brasil são causados pelo *Plasmodium vivax*, capaz de produzir em seu ciclo de vida formas hepáticas latentes denominadas hipnozoítos, responsáveis pela recaída da doença mesmo sem a picada do mosquito. O tratamento radical da malária vivax não complicada se dá pela administração de cloroquina, para atuar nas formas sanguíneas do protozoário, além de esquema curto de primaquina, única droga atualmente disponível para eliminação de formas hipnozoíticas. Um fator impeditivo para a eliminação da malária, é a hemólise grave induzida pela primaquina em indivíduos com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Embora haja a prevalência de 5% na Amazônia Brasileira, a primaquina é administrada sem *screening* prévio desta condição, configurando uma importante causa de morbidade e complicações potencialmente fatais. E, apesar de ser conhecida a mais de cinco décadas, a descrição clínica desta condição ainda é restrita a poucos relatos de caso. Sendo assim, o presente estudo visou descrever o espectro clínico da hemólise induzida por primaquina em pacientes deficientes de G6PD admitidos em uma unidade de saúde terciária de Manaus, Amazonas. Pacientes deficientes de G6PD, monoinfectados por *Plasmodium vivax*, com história de tratamento com primaquina para este episódio, admitidos na Fundação de Medicina Tropical Heitor Viera Dourado em Manaus no período de 2009 a 2017 foram incluídos neste estudo. Todos os dados clínicos, laboratoriais e demográficos foram extraídos de prontuários eletrônicos. No total, 28.095 casos de malária vivax foram reportados no período. Destes, 672 casos (2,4%) foram hospitalizados, incluindo 94 casos (13,9%) de hemólise por primaquina. A maioria dos pacientes tinha entre 16 e 30 anos (38,3%), sendo hospitalizados principalmente após a administração da terceira e quarta dose de primaquina ($n=43$; 46,8%). O tempo médio de hospitalização foi de 6 dias ($\pm 6,3$). Vinte e seis pacientes (27,4%) desenvolveram injúria renal aguda como estágio I ($n=11$; 42,3%), estágio II ($n=3$, 11,5%), e estágio III ($n=12$; 46,2%). A anemia severa foi o dado laboratorial mais reportado ($n=55$; 58,5%), sendo a transfusão de sangue necessária em 46 pacientes (48,9%). Quatro pacientes necessitaram de admissão na unidade de terapia intensiva, na qual um paciente masculino, genotipado como G6PD A-, faleceu. No total, a incidência de hemólise por primaquina foi de 85,2 casos por 100.000 casos de malária vivax. Por fim, os resultados mostram alta morbidade em uma fração importante de pacientes submetidos ao tratamento com primaquina. No entanto, muitos clínicos concentram-se nos eventos adversos raros e nunca usam primaquina, condenando a população a um ciclo contínuo de recaída e infecção. A eliminação da malária exigirá o uso de primaquina, mas em regimes mais seguros. Dessa forma, a prática atual deve ser mudada e a deficiência de G6PD deve ser sistematicamente testada.

Palavras-chave: eliminação da malária vivax, Amazônia brasileira, hospitalização, anemia grave, injúria renal aguda.

ABSTRACT

Most cases of malaria in Brazil are caused by *Plasmodium vivax*, which is capable of producing latent hepatic forms called hypnozoites, responsible for a relapsing infection even without a new mosquito bite. Radical treatment for uncomplicated vivax malaria requires the administration of chloroquine, against blood-stage forms, as well as a short primaquine regimen, the only drug currently available to eliminate latent forms. A major barrier towards vivax malaria elimination is the risk of primaquine-induced hemolysis in individuals carrying glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency. Despite prevalence of 5% in the Amazon, primaquine is still administered without G6PD screening, making it an important cause of morbidity and potentially fatal complications. Although it has been described more than five decades ago, the clinical description of this condition is remains limited to a few case reports. Thus, the present study aimed to describe the full clinical spectrum of primaquine-induced hemolysis in G6PD-deficient patients admitted to a tertiary health unit in Manaus, Amazonas. Patients with G6PD deficiency, *Plasmodium vivax* mono-infection, history of primaquine treatment for this episode, admitted to the *Fundação de Medicina Tropical Heitor Viera Dourado* in Manaus from 2009 to 2017, were included in this study. All clinical, laboratory and demographic data were extracted from electronic medical records. In total, 28,095 cases of vivax malaria were reported in the period. Of these, 672 cases (2.4%) were hospitalized, including 94 cases (13.9%) of primaquine-induced hemolysis. Most patients had between 16 to 30 years (38.3%) and were hospitalized mainly following administration of third and fourth primaquine doses (n=43, 46.8%). The mean hospitalization time was 6 days (\pm 6.3). Twenty-six patients (27.4%) developed acute renal injury as stage I (n=11, 42.3%), stage II (n=3, 11.5%), and stage III (n=12; 46.2%). Severe anemia was the most common laboratory finding (n=55, 58.5%), and blood transfusion was required in 46 patients (48.9%). Four patients required admission to the intensive care unit, where a male patient genotyped as G6PD A- died. In total, the incidence of hemolysis cases was 85.2 per 100.000 vivax malaria cases. Finally, results show high morbidity in a significant fraction of patients receiving the short primaquine regimen. However, many clinicians focus entirely on rare adverse events and never use primaquine, condemning the population to a continuous cycle of relapse and infection. Malaria elimination will require the use of primaquine, but in safer regimens. Thus, the current practice has to be changed and, despite all the difficulties, G6PD deficiency must systematically be tested for, especially with the implementation of its single-dose substitute tafenoquine.

Keywords: vivax malaria elimination, Brazilian Amazon, hospitalization, severe anemia, acute renal injury

RESUMO LEIGO

A malária vivax, principal tipo de malária na Amazônia, afeta uma grande parte da população que vive em áreas endêmicas. Apesar de se apresentar de uma forma mais leve que a malária falciparum, os casos de malária vivax podem apresentar uma nova infecção (recaída) devido a formas dormentes chamadas de hipnozoítos que ficam no fígado, mesmo sem a picada do mosquito. No Brasil, o tratamento da malária vivax inclui a primaquina por um período de 7 dias, o único medicamento capaz de destruir as formas que permanecem alojadas no fígado. Sabe-se também que, na Amazônia Brasileira, uma das principais causas de internação durante o tratamento da malária vivax é a deficiência de glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD). Pessoas com essa condição não podem receber a primaquina por 7 dias por causa do risco de hemólise, que é a destruição das células vermelhas do sangue. Os primeiros sintomas desta doença são urina escura, palidez, falta de ar e fraqueza após a tomada das primeiras doses. Por mais que seja conhecida há muito tempo, pouco se sabe sobre a doença na Amazônia Brasileira. Portanto, esse estudo mostra a gravidade dos casos hospitalizados por hemólise por primaquina num hospital de Manaus de 2009 a 2017. De 672 casos hospitalizados, 94 possuíam a deficiência de G6PD. A maioria desenvolveu anemia grave, enquanto outros desenvolveram insuficiência renal. Quatro pacientes foram internados na unidade de terapia intensiva, onde um paciente faleceu. Com isso, o estudo mostra a gravidade em uma fração importante de pacientes que tomam o regime curto de primaquina na Amazônia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Papel da enzima G6PD na via das pentoses-fosfato. A reação de produção de NADPH, catalisado pela enzima G6PD, serve como base para geração de prótons para a regeneração de glutathiona reduzida	14
Figura 2. Localização do gene codificante da enzima no braço longo do cromossomo X.....	16
Figura 3. Distribuição de variantes enzimáticas em diferentes regiões endêmicas para malária	17
Figura 4. Prevalência da deficiência de G6PD na América Latina	18
Figura 5. Resultados normal (N), deficiente (D) e intermediário (CP) sob luz UV através do teste qualitativo <i>fluorescent spot test</i>	22
Figura 6. Mecanismo de infecção por <i>Plasmodium</i> spp	25
Figura 7. Esquema terapêutico de cloroquina e primaquina (7 dias) para malária vivax não complicada no Brasil.....	27
Figura 8. Estruturas químicas da primaquina e seu derivado tafenoquina, que possui modificações estruturais permitindo eliminação lenta da droga e administração em dose única	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da deficiência de G6PD por atividade enzimática	19
Tabela 2. Principais drogas associadas a episódios hemolíticos em indivíduos deficientes de G6PD.....	20
Tabela 3. Regimes descritos para tratamento hipnozoitocida em pacientes deficientes de G6PD.	30

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

ACD – ácido citrato dextrose

AHA – anemia hemolítica aguda

AHCNE – anemia hemolítica crônica não esferocítica

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

FST – fluorescent spot test

G6PD – glicose 6-fosfato desidrogenase

G6PDd – deficiência de glicose 6-fosfato desidrogenase

g/dL – gramas por decilitro

GSH – glutatona oxidada

GSSH – glutatona reduzida

Hb – hemoglobina

kg – quilograma

LDH – lactato desidrogenase

MAO – monoaminoxidase

mg – miligrama

NADP – nicotina adenina dinucleotídio fosfato

NADPH – nicotina adenina dinucleotídio fosfato reduzido

OMS – Organização Mundial da Saúde

UI/gHb – unidades internacionais por grama de hemoglobina

µL – microlitro

µmol/L – micromol por litro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)	14
1.2 Papel da enzima nos eritrócitos	15
1.3 Bases genéticas da deficiência	15
1.4 Distribuição global e variantes enzimáticas	17
1.5 Manifestações clínicas da G6PDd	19
1.6 Diagnóstico da enzimopatia	22
1.7 Malária e deficiência de G6PD.....	25
1.7.1 Malária	25
1.7.2 Regime terapêutico para malária vivax	26
1.7.3 Primaquina: riscos e benefícios	27
1.7.4 Deficiência de G6PD e uso de primaquina.....	29
1.8 Relevância e justificativa	31
2. OBJETIVOS	32
2.1 Objetivo geral	32
2.2 Objetivos específicos	32
3. PRODUTO DA DISSERTAÇÃO	33
4. LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS	49
5. CONCLUSÕES.....	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
7. ANEXOS E APÊNDICES	62
7.1 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO	62
7.2 PARECER DE APROVAÇÃO ÉTICA DA PESQUISA	84
7.3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO (2017-2018)	85

1. INTRODUÇÃO

1.1 A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)

A glicose 6-fosfato desidrogenase, ou simplesmente G6PD, tem ampla distribuição e desempenha importante função redox no metabolismo celular sob aerobiose. A função primária da enzima é a catalisação da reação da via das pentoses-fosfato, culminando na síntese de nicotina adenina dinucleotídio fosfato reduzido (NADPH), além de disponibilizar ribose para a produção de nucleotídeos, síntese e replicação de ácidos nucleicos e divisão celular (1–3). A proteína é constituída de aminoácidos, (514 no total), organizados em um monômero, que em sua forma ativa, organiza-se em homodímeros ou tetrâmeros para a catalisação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogluconolactona com concomitante redução de NADP em NADPH (Figura 1) (1).

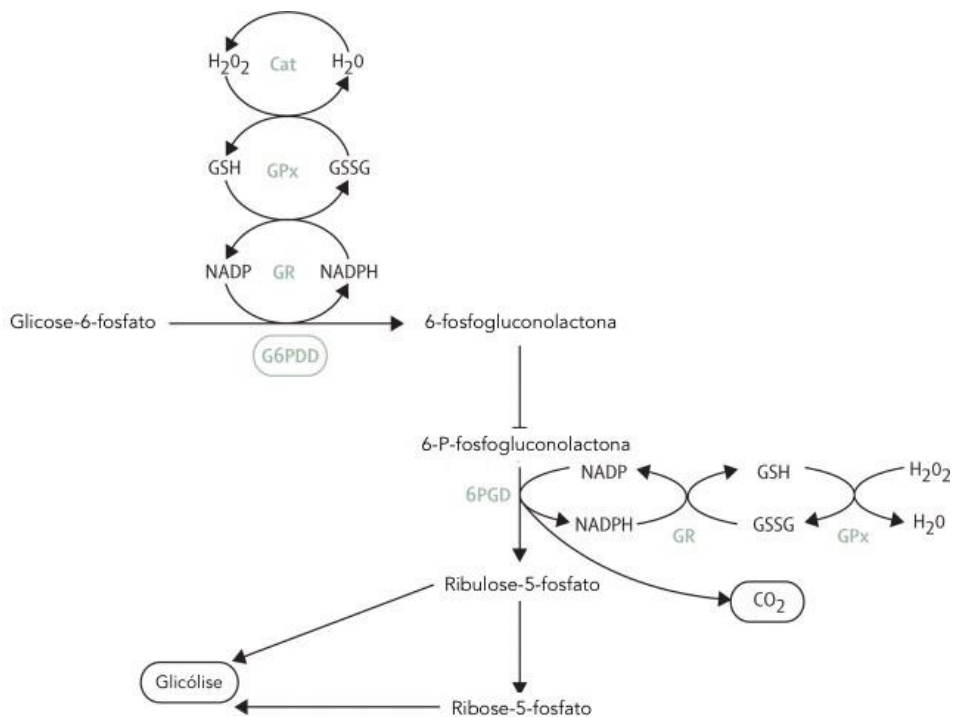


Figura 1. Papel da enzima G6PD na via das pentoses-fosfato. A reação de produção de NADPH, catalisado pela enzima G6PD, serve como base para geração de prótons para a regeneração de glutatona reduzida. Fonte: Cappellini (1).

1.2 Papel da enzima nos eritrócitos

A enzima G6PD desempenha papel fundamental na proteção antioxidante dos eritrócitos, sendo a única fonte de produção de NADPH disponível nestas células. No metabolismo celular normal, o NADPH catalisado pela G6PD é a única forma de manter quantidades fisiológicas de glutathiona reduzida (GSSH) para a proteção do eritrócito contra danos oxidativos. Nos eritrócitos normais, a razão entre glutathiona oxidada (GSH) e glutathiona reduzida é de 100:1. Durante a formação de radicais livres ou peróxidos, os níveis de GSSH caem devido à oxidação e necessitam de quantidades suficientes de NADPH para serem restaurados a sua forma reduzida (Figura 1). Na deficiência de G6PD (G6PDd) o aporte necessário de NADPH não pode ser mantido em níveis satisfatórios e os níveis de GSSH caem, levando ao dano oxidativo exacerbado (4,5). Estruturas particularmente sensíveis a oxidação, como lipídios de membrana, hemoglobina e outras proteínas intracelulares são alteradas pelo estresse oxidativo resultante, levando a alterações estruturais e fisiológicas da célula e posterior hemólise intra e extravascular (6,7).

1.3 Bases genéticas da deficiência

O gene codificante da enzima está localizado na região do braço longo do cromossomo X (banda q28), sendo composto por 13 éxons e 12 íntrons, com tamanho total em torno de 20 Kb no total, codificando 515 aminoácidos incluindo a região promotora (Figura 2) (8,9). Assim, a herança genética da deficiência de G6PD (G6PDd) é ligada ao sexo: indivíduos do sexo masculino são hemizigotos para o gene, por isso, podem ter expressão normal ou serem deficientes dependendo do cromossomo recebido da mãe. Por outro lado, as mulheres possuem uma cópia do gene em cada cromossomo X, com isso, há duas diferentes possibilidades, de expressão normal da enzima em ambos os cromossomos X (homozigotas com fenótipo normal) ou apresentação de

heterozigidade genética. Mulheres homozigotas deficientes são geralmente encontradas em populações com alta prevalência de alelos deficientes (1,2).

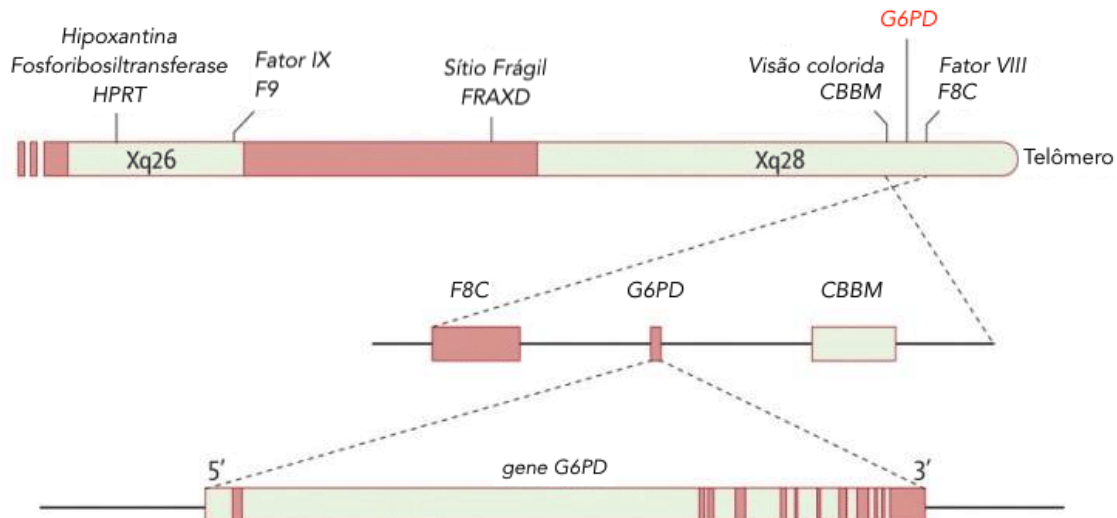


Figura 2. Localização do gene codificante da enzima no braço longo do cromossomo X. Fonte: Cappellini (1).

Mulheres apresentam mosaicismos genéticos como resultado da inativação inespecífica de um dos cromossomos X presentes em cada célula (10). Um cromossomo é aleatoriamente inativado, podendo randomicamente ser o cromossomo normal ou o deficiente. Dessa forma, algumas células podem se comportar como células de homens hemizigotos deficientes, tornando esta população mais susceptível à hemólise (11,12).

A G6PDd é a deficiência enzimática mais comumente encontrada, com cerca de 400 variantes já descritas (13,14). Destas, mais de 185 variantes foram classificadas como clinicamente relevantes, com a gravidade do quadro clínico diretamente relacionada à variante expressa e dose do agente oxidante (7,15). Qualquer tipo de mutação no gene codificante da enzima resulta em algum nível de deficiência funcional, sendo a maioria resultante de substituição pontual de aminoácidos (Tabela 1). Em contrapartida, dupla mutação e deleções são raras (16).

1.4 Distribuição global e variantes enzimáticas

O padrão de distribuição espacial da G6PDd é amplo e espacialmente heterogêneo, afetando principalmente África, Europa Mediterrânea, Sudeste Asiático e América Latina (Figura 3), com uma prevalência global do alelo da deficiente em torno de 8% em países em fase de eliminação de malária (14,17).

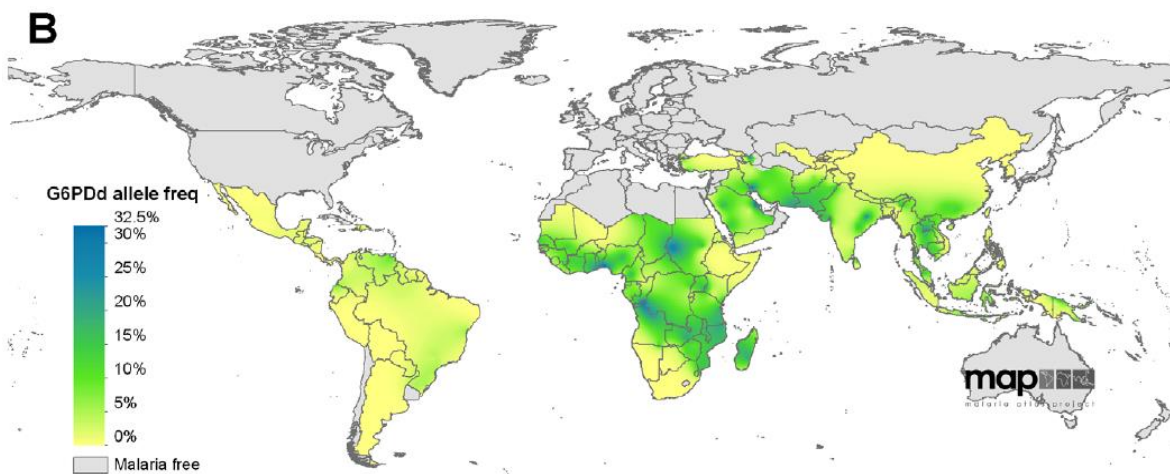


Figura 3. Distribuição de variantes enzimáticas em diferentes regiões endêmicas para malária. Fonte: Howes et al. (14).

A maior prevalência da G6PDd encontra-se na África Subsaariana, afetando ao menos 15% da população em 14 países do continente (18), seguida pelo Sudeste Asiático. Um estudo de mapeamento da deficiência em áreas endêmicas para malária demonstrou que existe grande heterogeneidade de variantes, sendo a Africana (G6PD A-) mais prevalente na América e na África, a variante Mediterrânea como a mais comum no Oriente Médio, além da existência de grande diversidade de variantes no Sudeste Asiático e região do Pacífico, sem a predominância evidente de nenhuma variante (14,17,18).

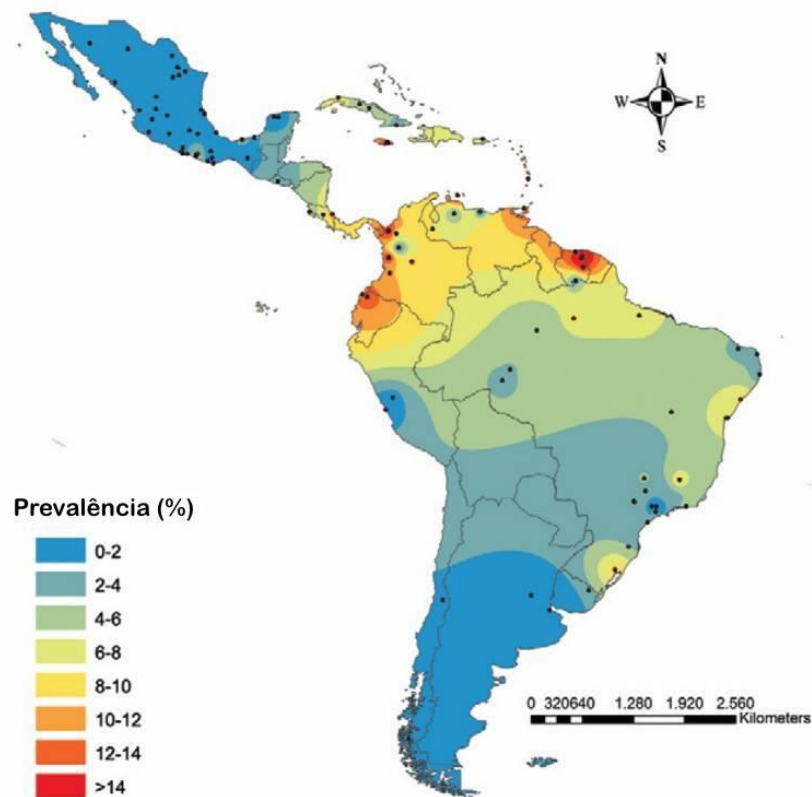


Figura 4. Prevalência da deficiência de G6PD na América Latina. Fonte: Monteiro et al. (19)

Na América Latina, a principal variante encontrada é a G6PD Africana A-^{202A/376G} (19). Na Amazônia Brasileira, a prevalência dessa deficiência pode acometer até 12% da população (Figura 4) (19). Em Manaus, a prevalência estimada situa-se em torno de 5%, sendo 76% acometidos pela variante A-, seguidos pela variante Mediterrânea^{563T} (14%) (20). A Organização Mundial da Saúde (OMS) categoriza essas variantes de acordo com a faixa de atividade, sendo as mais comuns e clinicamente significantes as pertencentes às classes II e III (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação da deficiência de G6PD por atividade enzimática.

Classe	Severidade da deficiência	Atividade (%)	Variantes
I	Muito grave, associada a AHCNE	<1	Santiago de Cuba, Nara
II	Severa	1-10	Mediterrânea, Canton, Chatham, Belem, Viangchan, Amazonia, Santamaria
III	Moderada	10-60	Africana, Seattle, Mahidol, Mexico city
IV	Atividade normal	60-150	São Paulo
V	Atividade aumentada	>150	-

AHCNE: anemia hemolítica crônica não-esferocítica. Fonte: OMS (21), Howes et al. (17), Hirono et al. (22) e Oliveira et al. (23).

1.5 Manifestações clínicas da G6PDd

Pacientes com G6PDd geralmente apresentam-se assintomáticos durante toda a vida, ou até serem submetidos a um estresse oxidativo exacerbado que gera o quadro clínico característico da condição. As manifestações clínicas mais comuns da deficiência são anemia hemolítica aguda (AHA) (incluindo o favismo), icterícia neonatal e anemia hemolítica crônica não-esferocítica (AHCNE), sendo a última a mais rara (1).

Na América Latina, a manifestação clínica mais comum na G6PDd é a anemia hemolítica aguda induzida por drogas e/ou infecções (Tabela 2) (19,20,24). O favismo também é uma causa comum de AHA, especialmente em populações mediterrâneas, onde a fava (*Vicia faba*) é amplamente consumida (25). Apesar de diferentes agentes induzirem hemólise, o mecanismo de ação é similar: produção de espécies altamente reativas causadoras de dano oxidativo, o

qual não é suficientemente mitigado pela G6PD, geralmente cessando em poucos dias após a retirada do agente oxidante (1,2,25).

Tabela 2. Principais drogas associadas a episódios hemolíticos em indivíduos deficientes de G6PD. Adaptado de Cappellini (1).

Classe da Droga	Forte associação	Possível associação	Associação duvidosa
Antimaláricos	Primaquina Pamaquina	Cloroquina	Mepraquina Quinina
Sulfonamidas	Sulfanilamida Sulfacetamida Sulfapiridina Sulfametoxazol	Sulfadimidina Sulfassalazina Glibenclamida	Aldesulfona Sulfadiazina Sulfafurazol
Sulfonas	Dapsona	-	-
Nitrofurantoína	Nitrofurantoína	-	-
Analgésico/Antipirético	Acetanilida	Aspirina	Paracetamol Fenacetina
Outras drogas	Ácido nalidixico Niridazol Metiltiônio Fenazopiridina Co-trimoxazol	Ciprofloxacina Cloranfenicol Vitamina K Ácido ascórbico Mesalazina	Ácido aminosalicílico Doxorubicina Probenecida Dimercrapol
Produtos químicos	Naftaleno 2,4,6-trinitrotolueno	extrato de <i>Acalipha indica</i>	

A G6PDd foi primeiramente relatada após a investigação de hemólise em pacientes de descendência africana que ingeriram primaquina, há mais de cinco décadas (6), sendo até hoje uma das maiores causas de AHA e áreas endêmicas para malária (14,17,19). O tempo até o aparecimento dos primeiros sintomas após a ingestão de drogas oxidantes varia de acordo com a classe da deficiência e variante enzimática, dose da droga e heterozigotidade genética (26–31). Quanto aos sinais e sintomas e alterações laboratoriais incluem icterícia, astenia, colúria (hemoglobinúria), anemia, metemoglobinemia, aumento de bilirrubinas às custas de bilirrubina indireta, aumento de lactato desidrogenase e reticulocitose, que

geralmente se resolvem quando o agente oxidante é retirado ou quando intervenções mais severas, como transfusão sanguínea, se fazem necessárias (2,27,28,32,33). Complicações secundárias à hemólise já foram descritas, especialmente injúria renal aguda, sendo essa mais comum no favismo quando comparado à hemólise induzida por drogas (24,25,34). Vale ressaltar que a identificação do agente indutor de hemólise é muitas vezes difícil de ser feita, pois o potencial hemolítico das drogas é variável, o paciente já pode possuir outra condição concomitante hemolítica por si, mais de uma droga hemolítica pode estar causando o episódio e, finalmente, porque a G6PDd não produz anemia e reticulocitose clinicamente significantes (1,35).

A icterícia neonatal é geralmente considerada a complicação clínica mais grave associada a deficiência de G6PD, devido ao risco de dano neurológico irreversível (*kernicterus*) (1,36). A prevalência e gravidade da condição variam em diferentes populações, sendo influenciadas por fatores genéticos, ambientais e culturais. Apesar de o mecanismo direto ainda não ser bem estabelecido, a icterícia neonatal em G6PDd é principalmente agravada pela incapacidade hepática de conjugar adequadamente a bilirrubina circulante. Acredita-se que a hemólise pode desempenhar um papel importante apesar de marcadores clássicos como valores de reticulócitos e eritrócitos permanecerem dentro da faixa normal. Na icterícia neonatal, a fototerapia é recomendada e eficiente, sendo a transfusão sanguínea recomendada apenas em casos extremos (valores absolutos acima de 300 $\mu\text{mol/L}$) (1,36,37).

Raramente, em algumas variantes mais graves, indivíduos podem desenvolver anemia hemolítica crônica não-esferocítica (AHCNE). A hemólise nestes casos é muito grave, dependente de transfusão e geralmente fatal (1,36), devido a valores muito baixos de atividade enzimática em eritrócitos, impedindo o reparo gerado pelo desequilíbrio oxidativo gerado no próprio metabolismo celular. Portadores dessa condição são mais suscetíveis à hemólise desencadeada por concentrações menores de agentes oxidantes quando comparados com variantes

enzimáticas mais comuns (37). A hemólise em casos de AHCNE é principalmente extravascular devido a alterações em estruturas internas e externas do eritrócito, afetando o baço na maioria dos casos (2).

1.6 Diagnóstico da enzimopatia

Amostras de sangue venoso ou capilar, preferencialmente em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) ou ácido citrato dextrose (ACD), podem ser utilizadas para diagnóstico qualitativo ou quantitativo (38). O diagnóstico definitivo da G6PDd se baseia primariamente na detecção da produção de NADPH produzido a partir de NADP. O teste colorimétrico de Brewer ou teste de redução de meta-hemoglobina foi o primeiro a ser empregado. Nesse método, o sangue é adicionado à solução de nitrito de sódio e azul de metileno e incubado a 37°C por 3 horas, gerando uma coloração vermelho claro (normal) ou marrom castanho (deficiente). A oxidação da hemoglobina pelo nitrito de sódio é revertida na presença de azul de metileno pela estimulação da via das pentoses-fosfato (39). Atualmente, para triagem populacional, diversos métodos quantitativos e qualitativos foram desenvolvidos, sendo o *fluorescent spot test* o método qualitativo mais empregado (Figura 5) (1,26,40,41).



Figura 5. Resultados normal (N), deficiente (D) e intermediário (CP) sob luz UV através do teste qualitativo *fluorescent spot test*. Fonte: Arquivo próprio.

Dos testes qualitativos disponíveis, o *fluorescente spot test* (FST) é o mais amplamente utilizado para *screening* do status de G6PD. Trata-se de um teste rápido, de baixo custo e fácil execução, levando aproximadamente 30 minutos para obtenção do resultado sob luz ultra violeta de comprimento de onda longo (365nm) (40). Além disso, das plataformas de testagem rápida para G6PDd disponíveis, o teste rápido Carestart™ G6PD fabricado pela AccessBio (Nova Jersey, USA) é o mais utilizado. O teste contém uma fita de nitrocelulose envolvida em uma plataforma plástica contendo um poço para adição do tampão reagente, um para a adição da amostra de sangue total e uma janela de resultado, com tempo de leitura de 10 à 20 minutos. Amostras com atividade normal demonstram uma coloração roxa característica na janela de leitura de resultados, enquanto amostras deficientes não mostram nenhuma alteração de cor ou alteração muito fraca. A plataforma de testagem rápida demonstrou sensibilidade e especificidade de 68% e 100%, respectivamente, em uma população do Camboja (42) e sensibilidade maior que 90% em outras populações (43,44).

O padrão-ouro para diagnóstico da G6PDd se baseia no teste espectrofotométrico quantitativo, levando-se em consideração o valor de hemoglobina ou número de hemácias da amostra (45,46). A atividade enzimática é expressa em unidades internacionais de atividade por grama de hemoglobina (UI/gHb). Cada unidade equivale a quantidade de atividade capaz de converter 1 μ mol de NADP em NADPH em 1 minuto na presença de substrato específico, temperatura controlada e comprimento de onda de 340nm (47). Tal diagnóstico não é empregado em campo devido ao alto custo operacional e necessidade de equipamentos especializados tais como espectrofotômetro com temperatura controlada, reagentes, câmaras frias e pessoal treinado (45,46). Valores de referência geralmente variam de 7-10 UI/gHb variando de população para população. Portanto, os valores de referência devem ser calculados levando-se em consideração a média masculina corrigida da população, excluindo-se os valores abaixo de 10% de atividade e os indivíduos do sexo feminino (para

diminuir o efeito da heterozigosidade (41). Em Manaus, Amazonas, a média masculina ajustada é de 6.5 UI/gHb (48).

Atualmente, novas tecnologias têm sido empregadas como alternativas para um diagnóstico mais preciso da deficiência tanto em ambiente laboratorial como em campo. A citometria de fluxo para G6PD se mostrou altamente eficaz no diagnóstico a nível celular da deficiência, estimando a proporção de células deficientes entre as normais e mitigando o efeito da lionização em mulheres durante o diagnóstico (11,12). Adicionalmente, testes *point-of-care* quantitativos vêm sendo validados em diversos áreas endêmicas e, futuramente, representarão alternativas adequadas à espectrofotometria em ambientes sem recursos especializados (49,50).

A análise enzimática é particularmente sensível a fatores como manuseio da amostra e temperatura. Amostras de sangue frescas devem ser preferencialmente utilizadas para testagem em até no máximo 48 horas a temperatura ambiente. Em contrapartida, sangue total armazenado entre 2 a 8°C por até 7 dias em EDTA ou ACD pode ser utilizado sem alterações significantes na atividade enzimática (40). Em caso de amostras para repositório institucional com necessidade de maior tempo de armazenagem, a criopreservação pode ser utilizada (51). Além de fatores ambientais e físicos, fatores intrínsecos como o valor absoluto de reticulócitos podem influenciar a análise e falsamente normalizar um resultado deficiente. Estes possuem em média 5 vezes mais atividade que células adultas e, portanto, a testagem não deve ser realizada durante o evento hemolítico ou transfusão (26,41).

1.7 Malária e deficiência de G6PD

1.7.1 Malária

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium* e transmitida por mosquitos fêmeas do gênero *Anopheles* (Figura 6). No Brasil, os principais vetores descritos são o *Anopheles darlingi* e o *Anopheles aquasalis* (predominantemente em áreas litorâneas). Existem 5 espécies de *Plasmodium* que podem causar doença em humanos: *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*, sendo os dois últimos os mais importantes clinicamente. Há relatos na literatura também da infecção humana por *P. cynomolgi*, previamente conhecida por infectar apenas símios (52).

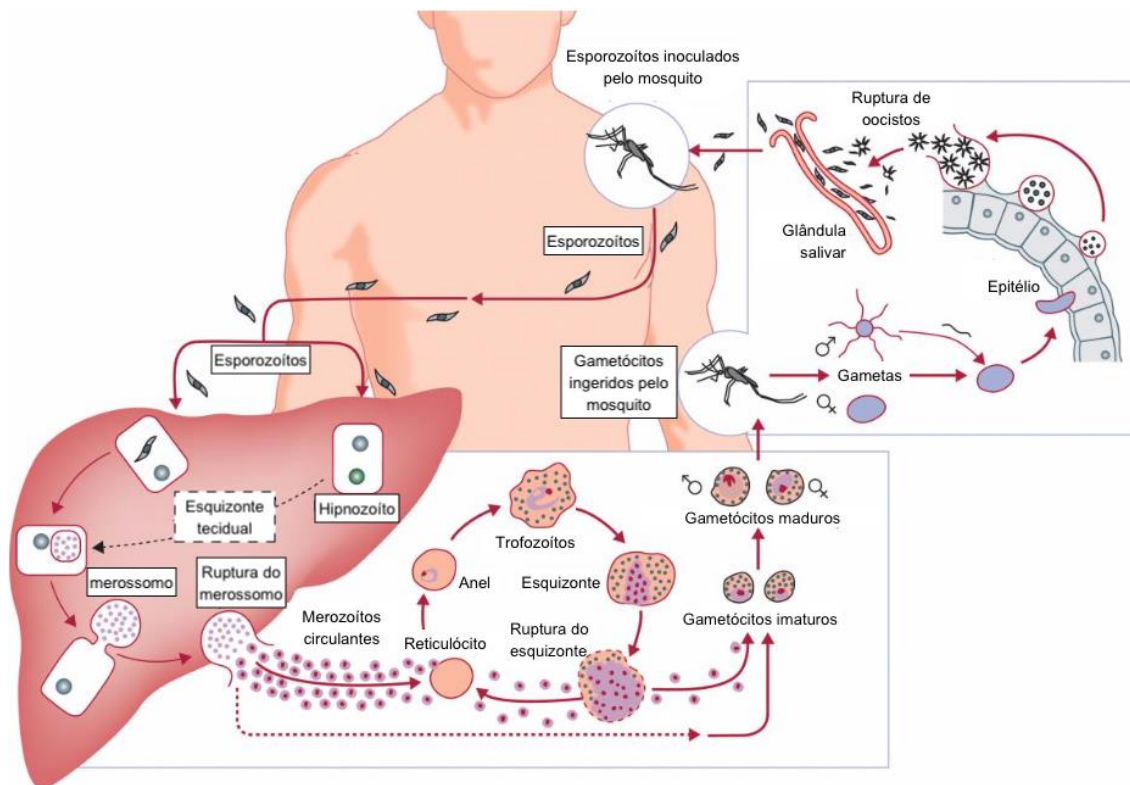


Figura 6. Mecanismo de infecção por *Plasmodium* spp. Após repasto sanguíneo pelo mosquito fêmea *Anopheles*, o parasito é injetado na corrente sanguínea e

rapidamente atinge o tecido hepático, infectando hepatócitos. Então, após uma série de mudanças morfológicas, o mesmo pode se transformar em merozoítos que atingirão a corrente sanguínea ou hipnozoítos que permanecerão dormentes no fígado e reativarão a doença futuramente. Fonte: Mueller et al. (53).

A malária causada por *P. falciparum* é geralmente a mais grave devido a maiores parasitemias e mecanismos de virulência associados, acometendo principalmente regiões sub-Saarianas. Em contrapartida, em áreas extra-Africanas como na América Latina, a malária por *P. vivax* prevalece (54,55).

Em 2017, aproximadamente 219 milhões de casos de malária foram reportados mundialmente, e isso representa uma queda de 2 milhões dos casos, comparados ao ano anterior. Além disso, 435.000 mortes foram notificadas no mesmo período (56). No Brasil, mais de 90% dos casos são causados por *P. vivax*. Apesar de uma apresentação clínica mais branda que a malária por *P. falciparum*, a malária vivax vem desafiado, mundialmente, os programas de controle e eliminação da malária. Isso se dá devido à formação de formas latentes (hipnozoítos) que reativam a infecção mesmo sem a presença do mosquito, o crescente número de portadores assintomáticos devido à baixa carga parasitária, e produção precoce de gametócitos que propagam a doença rapidamente para um novo hospedeiro susceptível (53,57). Além disso, os casos de malária vivax grave tem aumentado de forma preocupante (58–61).

1.7.2 Regime terapêutico para malária vivax

No Brasil, o tratamento da malária vivax não complicada é feito através do uso de cloroquina, responsável por atuar nas formas sanguíneas, e primaquina, para eliminação de formas latentes (hipnozoítos) do protozoário que permanecem no fígado. Para tanto, o esquema de tratamento é feito de acordo com faixas de

peso dos pacientes, sendo necessário o ajuste da dose das drogas caso acima de 70 kg (Figura 7).

Idade/Peso	Número de comprimidos por medicamento por dia						
	1º dia		2º dia		3º dia		4º ao 7º dias
	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Cloroquina	Primaquina INFANTIL	Primaquina INFANTIL
6-11 meses 5-9 kg	1/2	1	1/4	1	1/4	1	1/2
1-3 anos 10-14 kg	1	2	1/2	1	1/2	1	1
4-8 anos 15-24 kg	1	2	1	2	1	2	2
Idade/ Peso	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Cloroquina	Primaquina ADULTO	Primaquina ADULTO
9-11 anos 25-34 kg	2	1	2	1	2	1	1
12-14 anos 35-49 kg	3	2	2	2	2	2	1
≥ 15 anos ≥ 50 kg	4	2	3	2	3	2	2

Figura 7. Esquema terapêutico de cloroquina e primaquina (7 dias) para malária vivax não complicada no Brasil. Fonte: Ministério da Saúde (54).

A cloroquina é administrada por 3 dias com comprimidos de 150mg (geralmente no regime 4:3:3 comprimidos/dia) enquanto a primaquina, apresentada em comprimidos de 15mg, é administrada por 7 (0.5 mg/kg/dia) ou 14 dias (0.25 mg/kg/dia), ambas as drogas de forma oral (54).

1.7.3 Primaquina: riscos e benefícios

A primaquina, uma droga pertencente ao grupo das 8-aminoquinolonas, é utilizada contra formas latentes de *P. vivax* e *P. ovale*, além do bloqueio de

transmissão em malária por *P. falciparum* (34). Desenvolvida em meados da década de 40 como substituto do seu antecessor pamaquina, ela tem sido utilizada como tratamento padrão para cura radical da malária vivax e ovale até os dias de hoje.

Acredita-se que o mecanismo de ação de 8-aminoquinolinas se dá pela produção de radicais livres de vida curta altamente reativos, como o metabolito 5-metox (34). Após administração oral, a primaquina é rapidamente absorvida e metabolizada via citocromo P450 (CYP2D6) e monoaminoxidase (MAO) e seus metabólitos, principalmente a carboxiprimaquina, atingem pico de concentração em 6 horas (34,62,63). É importante ressaltar que alterações genéticas em genes codificantes do complexo CYP2D6 podem diretamente influenciar o metabolismo da droga, diminuindo ou aumentando sua metabolização e, conseqüentemente, influenciando a resposta terapêutica contra formas latentes (62,63).

A tafenoquina é um derivado da primaquina a ser utilizada em dose única devido a sua longa meia vida que têm mostrado resultados promissores no tratamento hipnozoitocida em estudos multicêntricos de segurança e eficácia (64–67). Atualmente, o fármaco encontra-se em processo de registro no Brasil (Figura 8).

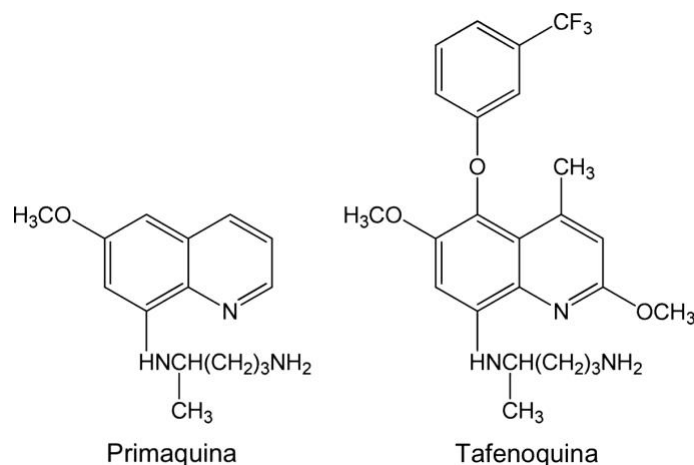


Figura 8. Estruturas químicas da primaquina e seu derivado tafenoquina, que possui modificações estruturais permitindo eliminação lenta da droga e administração em dose única. Fonte: Li et al. (68).

Para mais, principal efeito tóxico da primaquina, como todas as outras 8-aminoquinolonas, está relacionada ao risco de hemólise em pacientes com G6PDd, relativamente comum em áreas endêmicas para malária (31,34).

1.7.4 Deficiência de G6PD e uso de primaquina

Um fator impeditivo do uso seguro desta droga hipnozoitocida é a G6PDd, que é relativamente comum e predispõe os indivíduos à anemia hemolítica, sendo esta a principal causa de AHA na América Latina (24,35,69,70). No que se refere às mortes, a maioria está relacionada ao uso de primaquina e consequente hemólise grave (71). Devido à escassez de plataformas de triagem populacional rápida, bem como alta complexidade e material necessários para execução de testes quantitativos, ocorre o uso irrestrito da medicação em diferentes regimes e indivíduos portadores da deficiência são expostos ao risco de desenvolver AHA (18,26). A revisão das informações disponíveis sobre a prevalência e a gravidade das variantes da G6PD, juntamente com as políticas dos países para o uso de primaquina e testagem para G6PDd, corrobora a falta de consenso sobre a exigência da testagem antes de prescrição de primaquina (72). Consequentemente, mortes e complicações já foram relatadas como resultado da anemia grave (34,71,73). Além disso, mesmo com a iminente liberação da tafenoquina, o uso da primaquina ainda será necessário para obter a cura radical e alta cobertura populacional (74).

Atualmente, diferentes abordagens já foram empregadas na tentativa de encontrar o melhor regime de primaquina nesses pacientes. Dentre as que estão em foco hoje, encontram-se as modelagens matemáticas: estudos que visam propor novos esquemas de tratamento baseados em algoritmos e tempo de recuperação após hemólise, como proposto por Watson e colaboradores (30). Em contraste, poucos estudos clínicos têm testado essas hipóteses.

A Organização Mundial de Saúde recomenda o regime de primaquina semanal na dose 0.75mg/kg/semana durante oito semanas, sob estrita supervisão médica (26). Esse regime se mostrou seguro e eficaz na prevenção de recaídas por malária vivax em pacientes normais, como demonstrado por Leslie e colaboradores (75). Entretanto, um único paciente deficiente (G6PD A-) foi incluído nesse estudo e apresentou queda discreta nos níveis de hemoglobina. Adicionalmente, outro estudo realizado em cambojanos deficientes (G6PD Viangchan), no Sudeste Asiático, demonstrou queda importante mas transitória nos níveis de hemoglobina, indicando que a administração semanal de primaquina pode ser tolerável, mas perigosa em pacientes com variantes mais graves (Tabela 3) (29,31).

Tabela 3. Regimes descritos para tratamento hipnozoitocida em pacientes deficientes de G6PD.

Autor	Tempo/Dose	Resultado	Observações
Leslie et al (75)	8 semanas, uma vez por semana 0.75mg/kg	Boa tolerabilidade?	Achado acidental, apenas 1 paciente G6PDd (A-)
Kheng et al (29)	8 semanas, uma vez por semana 0.75mg/kg	Hemólise significante, mas transiente (queda >25% na Hb basal)	G6PD Viangchan; 1 paciente recebeu transusão
Chu et al (27)	14 dias 0.5 mg/kg/dia ou 7 dias 1 mg/kg/dia	Tolerável em 14 dias; hemólise severa em 7 dias: 2 necessitaram transusão	34 mulheres heterozigotas, G6PD Mahidol
Organização Mundial da Saúde (76)	8 semanas, uma vez por semana 0.75mg/kg	Baseados na literatura	Recomendação condicional, baseada em evidência de baixa qualidade. Apenas quando o paciente pode ser ativamente monitorado.

Ministério da Saúde (54)	12 semanas de cloroquina, 5mg/kg/semana	Seguro	Sem estudos de eficácia do regime contra recaídas
Brito-Sousa et al, dados não publicados	7 dias, 0.5mg/kg/dia, com início em D5	Queda >30% ou 3g/dL do valor basal, transfusão necessária em um participante	Masculino G6PD Africana A- e feminino G6PD A+

Hb, hemoglobina; G6PDd, deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.

1.8 Relevância e justificativa

Embora descrita há mais de cinco décadas, a deficiência de G6PD representa uma importante barreira para eliminação da malária por impedir o tratamento seguro e radical da mesma. Uma questão crítica nos programas de eliminação da malária, atualmente, é como os regimes radicais de cura devem ser rotineiramente usados. Como a maioria dos casos de malária são tratados ambulatoriamente em nível de atenção primária, estimar o impacto da hemólise induzida pela primaquina em nível populacional pode ajudar a definir o perigo real do seu uso indiscriminado, sem a triagem sistemática da G6PDd na Amazônia. Torna-se, então, de suma importância a caracterização clínica da condição e suas possíveis complicações, para manejo adequado e melhor conhecimento acerca do risco associado ao uso indiscriminado da primaquina em áreas endêmicas para malária além de fortalecer a necessidade da triagem sistemática da deficiência antes do tratamento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Descrever a morbidade da hemólise induzida por primaquina em uma unidade de saúde terciária de Manaus, Amazonas.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar a incidência de casos de hemólise em pacientes com malária vivax após o uso de primaquina;
- Descrever a proporção de indivíduos que desenvolveram injúria renal aguda e seus respectivos estágios;
- Descrever a proporção de indivíduos que desenvolveram anemia severa;
- Avaliar a sensibilidade de parâmetros laboratoriais como preditores de desfechos desfavoráveis, incluindo admissão na unidade de terapia intensiva (UTI) e injúria renal aguda.

3. PRODUTO DA DISSERTAÇÃO

Manuscrito publicado na revista indexada *Clinical Infectious Diseases*
(Qualis CAPES A1; Fator de impacto 2017: 9.117).

1 **Clinical Spectrum of Primaquine-induced Hemolysis in G6PD Deficiency: A 9-Year**
2 **Hospitalization-Based Study from the Brazilian Amazon**

3 G6PDd and primaquine-induced hemolysis

4

5 **Jose Diego Brito-Sousa**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira
6 Dourado, Manaus, Brazil; Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do
7 Estado do Amazonas, Manaus, Brazil.

8 **Thalie C Santos**, Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do
9 Amazonas, Manaus, Brazil.

10 **Sara Avalos**, Microbiology Research Institute, Universidad Nacional Autónoma de
11 Honduras, Tegucigalpa, Honduras.

12 **Gustavo Fontecha**, Microbiology Research Institute, Universidad Nacional Autónoma
13 de Honduras, Tegucigalpa, Honduras.

14 **Gisely C Melo**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus,
15 Brazil; Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas,
16 Manaus, Brazil.

17 **Fernando Val**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Manaus,
18 Brazil; Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas,
19 Manaus, Brazil.

20 **André M Siqueira**, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação
21 Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil

22 **Graça C Alecrim**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado,
23 Manaus, Brazil

24 **Quique Bassat**, ISGlobal, Hospital Clínic - Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain;
25 Centro de Investigação em Saúde de Manhiça (CISM), Maputo, Mozambique; ICREA,
26 Pg. Lluís Companys 23, 08010 Barcelona, Spain; Pediatric Infectious Diseases Unit,
27 Pediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu (University of Barcelona), Barcelona,
28 Spain

29 **Marcus VG Lacerda**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado,
30 Manaus, Brazil; Instituto de Pesquisas Leônidas e Maria Deane, Fundação Oswaldo
31 Cruz, Manaus, Brazil.

32 **Wuelton M Monteiro**, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado,
33 Manaus, Brazil; Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do
34 Amazonas, Manaus, Brazil.

35

36 Corresponding author: Wuelton M. Monteiro, Fundação de Medicina Tropical Dr Vieira
37 Dourado, Av. Pedro Teixeira 25, Manaus, Brazil. CEP 69040-000

38 Email: wueltonmm@gmail.com

39 Phone: +55 (92) 9165 2486

40

41 Alternate corresponding author: Jose Diego Brito-Sousa, Fundação de Medicina
42 Tropical Dr Vieira Dourado, Av. Pedro Teixeira 25, Manaus, Brazil. 69040-000

43 Email: sousajdb@live.com

44 Phone: +55 (92) 9166-9617

45 **Abstract**

46 Despite Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency prevalence of 5% in
47 the Amazon, primaquine is administered without G6PD screening. This is an important
48 cause of hospitalization among *Plasmodium vivax*-infected individuals, leading to life-
49 threatening anemia and acute renal failure across endemic areas. In Manaus, the
50 frequency of primaquine-induced hemolysis was 85.2 cases per 100,000 primaquine
51 users.

52 Keywords: G6PD deficiency, acute renal failure, severe anemia, elimination, primaquine

53 **Introduction**

54

55 Acute hemolytic anemia (AHA) is a common complication in vivax malaria cases due to
56 primaquine use in glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency [1]. Under
57 primaquine challenge, cells are prone to exacerbated oxidative stress, leading to an
58 early erythrocyte destruction, which is directly dependent on the enzyme variant class
59 and antimalarial dose. More than 185 clinically relevant variants of the enzyme have
60 been described in 8% of world's population [2]. This condition is not systematically
61 screened in hospital routines prior to antimalarial treatment. It is usually detected during
62 primaquine therapy, when patients return to healthcare units presenting classical signs
63 of AHA. Hemolysis in the most common G6PD variant (African A-) is usually thought to
64 be self-limiting and is solved when the oxidant agent is withdrawn [3].

65

66 Although described decades ago, G6PD deficiency greatly impacts the treatment of
67 vivax malaria and the true extent of primaquine-induced hemolytic anemia is limited to
68 scarce case reports. A critical issue in malaria elimination programs today is how radical
69 cure regimens should be routinely used. As most malaria is treated as an outpatient in
70 rural clinics, estimating the burden of primaquine-induced hemolysis at the population
71 level may aid defining the real danger of using primaquine. Hence, this study aims to
72 describe the morbidity associated with primaquine-induced hemolysis in *P. vivax*
73 malaria patients with G6PD deficiency admitted to a tertiary health unit in the Brazilian
74 Amazon.

75

76 **Methods**

77

78 The Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) is a
79 specialist referral unit for diagnosis and treatment of tropical diseases in the Western
80 Brazilian Amazon. Patients can seek for medical assistance directly or be referred from
81 primary-level healthcare units. After vivax malaria diagnosis, a short 7-day course of
82 primaquine (0.5mg/kg/day) is given [4]. A retrospective collection of medical records
83 was conducted in order to identify all vivax malaria patients hospitalized between 2009
84 and 2017. Inclusion criteria were: i) *P. vivax* malaria infection diagnosed at primary or
85 transferring unit; ii) history of primaquine treatment for that episode; iii) G6PD deficiency
86 confirmed by qualitative or molecular test; and iv) hospitalization. All laboratory,
87 demographic and clinical data from included patients were extracted. Although the
88 number of primaquine-induced hemolysis cases is probably higher than presented here,
89 moderate to severe cases requiring primaquine interruption are referred to FMT-HVD,
90 thus becoming a good proxy of the proportion of patients for whom the drug is actually
91 contraindicated.

92

93 A retrospective collection of records was conducted on iDoctor® to identify all vivax
94 malaria cases hospitalized from January 2009 (iDoctor® launching) to December 2017.
95 Potential cases were screened by the International Classification of Diseases or any
96 other clinical presentation related to vivax malaria and G6PD deficiency. Inclusion
97 criteria were: i) *P. vivax* malaria mono-infection diagnosed at primary or transferring
98 unit; ii) G6PD deficiency confirmed by qualitative or molecular test; and iii)

99 hospitalization. Patients with no history of primaquine use were excluded. Laboratory,
100 demographic and clinical data from all included patients were extracted into a structured
101 questionnaire.

102
103 Information on pre-treatment parasitemia was retrieved from SIVEP-malaria database,
104 on a semi-quantitative basis of parasites/mm³: ½+ (200–300); 1+ (301–500); 2+ (501–
105 10,000); 3+ (10,001–100,000); and 4+ (>100,001) [4]. Polymerase chain reaction–
106 restriction fragment length polymorphism was performed to detect common G6PD
107 mutations in 29 patients (30.8%) in a background study. Severe anemia was classified
108 according to WHO guidelines [5]. The onset and severity of acute kidney injury were
109 established according to AKIN guidelines [6], using the difference between the highest
110 recorded measure during hospitalization (peak) and the last recorded measure at time
111 of patient discharge (baseline) [7].

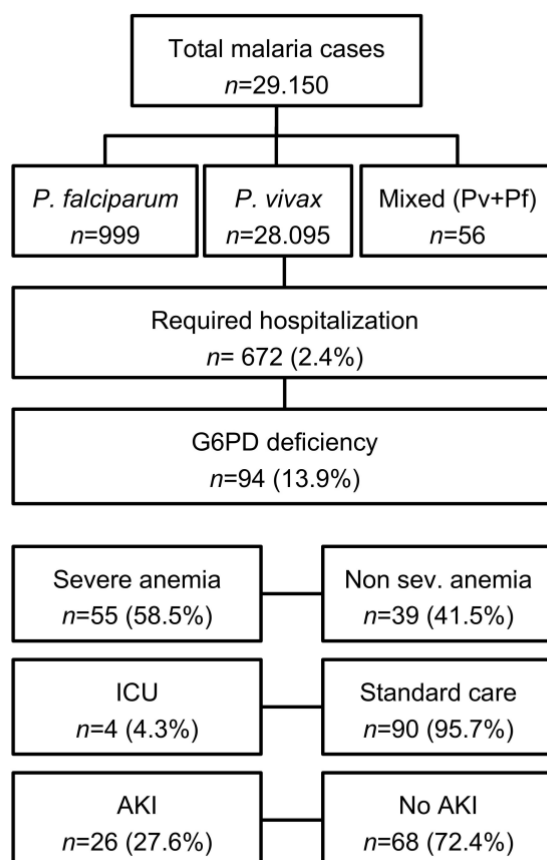
112
113 Descriptive statistics were used for demographic and clinical data. Independent t tests,
114 Wilcoxon Mann–Whitney or χ^2 tests were used to compare variables stratified by severe
115 anemia and acute kidney injury. Receiver operating characteristic (ROC) curves were
116 used to assess diagnostic ability of continuous laboratory parameters using AKI and
117 intensive care support as endpoints. Fractional polynomials were used to assess the
118 relationship between hemoglobin and days of ongoing primaquine treatment. All
119 statistical analyses were performed using Stata v14 (StataCorp, Texas, USA). This
120 study was approved by the institutional Ethics Review Board (Approval 1943/2008) and
121 the National Brazilian Committee of Ethics (Approval 343/2009).

122

123 **Results**

124

125 From 2009 to 2017, 28,095 vivax malaria cases were recorded, where a total of 672
 126 patients (2.4%) required further hospitalization (Supplementary Figure 1).



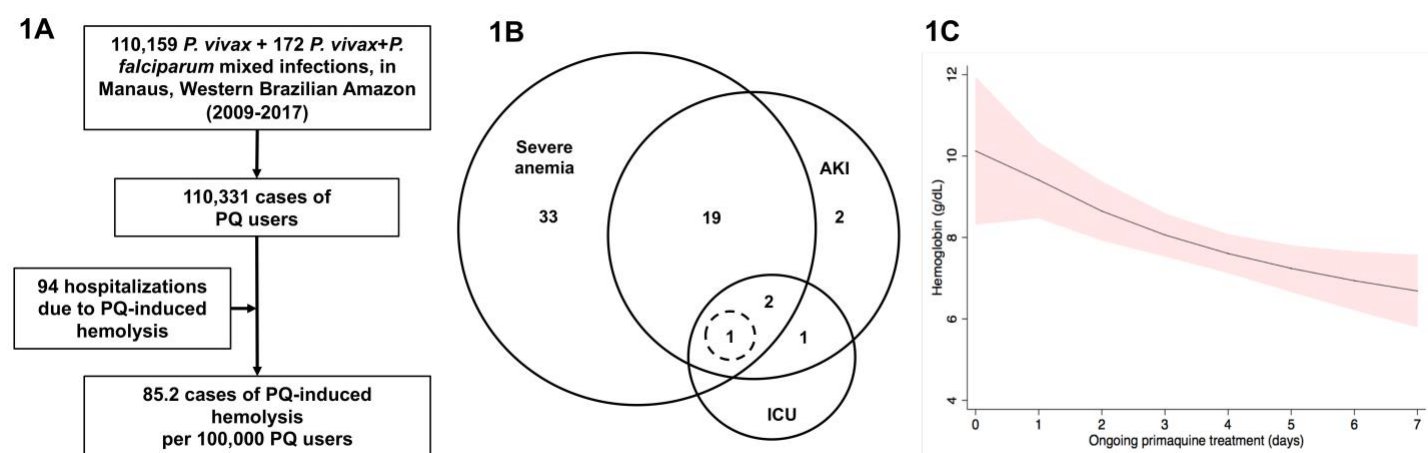
127

128 **Supplementary figure 1.** Flowchart of cases admitted to FMT-HVD from 2009 to 2017.
 129 ICU, intensive care unit; AKI, acute kidney injury.

130

131 Among those, 94 cases (13.9%) had G6PD deficiency and received primaquine
 132 treatment for that infection. The frequency of primaquine-induced hemolysis was 85.2
 133 cases per 100,000 primaquine users (Figure 1). Age varied greatly, from 4 to 84 years

134 [25.0±14.7]. Most patients were between 16 to 30 years of age ($n=36$; 38.3%), followed
 135 by 4 to 15 years ($n=30$; 31.9%). Pre-treatment parasitemias ranged mostly between
 136 200–300 parasites/mm³ ($n=35$), followed by 501–10,000 ($n=16$), 301–500 ($n=15$), and
 137 10,001–100,000 ($n=7$), most of them already negative at hospital admission ($n=56$;
 138 67.5%). Patients were mostly hospitalized following their third ($n=23$), fourth ($n=20$) and
 139 fifth ($n=12$) primaquine doses, when symptoms of AHA became clinically significant.
 140 The average duration of hospitalization was 6 days (± 6.3).



141
 142 **Figure 1.** Flowchart of primaquine-induced hemolysis cases per 100.000 primaquine users in
 143 Manaus from 2009 to 2017 (1A). Venn diagram summarizing the overlap in clinical syndromes
 144 (1B), where death is represented by the dashed circle. Univariate fractional polynomial
 145 regression curve for the prediction of hemoglobin fall through days of ongoing primaquine
 146 treatment, with 95% confidence intervals (1C). *PQ*, primaquine; *AKI*, acute kidney injury; *ICU*,
 147 intensive care unit.

148
 149 Twenty-eight (29.8%) patients had G6PD A^{-202A/376G} variant and one male (1.1%) had
 150 G6PD A^{+376G}. Of the 6 G6PD A^{-202A/376G} females genotyped, 3 were heterozygotes and
 151 3 homozygotes. Laboratory results showed severe anemia ($n=55$; 58.5%) as the most

152 common finding, followed by moderate ($n=29$; 30.8%) and mild cases ($n=7$; 7.4%).
153 Urine examination, when available, showed that 48.3% ($n=29$) of cases presented some
154 level of hemoglobinuria, 58.2% presented proteinuria ($n=32$), and 17.8% ($n=10$)
155 presented urobilinogenuria.

156
157 Thirty patients presented signs of bleeding mostly as hematuria ($n=25$; 83.3%) followed
158 by melena ($n=3$; 10.0%), and epistaxis ($n=2$; 6.6%). Thirty patients presented clinical
159 complications mostly as prostration ($n=18$; 60.0%) and respiratory impairment ($n=3$;
160 10.0%). Additionally, 26 patients (27.6%) developed AKI categorized as stage I ($n=11$;
161 42.3%), stage II ($n=3$, 11.5%), and stage III ($n=12$; 46.2%), of whom seven required
162 renal replacement therapy. Blood transfusion was necessary in 46 patients (48.9%). In
163 total, four patients required admission to the intensive care unit, and one hemizygous
164 male, genotyped as G6PD A-^{202A/376G}, died (Supplementary Table 1). Compared to the
165 opposite group, the group with AKI was characterized by a higher proportion of males
166 [26, 0; $P=0.004$], an increased need for ICU support [4, 0; $P<0.001$] and duration of
167 hospitalization [10.9, 4.1; $P<0.001$], and increased serum creatinine [2.2, 0.9; $P<0.001$],
168 urea [97, 37; $P<0.001$] and urine heme [16, 13; $P<0.001$]. Regarding severe anemia,
169 only hemoglobin (6.4, 9.9; $P<0.001$) and reticulocytes [5.9, 2.4; $P=0.013$] showed
170 significant differences compared to the group without severe anemia.

171 **Supplementary table 1. Summary of four cases admitted to intensive care unit between 2009 and 2017.**

Sex, Age	Background	Clinical picture at admission	Lab results at admission	Worst lab results as inpatient	Transfusi on	AKI / Dialysis	Outcome
M, 16	No history of malaria, clinical symptoms after sixth dose of primaquine, transferred to FMT-HVD	Asthenia, pallor, jaundice, dyspnea, vomiting, right lumbar region pain, tachydyspnea Pallor, jaundice, myalgia, fever, headache, nausea, haturia, oliguria, anorexia, hepatosplenomegaly	TBS: ½+Pv Hb 3.8; Hct 10%; Plt 321,000; Retic. 15%; Ind. Bili. 2.6; Total Bil. 2.9; LDH 6,391; ALT 50; AST 201; Creat 3.6; Urea 132; TBS: ++Pv Hb 14.0; Hct 39,44% Plt 10,000; Retic. 2.4%; Ind. Bili. 11.2; Total Bil. 32.9; LDH 1983; ALT 140; AST 216; Creat 2,4; Urea 164; Urine Hb ++	Hb 3.8; Hct 10% Plt 296,000; Retic. 15%; Ind. Bili.3.4; Total Bil. 3.4; LDH 6391; ALT 50; AST 249; Creat. 4.4; Urea 143 Hb 10,19; Hct 29,16%; Plt 10,000; Retic. 2,4% Ind. Bili. 11.2; Total Bil. 32.9; LDH 2169; ALT 140; AST 216; Creat 6,5; Urea 274; Urine Hb ++;	2 pRBC units	Stage 3/ No	Discharged after 12 days
M, 48	No information on previous malaria, pulmonary emphysema	Pallor, tachydyspnea, tachycardia, jaundice, acute respiratory distress syndrome	TBS: ½+Pv Hb 6,77 Hct 18,61%; Plt 81,000; Ind. Bili. 19,40; Total Bil. 46,38; LDH 1580; ALT 31; AST 28 Creat 2,6; Urea 215; Urine Hb Traits; Urine Bili +++ TBS: ½+Pv	Hb 5,79 Hct 16,06%; Plt 50,000; Ind. Bili. 36,24; Total Bil. 54,41; LDH 1580; ALT 31; AST 28; Creat 2,6; Urea 215; Urine Hb Traits; Urine Bili +++ Hb 5.08	1 pRBC unit	Stage 1/No	Died after 42 days
M, 33	Ten previous episodes of malaria, clinical symptoms after five days of primaquine, transferred to FMT-HVD. G6PD A _{-202A/376G}	Pallor, fever, headache, jaundice, nausea, vomiting, dehydration, haturia	Hb 5.08; Hct: 14,3% Plt :155,000; Retic. 3.9%; ; Ind. Bili. 1.9; Total Bil. 2.1; LDH 799; AST 139; ALT 13; Creat 2.2; Urea 127; Urine Hb +++; Urine Prot +	Hct 14,3%; Plt 92,000; Retic 4% Ind. Bili. 1.9; Total Bil. 2.1; LDH 4213 AST 139; ALT 50 Creat 8,1; Urea 356; Urine Hb +++; Urine Prot +	2 pRBC units	Stage 3/ 5 sessions	Discharged after 7 days
M, 8	Three previous episodes of malaria, hospitalized once previously, clinical symptoms after third dose of primaquine.						

172 TBS, thick blood smear; ½+, 200-300 parasites/mm³; ++, 501-10,000 parasites/mm³; Hb, hemoglobin; Hct, hematocrit; Retic, reticulocyte count;

173 Ind. Bili, indirect bilirubin; Total Bil. total bilirubin; LDH, lactate dehydrogenase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase;

174 Creat, creatinine; Urine Hb, urine hemoglobin; Urine Bili, urine bilirubin; pRBC, packed red blood cells

175 When using ROC curves for AKI as outcome, creatinine [AUC 0.87 (95%CI 0.77-0.97)]
 176 and urea [0.83 (95%CI 0.73-0.93)] presented fair discriminative performance. When
 177 using ICU admission as endpoint, creatinine [AUC 0.90 (95%CI 0.84-0.96)], urea [0.95
 178 (95%CI 0.91-1.0)], unconjugated bilirubin [0.72 (95%CI 0.41-1.0)], and AST [0.74
 179 (95%CI 0.35-1.0)] presented fair discriminative performances (Supplementary Table 2).

180

181 **Supplementary table 2. AUC of ROC depicting discriminatory performance of**
 182 **baseline laboratorial data according to outcome.**

Variable	Acute Kidney Injury		Intensive care support	
	AUC ROC (95% CI)	Cut point (Sens.; Spec.)	AUC ROC (95% CI)	Cut point (Sens.; Spec.)
Hemoglobin (g/dL)	0.41 (0.28-0.53)	8.8 (15.4-72.1)	0.34 (0.0-0.79)	6.7 (50.0-32.2)
Reticulocytes (%)	0.45 (0.28-0.63)	5.6 (42.8-54.3)	0.53 (0.16-0.89)	3.9 (66.6-41.3)
Platelets (x10 ³ /mm ³)	0.49 (0.36-0.63)	204 (50.0-46.9)	0.28 (0.0-0.60)	155 (50.0-29.5)
Creatinine (mg/dL)	0.87 (0.77-0.97)	1.4 (84.6-83.3)	0.90 (0.84-0.96)	2.2 (100.0-88.6)
Urea (mg/dL)	0.83 (0.73-0.93)	54 (72.0-70.0)	0.95 (0.91-1.0)	125 (100.0-92.6)
Total bilirubin (mg/dL)	0.47 (0.32-0.62)	3.7 (42.3-42.8)	0.67 (0.30-1.0)	30.5 (50.0-100.0)
Unc. bilirubin (mg/dL)	0.46 (0.32-0.60)	2.4 (57.7-44.4)	0.72 (0.41-1.0)	3.42 (75.0-55.2)
AST (IU/L)	0.62 (0.48-0.76)	69 (60.0-72.8)	0.74 (0.35-1.0)	139 (75.0-91.2)
ALT (IU/L)	0.56 (0.43-0.69)	30 (56.0-52.5)	0.57 (0.22-0.91)	31 (75.0-57.5)
DHL (U/L)	0.61 (0.46-0.77)	1580 (70.6-60.5)	0.42 (0.0-0.85)	1580 (66.6-52.6)

183 *Only continuous variables were used. Sens. (Sensitivity) and Spec. (Specificity) represented in %. AUC,*
 184 *area under the curve; ROC, receiver operating curve; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate*
 185 *aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; CI, confidence interval.*

186

187

188 Discussion

189

190 Primaquine intake is the main cause of hemolysis in Latin America [8]. In total, 55
191 patients presented severe anemia (46 patients received transfusion) and 26 developed
192 mostly severe stages of acute kidney injury, irrespective of age. It confirms that,
193 although the African variant is considered to cause self-limiting mild to moderate
194 hemolysis, the clinical course can be severe and life-threatening.

195

196 The pathogenesis of acute renal failure in G6PD deficiency, as in other hemolytic
197 syndromes, is believed to be caused by the effect of free heme on renal cells mostly
198 due to decreased renal perfusion, direct toxicity, and intratubular casts formed from the
199 interaction with Tamm-Horsfall protein [9]. Therefore, cases of exacerbated hemolysis
200 must be closely monitored to either avoid or promptly treat AKI. Standard markers of
201 renal function can aid in the diagnosis of AKI and serve as early predictors for the need
202 for intensive care.

203

204 Four patients required intensive care support and one patient died as a result of severe
205 anemia and complications. In a previous study on deaths associated to vivax malaria in
206 Brazil, two cases were found to be a direct result of AHA in G6PD deficient patients
207 [10,11]. Due to lack of testing at primary care, this number may be an underestimate of
208 the true mortality in vivax malaria infections.

209

210 Despite G6PDd prevalence of 5% in the Amazon Region, primaquine is still
211 administered without G6PD screening. In Brazil, the treatment of choice after diagnosis,
212 relies on a 12-week long weekly chloroquine regime to steadily clear out blood stage
213 forms although no studies have proven the efficacy of this approach [4]. Alternatively,
214 weekly primaquine has shown good efficacy against relapse but its safety in more
215 severe variants still requires further addressing and close monitoring [12].

216

217 As limitations, lack of prospective and detailed focused investigation, such as G6PD
218 activity quantification and pre-planned assessment of laboratory markers of hemolysis
219 at different times, resulted in incomplete data. Furthermore, testing during a hemolytic
220 crisis may falsely normalize G6PD status. Although in some cases hemolysis was
221 clearly evident and highly suggestive of G6PD deficiency, the qualitative method
222 employed may falsely lead to normal results, because testing was performed in the
223 midst of the hemolytic event.

224

225 Lastly, results show high morbidity in an important fraction of patients undergoing a
226 short-course primaquine treatment. However, many clinicians focus entirely on the rare
227 adverse events and never use primaquine, condemning the population to a continued
228 cycle of relapse and infection. Malaria elimination will require the use of primaquine, but
229 in safer regimens. Therefore, the current practice has to be changed and despite all the
230 difficulties, G6PD deficiency must systematically be tested for, especially with the
231 implementation of tafenoquine, a substitute drug for which no safety net exists as it is
232 given as a single dose.

233

234 **Funding**

235 This work was supported by the CAPES (Brasil) – Finance Code 001 and Fundació
 236 Cellex. The funders had no role in the study design, data collection and analysis,
 237 decision to publish, or preparation of the manuscript.

238

239 **Acknowledgements**

240 We would like to thank the Epidemiology Department at the FMT-HVD, Laila Rowena,
 241 Nadia Veras, and Paola Tejo for their assistance with data collection. The authors
 242 declare no conflict of interest.

243

244 **References**

- 245 1. Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, Alving AS. Enzymatic Deficiency in
 246 Primaquine-Sensitive Erythrocytes. *Science* (80-) 1956; 124:484–485.
 247 Available at:
 248 <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.124.3220.484-a>.
- 249 2. Howes RE, Battle KE, Satyagraha AW, Baird JK, Hay SI. G6PD Deficiency.
 250 Global Distribution, Genetic Variants and Primaquine Therapy. *Adv Parasitol*
 251 2013; 81:135–201.
- 252 3. World Health Organization. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Bull*
 253 *World Health Organ* 1989; 67:601–11. Available at:
 254 <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2491315&tool=pmc>
 255 [entrez&rendertype=abstract](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2491315&tool=pmc&rendertype=abstract).
- 256 4. Brazilian Ministry of Health. Guia prático de tratamento da malária no Brasil.
 257 Brasília Ministério da Saúde 2010; :36.
- 258 5. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of
 259 anaemia and assessment of severity. Geneva, Switz World Heal Organ 2011;
 260 :1–6. Available at:
 261 <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Haemoglobi>
 262 [n+concentrations+for+the+diagnosis+of+anaemia+and+assessment+of+seve](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Haemoglobi)
 263 [rity#1](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Haemoglobi).

- 264 6. Mehta RL, Kellum JA, Shah S V, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an
265 initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11:R31.
- 266 7. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre J V., Bates DW. Acute Kidney
267 Injury, Mortality, Length of Stay, and Costs in Hospitalized Patients. *J Am Soc*
268 *Nephrol* 2005; 16:3365–3370.
- 269 8. Monteiro WM, Franca GP, Melo GC, et al. Clinical complications of G6PD
270 deficiency in Latin American and Caribbean populations: systematic review
271 and implications for malaria elimination programmes. *Malar J* 2014; 13:70.
272 Available at: [http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-](http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-13-70)
273 [2875-13-70](http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-13-70).
- 274 9. Qian Q, Nath KA, Wu Y, Daoud TM, Sethi S. Hemolysis and Acute Kidney
275 Failure. *Am J Kidney Dis* 2010;
- 276 10. Lacerda MVG, Fragoso SCP, Alecrim MGC, et al. Postmortem Characterization
277 of Patients With Clinical Diagnosis of *Plasmodium vivax* Malaria: To What
278 Extent Does This Parasite Kill? *Clin Infect Dis* 2012; 55:e67–e74. Available at:
279 <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cis615>.
- 280 11. Monteiro WM, Moura-Neto JP, Recht J, Bassat Q, Lacerda MVG. Fatal
281 Primaquine-Induced Hemolysis in a Patient with *Plasmodium vivax* Malaria
282 and G6PD A(-) Variant in the Brazilian Amazon. *Clin. Infect. Dis.* 2016;
- 283 12. World Health Organization. Testing for G6PD deficiency for safe use of
284 primaquine in radical cure of *Plasmodium vivax* and *P. ovale* malaria. WHO
285 Policy Br 2016; Available at:
286 [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250297/1/WHO-HTM-GMP-2016.9-](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250297/1/WHO-HTM-GMP-2016.9-eng.pdf)
287 [eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250297/1/WHO-HTM-GMP-2016.9-eng.pdf).

288

4. LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS

A impossibilidade de coleta de dados devido à falta de investigação prospectiva e detalhada, como a quantificação da atividade da G6PD e avaliação planejada de marcadores laboratoriais de hemólise em diferentes momentos, resultou em dados incompletos. Além disso, a admissão hospitalar, a solicitação de exames e a alta dos pacientes foram feitas baseadas somente em decisões clínicas do(s) médico(s) atendente(s).

Adicionalmente, triagem para G6PD durante uma crise hemolítica causada pela primaquina ou logo após transfusão, podem erroneamente normalizar o *status* enzimático. Embora em alguns casos a hemólise fosse evidente e altamente sugestiva de deficiência de G6PD, o método qualitativo empregado identificou-os com atividade dentro da faixa de normalidade, porque reticulócitos possuem 5x mais atividade enzimática comparada a uma célula madura circulante (26,41).

À vista desta condição, observa-se que muitos clínicos concentram-se inteiramente nos eventos adversos raros e nunca usam primaquina, condenando a população a um ciclo contínuo de recaída e infecção. A eliminação da malária exigirá o uso de primaquina, mas em regimes mais seguros. Assim, a prática atual deve ser mudada e, apesar de toda dificuldade, a deficiência de G6PD deve ser sistematicamente testada, especialmente com a implementação da tafenoquina, um substituto para o qual não existe uma rede de segurança, visto que é administrada em dose única. Esse trabalho também permite mostrar a importância da testagem em todos os níveis de atenção, especialmente primário, no qual a população afetada é mais atendida. Estudos de implementação do teste estão em andamento na Amazônia Brasileira para avaliar o impacto financeiro, metodológico e clínico da medida. Concomitantemente, ensaios clínicos randomizados estão buscando o regime mais seguro e eficaz para a cura radical da malária nessa população.

5. CONCLUSÕES

- Resultados mostram alta morbidade em uma fração importante de pacientes submetidos ao tratamento com regime curto de primaquina (85,2 casos de hemólise por 100.000 casos de malária vivax);
- Anemia grave e injúria renal aguda, independente da idade do paciente, são complicações clínicas frequentes e potencialmente fatais;
- Marcadores laboratoriais de baixa complexidade realizados na rotina podem ajudar no diagnóstico e/ou tratamento precoce de pacientes hospitalizados, prevenindo desfechos desfavoráveis como admissão na UTI e IRA;
- Regimes mais seguros de primaquina serão necessários para cura radical da malária em pacientes com G6PDd;
- Apesar de ser conhecida como uma deficiência de classe III (hemólise branda e autolimitante), a variante Africana pode ser letal quando submetida ao uso indiscriminado de primaquina por 7 dias.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet*. 2008;371(9606):64–74.
2. Luzzatto L. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: From genotype to phenotype. *Haematologica*. 2006;91(10):1303–6.
3. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev*. 2007;21(5):267–83.
4. Pandolfi PP, Sonati F, Rivi R, Mason P, Grosveld F, Luzzatto L. Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress. *EMBO J*. 1995;14(21):5209–15.
5. Gaetani GD, Parker JC, Kirkman HN. Intracellular restraint: a new basis for the limitation in response to oxidative stress in human erythrocytes containing low-activity variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1974 Sep;71(9):3584–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4154443>
6. Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, Alving AS. Enzymatic Deficiency in Primaquine-Sensitive Erythrocytes. *Science* (80-) [Internet]. 1956;124(3220):484–5. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.124.3220.484-a>
7. Von Seidlein L, Auburn S, Espino F, Shanks D, Cheng Q, McCarthy J, et al. Review of key knowledge gaps in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency detection with regard to the safe clinical deployment of 8-aminoquinoline treatment regimens: A workshop report. Vol. 12, *Malaria Journal*. 2013.

8. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood Rev.* 2007;21(5):267–83.
9. Martini G, Toniolo D, Vulliamy T, Luzzatto L, Dono R, Viglietto G, et al. Structural analysis of the X-linked gene encoding human glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Eur Mol Biol Organ J.* 1986;5(8):1849–55.
10. Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*mus musculus* L.). *Nature.* 1961;190:372–3.
11. Shah SS, Diakite SAS, Traore K, Diakite M, Kwiatkowski DP, Rockett KA, et al. A novel cytofluorometric assay for the detection and quantification of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Sci Rep.* 2012;2.
12. Bancone G, Kalnoky M, Chu CS, Chowwiwat N, Kahn M, Malleret B, et al. The G6PD flow-cytometric assay is a reliable tool for diagnosis of G6PD deficiency in women and anaemic subjects. *Sci Rep.* 2017;7(1).
13. Galappaththy GN, Tharyan P, Kirubakaran R. Primaquine for preventing relapse in people with *Plasmodium vivax* malaria treated with chloroquine. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2013. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004389.pub3>
14. Howes RE, Dewi M, Piel FB, Monteiro WM, Battle KE, Messina JP, et al. Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. *Malar J.* 2013;12(1).
15. Howes RE, Battle KE, Satyagraha AW, Baird JK, Hay SI. G6PD deficiency: global distribution, genetic variants and primaquine therapy. *Adv Parasitol* [Internet]. 2013;81:133–201. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23384623>
16. Vulliamy T, Luzzatto L, Hirono A, Beutler E. Hematologically important mutations: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Blood Cells, Mol Dis.* 1997;23(2):302–13.

17. Howes RE, Piel FB, Patil AP, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. G6PD Deficiency Prevalence and Estimates of Affected Populations in Malaria Endemic Countries: A Geostatistical Model-Based Map. *PLoS Med*. 2012;9(11).
18. Howes RE, Battle KE, Satyagraha AW, Baird JK, Hay SI. G6PD Deficiency. Global Distribution, Genetic Variants and Primaquine Therapy. *Adv Parasitol*. 2013;81:135–201.
19. Monteiro WM, Val FFA, Siqueira AM, Franca GP, Sampaio VS, Melo GC, et al. G6PD deficiency in Latin America: systematic review on prevalence and variants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2014;109(5):553–68. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4156449&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
20. Santana MS, Monteiro WM, Siqueira AM, Costa MF, Sampaio V, Lacerda M V, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient variants are associated with reduced susceptibility to malaria in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 2013;107(5):301–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23479361>
21. World Health Organization. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Bull World Health Organ* [Internet]. 1989;67(6):601–11. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2491315&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
22. Hirono A, Fujii H, Shima M, Miwa S. G6PD Nara: a new class 1 glucose-6-phosphate dehydrogenase variant with an eight amino acid deletion. *Blood*. 1993;82:3250–2.
23. Oliveira RAG, Oshiro M, Hirata MH, Hirata RDC, Ribeiro GS, Medeiros TMD, et al. 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* [Internet]. 2009/06/01. 2009;32(2):251–4. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21637675>
24. Monteiro WM, Franca GP, Melo GC, Queiroz AL, Brito M, Peixoto HM, et al. Clinical complications of G6PD deficiency in Latin American and Caribbean populations: systematic review and implications for malaria elimination programmes. *Malar J* [Internet]. 2014;13(1):70. Available from:
<http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-13-70>
 25. Luzzatto L, Arese P. Favism and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 2018;378(1):60–71. Available from:
<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1708111>
 26. World Health Organization. Testing for G6PD deficiency for safe use of primaquine in radical cure of *Plasmodium vivax* and *P. ovale* malaria. WHO Policy Br [Internet]. 2016; Available from:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250297/1/WHO-HTM-GMP-2016.9-eng.pdf>
 27. Chu CS, Bancone G, Moore KA, Win HH, Thitipanawan N, Po C, et al. Haemolysis in G6PD Heterozygous Females Treated with Primaquine for *Plasmodium vivax* Malaria: A Nested Cohort in a Trial of Radical Curative Regimens. *PLoS Med*. 2017;14(2).
 28. Pamba A, Richardson ND, Carter N, Duparc S, Premji Z, Tiono AB, et al. Clinical spectrum and severity of hemolytic anemia in glucose 6-phosphate dehydrogenase-deficient children receiving dapsone. *Blood*. 2012;120(20):4123–33.
 29. Kheng S, Muth S, Taylor WRJ, Tops N, Kosal K, Sothea K, et al. Tolerability and safety of weekly primaquine against relapse of *Plasmodium vivax* in Cambodians with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *BMC Med* [Internet]. 2015;13(1):203. Available from:

<http://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-015-0441-1>

30. Watson J, Taylor WRJ, Menard D, Kheng S, White NJ. Modelling primaquine-induced haemolysis in G6PD deficiency. *Elife*. 2017;6.
31. Baird JK. Therapeutic principles of primaquine against relapse of *Plasmodium vivax* malaria. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* [Internet]. 2018;125(1):12098. Available from: <http://stacks.iop.org/1755-1315/125/i=1/a=012098>
32. BEUTLER E. The Hemolytic Effect of Primaquine and Related Compounds: a Review. *Blood*. 1959;
33. Ramos Júnior WM, Sardinha JFJ, Costa MRF, Santana MS, Alecrim MGC, Lacerda MVG. Clinical aspects of hemolysis in patients with *P. vivax* malaria treated with primaquine, in the Brazilian Amazon. *Brazilian J Infect Dis*. 2010;
34. Recht J, White NJ, Ashley E, World Health Organization, Mahidol Oxford Research Unit. Safety of 8-Aminoquinoline antimalarial medicines [Internet]. World Health Organization. 2014. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/112735>
35. Beutler E. The hemolytic effect of primaquine and related compounds: a review. *Blood*. 1959;14(2):103–39.
36. Frank JE. Diagnosis and management of G6PD deficiency. *Am Fam Physician*. 2005;72(2):1277–82.
37. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: A historical perspective. *Blood*. 2008;111(1):16–24.
38. Bancone G, Chu CS, Chowwiwat N, Somsakchaicharoen R, Wilaisrisak P, Charunwatthana P, et al. Suitability of capillary blood for quantitative assessment of G6PD activity and performances of G6PD point-of-care tests. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;92(4):818–24.

39. BREWER GJ, TARLOV AR, ALVING AS. Methaemoglobin reduction test: a new, simple, in vitro test for identifying primaquine-sensitivity. *Bull World Health Organ* [Internet]. 1960;22(6):633–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13804322>
40. PATH. A guide to fluorescent spot testing for G6PD deficiency. 2014; Available from: <http://sites.path.org/dx/files/2012/04/FST-Guidebook.pdf>
41. Domingo GJ, Satyagraha AW, Anvikar A, Baird K, Bancone G, Bansil P, et al. G6PD testing in support of treatment and elimination of malaria: Recommendations for evaluation of G6PD tests. In: *Malaria Journal*. 2013.
42. Kim S, Nguon C, Guillard B, Duong S, Chy S, Sum S, et al. Performance of the carestart™ G6PD deficiency screening test, a point-of-care diagnostic for primaquine therapy screening. *PLoS One*. 2011;6(12):e28357.
43. Von Fricken ME, Weppelmann TA, Eaton WT, Masse R, Beau De Rochars MVE, Okech BA. Performance of the carestart glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) rapid diagnostic test in gressier, Haiti. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;
44. Adu-Gyasi D, Asante KP, Newton S, Dosoo D, Amoako S, Adjei G, et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of CareStart G6PD deficiency Rapid Diagnostic Test (RDT) in a malaria endemic area in Ghana, Africa. *PLoS One*. 2015;10(4):e0125796.
45. Ley B, Bancone G, Von Seidlein L, Thriemer K, Richards JS, Domingo GJ, et al. Methods for the field evaluation of quantitative G6PD diagnostics: A review. Vol. 16, *Malaria Journal*. 2017.
46. LaRue N, Kahn M, Murray M, Leader BT, Bansil P, McGray S, et al. Comparison of quantitative and qualitative tests for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2014;91(4):854–61. Available from:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4183416&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

47. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Report of a WHO Scientific Group. Vol. 366, World Health Organization - Technical Report Series. 1967. p. 1–53.
48. Brito MAM, Peixoto HM, de Almeida ACG, de Oliveira MRF, Romero GAS, Moura-Neto JP, et al. Validation of the rapid test Carestart™ G6PD among malaria vivax-infected subjects in the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49(4):446–55.
49. Alam MS, Kibria MG, Jahan N, Thriemer K, Hossain MS, Douglas NM, et al. Field evaluation of quantitative point of care diagnostics to measure glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *PLoS One* [Internet]. 2018 Nov 2;13(11):e0206331. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206331>
50. Bancone G, Gornsawun G, Chu CS, Porn P, Pal S, Bansil P, et al. Validation of the quantitative point-of-care CareStart biosensor for assessment of G6PD activity in venous blood. *PLoS One.* 2018;
51. Kahn M, LaRue N, Bansil P, Kalnoky M, McGray S, Domingo GJ. Cryopreservation of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity inside red blood cells: developing a specimen repository in support of development and evaluation of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency tests. *Malar J* [Internet]. 2013 Aug 20;12:286. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23961874>
52. Ta TH, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malar J.* 2014;13(1).
53. Mueller I, Galinski MR, Baird JK, Carlton JM, Kochar DK, Alonso PL, et al.

- Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. Vol. 9, *The Lancet Infectious Diseases*. 2009. p. 555–66.
54. Brasil. Guia prático de tratamento da malária no Brasil. Bras - Ministério da Saúde. 2010;36.
 55. World Health Organization. World Malaria Report [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259492/1/9789241565523-eng.pdf?ua=1>
 56. World Health Organization. World Malaria Report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
 57. Bassat Q, Velarde M, Mueller I, Lin J, Leslie T, Wongsrichanalai C, et al. Key knowledge gaps for *Plasmodium vivax* control and elimination. Vol. 95, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016. p. 62–71.
 58. Val F, Machado K, Barbosa L, Salinas JL, Siqueira AM, Alecrim MGC, et al. Respiratory Complications of *Plasmodium vivax* Malaria: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2017;97(3):tpmd170131. Available from: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.17-0131>
 59. Val F, Avalos S, Gomes AA, Zerpa JEA, Fontecha G, Siqueira AMH, et al. Are respiratory complications of *Plasmodium vivax* malaria an underestimated problem? *Malar J*. 2017;16(1).
 60. Naing C, Whittaker MA, Nyunt Wai V, Mak JW. Is *Plasmodium vivax* Malaria a Severe Malaria?: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(8).
 61. Price RN, Tjitra E, Guerra CA, Yeung S, White NJ, Anstey NM. *Vivax* malaria: Neglected and not benign. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(SUPPL. 6):79–87.

62. Baird J, Louisa M, Noviyanti R, al et. Association of impaired cytochrome p450 2d6 activity genotype and phenotype with therapeutic efficacy of primaquine treatment for latent plasmodium vivax malaria. JAMA Netw Open [Internet]. 2018 Aug 31;1(4):e181449. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.1449>
63. Bennett JW, Pybus BS, Yadava A, Tosh D, Sousa JC, McCarthy WF, et al. Primaquine Failure and Cytochrome P-450 2D6 in Plasmodium vivax Malaria. N Engl J Med. 2013;369(14):1381–2.
64. Llanos-Cuentas A, Lacerda M V., Rueangweerayut R, Krudsood S, Gupta SK, Kochar SK, et al. Tafenoquine plus chloroquine for the treatment and relapse prevention of Plasmodium vivax malaria (DETECTIVE): A multicentre, double-blind, randomised, phase 2b dose-selection study. Lancet. 2014;383(9922):1049–58.
65. Price RN, Nosten F. Single-dose radical cure of Plasmodium vivax: A step closer. Vol. 383, The Lancet. 2014. p. 1020–1.
66. Llanos-Cuentas A, Lacerda MVG, Hien TT, Vélez ID, Namaik-larp C, Chu CS, et al. Tafenoquine versus Primaquine to Prevent Relapse of Plasmodium vivax Malaria. N Engl J Med [Internet]. 2019 Jan 16;380(3):229–41. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802537>
67. Lacerda MVG, Llanos-Cuentas A, Krudsood S, Lon C, Saunders DL, Mohammed R, et al. Single-Dose Tafenoquine to Prevent Relapse of Plasmodium vivax Malaria. N Engl J Med [Internet]. 2019 Jan 16;380(3):215–28. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1710775>
68. Li Q, O’Neil M, Xie L, Caridha D, Zeng Q, Zhang J, et al. Assessment of the prophylactic activity and pharmacokinetic profile of oral tafenoquine compared to primaquine for inhibition of liver stage malaria infections. Malar J [Internet]. 2014 Apr;13(1):141. Available from: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-141>

69. Beutler E, Dern RJ, Flanagan CL, Alving AS. The hemolytic effect of primaquine. VII. Biochemical studies of drug-sensitive erythrocytes. *J Lab Clin Med* [Internet]. 1955;45(2):286–95. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&opt=Citation&list_uids=13233657
70. Beutler E, Dern RJ, Alving AS. The hemolytic effect of primaquine. VI. An in vitro test for sensitivity of erythrocytes to primaquine. *J Lab Clin Med*. 1955;45(1):40–50.
71. Lacerda MVG, Fragoso SCP, Alecrim MGC, Alexandre MAA, Magalhães BML, Siqueira AM, et al. Postmortem Characterization of Patients With Clinical Diagnosis of *Plasmodium vivax* Malaria: To What Extent Does This Parasite Kill? *Clin Infect Dis* [Internet]. 2012;55(8):e67–74. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cis615>
72. Recht J, Ashley EA, White NJ. Use of primaquine and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency testing: Divergent policies and practices in malaria endemic countries. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018 Apr 19;12(4):e0006230–e0006230. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29672516>
73. Monteiro WM, Moura-Neto JP, Recht J, Bassat Q, Lacerda MVG. Fatal Primaquine-Induced Hemolysis in a Patient with *Plasmodium vivax* Malaria and G6PD A(-) Variant in the Brazilian Amazon. *Clin Infect Dis*. 2016;62(9):1188.
74. Watson J, Taylor WRJ, Bancone G, Chu CS, Jittamala P, White NJ. Implications of current therapeutic restrictions for primaquine and tafenoquine in the radical cure of vivax malaria. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018 Apr 20;12(4):e0006440–e0006440. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29677199>
75. Leslie T, Mayan I, Mohammed N, Erasmus P, Kolaczinski J, Whitty CJM, et

al. A randomised trial of an eight-week, once weekly primaquine regimen to prevent relapse of Plasmodium vivax in Northwest Frontier Province, Pakistan. PLoS One. 2008;3(8).

76. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria, 3rd edition [Internet]. WHO. 2015. Available from:
http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547925%7B_%7Deng.pdf

7. ANEXOS E APÊNDICES

7.1 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA CARLOS BORBOREMA
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR HEITOR VIEIRA DOURADO

Código POP	POP_IPCCB_LAB_017_v01_PT		
Título	Procedimento operacional padrão para pesquisa de dados clínicos, laboratoriais e demográficos em prontuários eletrônicos no sistema iDoctor®		
Idioma da versão original	PT		
Elaborado por: Jose Diego B Sousa	Revisado por: Gisely Cardoso de Melo	Aprovado por:	Data de aplicação:
Data e assinatura	Data e assinatura	Data e assinatura	Data da próxima revisão:

Histórico de revisões			
Nome	Assinatura	Data (DD/MMM/AA)	Alterações realizadas

1. OBJETIVO

Descrever os procedimentos a serem seguidos no processo de busca de prontuários eletrônicos e seus respectivos dados, conduzidos no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema (IPCCB) e nas dependências da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Pesquisador responsável, co-pesquisadores, farmacêutico-bioquímico, biomédicos, auxiliar ou técnico de enfermagem ou de laboratório e enfermeiro ou qualquer outro membro habilitado pela Diretoria de Assistência Médica (DAM) para uso do sistema.

3. RESPONSABILIDADES

As pessoas responsáveis pela implantação e pelo treinamento nos procedimentos presentes deste POP são o PI, farmacêuticos-bioquímicos, biomédicos, gerentes de setores e os demais profissionais por ele designados. Os dados de pacientes atendidos na instituição são confidenciais e, portanto, necessitam de aprovação ética para condução de estudos prospectivos e retrospectivos de prontuários eletrônicos.

4. PROCEDIMENTOS

4.1 Acesso ao sistema on-line

- Acessar o site: <http://10.46.24.17/idoctor/home.seam?conversationId=3> (O site deve ser acessado nas dependências da FMT-HVD, em redes habilitadas pelo setor de informática.
- Fazer o *login* com as credenciais (deve ser solicitada na secretaria da malária que encaminhará a solicitação para a Diretoria de Assistência Médica (DAM))



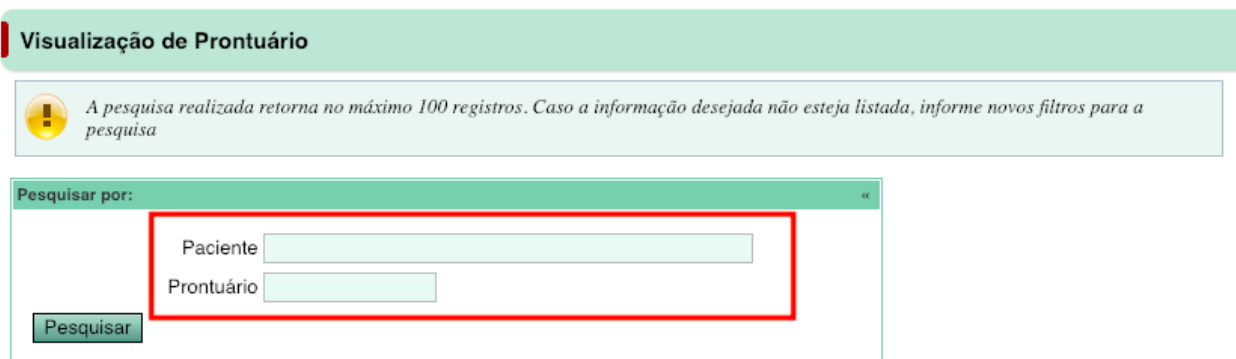
- Inserir senha e autenticar



d) Na página inicial do sistema, clicar em “Visualização de prontuário”:



e) Procurar o paciente pelo nome ou número de prontuário:



f) Ao selecionar o paciente, clicar em “Evoluções ou retornos” para visualização de dados clínicos ou em “Exames” para visualização de resultados laboratoriais.

Prontuário do Paciente - Evoluções (Somente Leitura)

Paciente (Dados Cadastrais) | Idade: 25 anos e 4 meses |
 Sexo: | Atendimento: SUS - 06/11/2017 (Em andamento) |
 Prontuário: | Situação: Em Atendimento Ambulatorial | Data de Nascimento: | Nome da mãe: |

Visualizar também as evoluções de enfermagem Ver: Todos os registros

Não há evoluções cadastradas para o paciente

primeira | anterior | próxima | última

Opções

- Atendimento
- Assistente de Atendimento
- Altas do Paciente
- Atestados/Declarações
- Consultas
- Documentos a Assinar
- Documentos Digitalizados
- Encaminhamentos
- Evoluções ou Retornos**
- Evolução dos Marcadores
- Exames

g) Para impressão de todo o prontuário com todos os dados disponíveis (clínicos e laboratoriais) de todos os atendimentos, clicar em “Impressão de prontuário” na barra verde a direita da tela:

Tipo de Documento: -- Todos os registros --

Período: 26/12/2018 a 26/12/2018

Filtrar pelo atendimento selecionado

Pesquisar (F2)

Ordenar por: Data

Selecionar: Todos, Nenhum


Nenhum documento para impressão encontrado

Imprimir (F3) | Imprimir com Declaração (F4)

Opções

- Documentos a Assinar
- Documentos Digitalizados
- Encaminhamentos
- Evoluções ou Retornos
- Evolução dos Marcadores
- Exames
- Fichas de Atendimento
- Internações
- Visualização de Lesões
- Parecer de Especialistas
- Prescrições de Internação
- Procedimentos Cirúrgicos
- Procedimentos do Paciente
- Pronto-Atendimento
- Recetário
- Vacinas
- Apache II
- Impressão do Prontuário**
- Conclusão do Atendimento

h) Ao abrir a página de impressão do prontuário, selecionar o tipo de documento a ser impresso (evoluções médicas, exames, etc) e o período referente ao mesmo.

 São listados apenas os documentos assinados do prontuário do paciente.

Pesquisar por

Tipo de Documento -- Todos os registros --

Período 26/12/2018 a 26/12/2018

Filtrar pelo atendimento selecionado

Pesquisar (F2)

Ordenar por Data

Selecionar: Todos, Nenhum

Nenhum documento para impressão encontrado

Imprimir (F3) Imprimir com Declaração (F4)

i) Um documento será gerado para impressão ou armazenamento digital.

5. Anexos

Título	Mudanças ou traduções realizadas

6. Declaração

Este documento se refere à versão final deste POP e encontra-se em vigor a partir da data estipulada no cabeçalho.

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA CARLOS BORBOREMA
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR HEITOR VIEIRA DOURADO

Código POP	POP_IPCCB_LAB_090_v01_PT		
Título	Procedimento operacional padrão para <i>screening</i> de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase pelo teste de Brewer ou teste de redução de meta-hemoglobinemia		
Idioma da versão original	PT		
Elaborado por: Jose Diego B Sousa	Revisado por:	Aprovado por:	Data de aplicação:
Data e assinatura	Data e assinatura	Data e assinatura	Data da próxima revisão:

Histórico de revisões			
Nome	Assinatura	Data (DD/MMM/AA)	Alterações realizadas

1. OBJETIVO

Descrever os procedimentos a serem seguidos no processo de avaliação qualitativa de atividade enzimática da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase conduzido no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema (IPCCB) da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Pesquisador responsável, co-pesquisadores, farmacêutico-bioquímico, biomédicos ou qualquer outro membro da equipe apto e treinado para manejo e processamento de amostras biológicas.

3. SIGLAS

G6PD	Glicose 6-fosfato desidrogenase
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato reduzido
ACD	Ácido citrato dextrose (anticoagulante)

4. DEFINIÇÕES

- Enzima G6PD – A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase está presente em todas as células e atua como catalisadora no primeiro passo do ciclo das pentoses (oxidação de glicose). Oxida a glicose-6-fosfato a fosfogluconato e reduz o NADP em NADPH.

- Deficiência de G6PD – alteração genética que leva a baixa atividade enzimática da G6PD nos eritrócitos, que pode levar a hemólise em determinadas situações, como por exemplo a hemólise induzida por alguns medicamentos (Ex.: Primaquina).

5. RESPONSABILIDADES

As pessoas responsáveis pela implantação e pelo treinamento nos procedimentos presentes deste POP são o PI, farmacêuticos-bioquímicos, biomédicos e os demais profissionais por ele designados.

6. MÉTODO

Análise qualitativa da deficiência de G6PD em sangue total.

7. PRINCÍPIO DO MÉTODO

A solução de nitrito oxida a hemoglobina tornando-a em meta-hemoglobina, e esta é reconvertida em hemoglobina na presença de azul de metileno pela via das pentoses fosfato. Após incubação de 3 horas a 37°C, mudança de cor revela o *status* enzimático do paciente.

8. AMOSTRA

Tipo de amostra: sangue total preferencialmente fresco (EDTA, heparina, ACD) ou armazenado por até 3 dias a 4°C.

Volume da amostra: 1mL.

Estabilidade da amostra: A amostra deve ser analisada o mais rapidamente possível após coletada, do contrário, manter em geladeira (2-8°C) por até 3 dias.

Amostras inaceitáveis: Amostras de sangue hemolisado ou coagulado serão rejeitadas.

9. MATERIAIS

Tubos de hemólise além de pipetas e ponteiros com capacidade de 50 μ L e 1000 μ L.

10. REAGENTES

Glicose 0,18M

Nitrito de Sódio 0,18M

Azul de metileno 0,0004M

Água destilada

11. EQUIPAMENTOS

Banho Maria

12. PROCEDIMENTOS

- a) Separar 3 tubos de hemólise com 1mL de sangue total em cada.
- b) No primeiro tubo, adicionar 50 μ L de glicose, 50 μ L nitrito de sódio e 50 μ L azul de metileno (teste).
- c) No segundo tubo, adicionar 50 μ L de glicose, 50 μ L nitrito de sódio (controle deficiente)
- d) No terceiro tubo, deixar apenas o sangue total, sem adição de reagentes (controle normal).
- e) Misturar por inversão e incubar a 37°C por 3 horas, sem agitar.
- f) Transferir 50 μ L de cada tubo para um novo tubo e adicionar 5mL de água destilada em cada.
- g) Após 10 minutos, visualizar a coloração das soluções.

13. RESULTADOS

O resultado pode variar de vermelho claro a marrom castanho no tubo 1. O aparecimento de cor vermelho claro indica normalidade do resultado. O aparecimento de cor marrom castanho indica deficiência enzimática. Os tubos 2 e 3 devem ser os controles deficiente e normal, respectivamente, e sempre devem acompanhar a análise para comparação dos resultados.

14. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- a) Reticulócitos apresentam atividade aumentada de G6PD e podem erroneamente normalizar o resultado durante uma crise hemolítica devido a sua produção para compensação da anemia. Nesses casos, realizar teste após o fim da crise hemolítica e retorno de exames laboratoriais a valores basais. Se o paciente recebeu transfusão de sangue, esse teste só será clinicamente significativo após 120 dias, porque os

eritrócitos do doador geralmente manifestam uma atividade de G6PD normal e, portanto, podem falsear o resultado.

- b) Mulheres podem apresentar diferentes colorações intermediárias entre vermelho e castanho devido a heterozigosidade e lionização, e portanto, devem ser acompanhadas em caso de incerteza de coloração no resultado.

15. Anexos

Título	Mudanças ou traduções realizadas

16. Declaração

Este documento se refere à versão final deste POP e encontra-se em vigor a partir da data estipulada no cabeçalho.

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA CARLOS BORBOREMA
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR HEITOR VIEIRA DOURADO

Código POP	POP_IPCCB_LAB_001_v01_PT		
Título	Procedimentos operacionais padrão para preparo e leitura de lâminas para detecção de <i>Plasmodium</i> spp.		
Idioma da versão original	PT		
Elaborado por: André M. Siqueira; Camila Menezes Anne Cristine Gomes de Almeida	Revisado por: Gisely C. Melo	Aprovado por: Gisely C. Melo	Data de aplicação:
Data e assinatura	Data e assinatura	Data e assinatura	Data da próxima revisão:

Histórico de revisões			
Nome	Assinatura	Data (DD/MM/AA)	Alterações realizadas

1. OBJETIVOS

Descrever os procedimentos para preparo, coloração, leitura e registro de resultado de lâminas para detecção de *Plasmodium* spp. utilizando gota espessa.

2. DEFINIÇÕES

Não se aplica.

3. APLICAÇÃO

Todas as lâminas coletadas para detecção de *Plasmodium* spp. durante o estudos PregVAX, “Epidemiologia da Malária no Município do Careiro, Amazonas”, “Caracterização Clínica da Malária Complicada por *Plasmodium vivax*” e “Epidemiologia comparativa da transmissão de *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* no Brasil, Tailândia e Papua Nova Guiné”.

4. RESPONSABILIDADES

Pessoal encarregado da coleta das amostras, técnicos e microscopistas, chefia do laboratório.

5. POP'S RELACIONADOS

- Seguimento dos participantes no estudo “Epidemiologia da Malária no Município do Careiro, Amazonas” (versão atual do POP_MAL_TC_002);
- Triagem e seguimento dos pacientes no estudo de malária grave por *Plasmodium vivax* (versão atual do POP_MAL_HO_001);
- Procedimento para o Seguimento dos participantes no estudo “Epidemiologia comparativa da transmissão de *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* no Brasil, Tailândia e Papua Nova Guiné”, nas comunidades do Brasileirinho, Ipiranga e Puraquequara, Manaus/AM (versão atual do POP_MAL_TC_004).

6. PROCEDIMENTOS

6.1 Coleta e identificação das amostras

- A depender do protocolo do estudo, em cada local (campo, unidade básica de saúde ou hospital) serão coletadas:
 - duas gotas espessas por indivíduo; ou
 - quatro lâminas por pessoa - duas com duas gotas espessas na mesma lâmina e duas com esfregaço.
 - Após limpar a polpa do dedo anelar com algodão embebido em álcool a 70%. Fazer a punção digital com lanceta estéril. Comprimir o dedo suavemente;
 - Duas gotas espessas serão preparadas na mesma lâmina, alternativamente a uma gota espessa e um esfregaço. Confeccionar uma gota espessa homogênea de 1,5 x 1,0 cm na lâmina de vidro;
 - Uma etiqueta de identificação, contendo código de barras e números únicos, será colada na margem da lâmina, como segue:
-
- Os três formulários seguintes serão preenchidos no momento da coleta da lâmina no hospital, na unidade básica de saúde ou no campo:

- Uma Ficha de amostras de laboratório;
 - ✓ Cada estudo tem uma diferente Ficha de amostras de laboratório, onde os tipos de amostras coletadas de cada estudo são especificados;
 - ✓ Uma etiqueta de identificação de amostra será pregada e o nome o número de identificação no estudo de cada paciente será preenchido.

- Um formulário de Resultado da primeira leitura de lâmina (versão atual do POP_MAL_LB_001_A01 ou POP_MAL_LB_001_A03) e de Resultado da segunda leitura de lâmina (versão atual do POP_MAL_LB_001_A02)
 - ✓ Uma etiqueta de identificação será colada em cada formulário, que também será preenchido com nome e número de identificação permanente (NIP) do paciente no estudo, além da data de coleta da lâmina.

6.2 Recepção de amostras no laboratório

- As lâminas serão levadas inicialmente para o laboratório mais próximo ao local da coleta (campo, unidade básica de saúde ou hospital) onde serão devidamente coradas (seção 6.3) e será realizada a leitura rápida.
- Para leitura de densidade parasitária, as lâminas serão enviadas ao laboratório da Gerência de Malária acompanhadas de:
 - Uma Ficha de amostras de laboratório para cada paciente, acompanhada de:
 - Um formulário de Resultado da primeira leitura de lâmina (versão atual do POP_MAL_LB_001_A01 ou POP_MAL_LB_001_A03) e um de Resultado da segunda leitura de lâmina (versão atual do POP_MAL_LB_001_A02) para cada paciente

- Quando as amostras chegarem ao laboratório, a pessoa encarregada da recepção checará se todas as amostras registradas na Ficha de amostras de laboratório foram entregues.
- A Ficha de amostras de laboratório será preenchida no local da coleta em ordem de data.
- Após a recepção, caso não sejam realizada a leitura da densidade parasitária no mesmo momento da chegada, estas serão armazenadas conforme procedimento descrito na seção 8.

6.3 Coloração

6.3.1 Reagentes

- Azul de metileno fosfatado
- Solução alcoólica de Giemsa estoque

- Solução alcoólica de Giemsa diluída 1:10
- Água tamponada

6.3.1.1 Preparação

Azul de metileno fosfatado		
Azul de metileno medicinal em pó	16H18CIN3S	200mg
Fosfato de sódio monobásico	NaH ₂ PO ₄	600mg
Fosfato de potássio bibásico	K ₂ HPO ₄	200mg
Água destilada	H ₂ O	250mL
Filtrar para retirar as impurezas		

Solução alcoólica de Giemsa estoque		
Corante Giemsa em pó	C ₁₄ H ₁₄ CIN ₃ S	750mg
Álcool metílico PA	CH ₃ OH	65mL
Glicerina PA	CH ₂ (OH)CH(OH)CH ₂ OH	35mL
<p>Agitar bem (várias vezes por dia) em garrafa contendo pérolas de vidro.</p> <p>Manter o recipiente tampado em forma de estoque.</p> <p>Filtrar quando necessário</p>		

Solução alcoólica de Giemsa diluída 1:10	
Solução alcoólica de Giemsa estoque	1 gota
Água tamponada	1mL

Água tamponada		
Fosfato bibásico de sódio	Na ₂ HPO ₄	6g
Fosfato monobásico de potássio	KH ₂ PO ₄	4g
<p>Misturar em gral de porcelana.</p> <p>Diluir 1 g da mistura em 1000 mL de água destilada.</p>		

6.3.1.2 Armazenamento dos reagentes

Os reagentes utilizados nesse procedimento devem ser armazenados em temperatura ambiente.

6.3.2 Procedimento

1ª fase: Desemoglobinização pela solução hipotônica de azul de metileno.

- Aplicar a solução de azul de metileno fosfatado sobre a gota espessa de sangue, por dois segundos.
- Enxaguar a lâmina com água tamponada (sem jato forte).

2ª fase: Coloração pela solução de Giemsa para coloração da gota espessa.

- As lâminas devem ser coradas dentro de 72 horas com uma solução de Giemsa a 10% com água tamponada.
- Colocar a lâmina com o lado da gota voltada para a superfície da placa de coloração.
- Preparar uma solução de Giemsa na proporção de uma gota de corante para 1ml (1 gota) de água tamponada. Homogeneizar
- Aplicar esta solução na placa côncava de coloração, sob a lâmina invertida.
- Deixar corar por 10 minutos.
- Enxaguar com água tamponada (sem jato forte).
- Secar ao calor suave ou sob ventilação.

3ª fase: Coloração do esfregaço método de Giemsa

- Fixar o esfregaço com álcool metílico por um minuto.
- Deixar secar.
- Colocar a lâmina invertida sobre a placa de coloração.
- Despejar a diluição do corante de Giemsa na proporção de uma gota do corante para 1ml de água tamponada.
- Deixar corar por 20 a 30 minutos.
- Enxaguar com jato forte de água tamponada.
- Secar ao calor suave ou sob ventilação.

4ª fase: Montagem das lâminas (no caso de a leitura da densidade parasitária não for realizada no mesmo dia da coloração, realizar a montagem, como segue):

- Pingar duas a três gotas de Entelan® em cada lâmina.

- Colocar uma lamínula sobre as gotas.
- Deixar secar sob temperatura ambiente.

6.4 Controle de qualidade da coloração de lâminas

- A solução de Giemsa deve ser controlada antes do uso. Isto é realizado preparando a solução de Giemsa 1:10 que será usada e corando uma lâmina sabidamente positiva. Não deve haver coloração das hemácias.
- Cada nova preparação de Giemsa deve ser submetida a controle de qualidade.
- O tampão de pH deve ser checado utilizando pHmetro ou fita, estando o pH a 7,2. O pH deve ser ajustado se necessário. O tampão deve ser analisado ao menos duas vezes por semana se for preparado em grandes quantidades.

6.5 Leitura

- Antes do início da contagem, o equivalente a 0.25 MI de sangue (aproximadamente 100 campos utilizando uma ocular de 10X e uma objetiva de 100X) deverá ser examinado para determinar a espécie do parasito e estágios que possam estar presentes.
- Coloque uma gota de óleo de imersão sobre a lamínula.
- Ligue o microscópio. Cheque a presença de ocular de 10X.
- Com o condensador elevado, a lâmina corada é colocada no suporte e a fonte de luz é ajustada visibilizando pela ocular e pela objetiva de 100X.
- Ao mover lentamente a objetiva de imersão, uma camada de óleo será formada entre a lâmina e a lente. O ajuste fino é usado para focar o campo; a lente não deve tocar a lâmina.
- O exame microscópico deve ser sistemático e padronizado. Ele deve iniciar pela extremidade esquerda da lâmina. A leitura é iniciada da periferia do campo e termina no centro. Quando o campo está lido, move-se a lâmina longitudinalmente para examinar os campos adjacentes. Move-se a lâmina verticalmente para que outra fileira/largura seja lida. Há cerca de 100 campos em um eixo de 2 cm da lâmina;
- No início será realizada a leitura rápida das lâminas para guiar o tratamento e, após, será feita a quantificação da densidade parasitária para determinar o resultado final.

6.5.1 Leitura rápida

- As lâminas serão lidas imediatamente após a coleta para guiar o tratamento. Tal leitura será realizada tanto no posto de saúde / hospital, quanto para as lâminas que sejam levadas diretamente para o laboratório.

- A leitura rápida será realizada conforme a prática padrão em cada centro.
- Os resultados da leitura rápida serão transcritos no formulário apropriado de cada estudo (versões atuais de POP_MAL_TC_002_A01, POP_MAL_TC_002_A02, POP_MAL_HO_002_A01, POP_MAL_HO_002_A02).

6.5.2 Leitura da densidade parasitária: parasitos por μL .

- Uma vez coradas, as lâminas serão colocadas em caixas e distribuídas com o formulário de primeira leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A01 ou POP_MAL_LB_001_A03) ao microscopista que realizará a primeira leitura.
- Para contagem de parasitos e leucócitos separadamente, dois contadores devem ser usados, um para as formas assexuadas do parasito e outro para os leucócitos. Caso detecte-se infecção mista, outro contador deverá ser utilizado para a contagem de formas da outra espécie.
- Determinando uma lâmina como negativa:
 - O microscopista irá ler a lâmina até que 200 campos tenham sido contados.
 - A lâmina apenas será determinada negativa quando nenhum parasito for encontrado em 200 campos.
- Caso sejam vistas formas assexuadas de *Plasmodium* spp:
 - O microscopista contará parasitos até que o número de 500 leucócitos ou 500 parasitos seja alcançado.
 - Caso o microscopista já tenha contado 500 leucócitos ou mais quando o primeiro parasito for visto, a leitura será interrompida.
 - A contagem de parasitos ou leucócitos não será interrompida até que o campo inteiro seja lido.
 - Este método será usado tanto para infecções únicas ou mistas por *Plasmodium*. No segundo caso, os parasitos de cada espécie deverão ser contados separadamente.
 - A contagem parasitária em relação à contagem de leucócitos pode ser convertida a parasitos por μL usando a seguinte fórmula matemática:

$$\text{N}^{\circ} \text{ de parasitos} \times 8000 / \text{N}^{\circ} \text{ de leucócitos} = \text{parasitos por } \mu\text{L}$$

- Está fórmula será calculada para cada espécie de parasito encontrada.

- Caso o número de leucócitos para cada participante seja conhecido (ex: estudo de malária vivax grave), a densidade pode ser calculada mais precisamente com a seguinte fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{ de parasitos} \times \text{N}^\circ \text{ de leucócitos} / \text{N}^\circ \text{ de leucócitos} = \text{parasitos por } \mu\text{L}$$

- **Contagem de formas sexuais**

- As lâminas de Gota espessa serão revisadas para quantificação dos gametócitos em 100 leucócitos. A conversão para gametócitos/ μL é realizada por cálculo simples, utilizando como valor de referência 8000 leucócitos/ mm^3 ou o número total de leucocitos do paciente (obtido pelo Hemograma).

$$\text{N}^\circ \text{ de gametócitos} \times \text{N}^\circ \text{ de leucócitos (totais ou 8000)} / 100 = \text{gametócitos por } \mu\text{L}$$

- Este procedimento é semelhante aos métodos diagnósticos preconizados pelas diretrizes do CLSI do CDC (contagem superior a 500 parasitos ou 1000 leucócitos) e também similar às diretrizes da OMS (que para densidades < 10 parasitos por 200 leucócitos propõe contar acima de 500 leucócitos, mas que para densidades superiores a 10 parasitos por 200 leucócitos propõe parar a contagem ao atingir 200 leucócitos).
- Após a primeira leitura, as lâminas serão mantidas na mesma ordem na bandeja ou caixa para serem lidas posteriormente por outro microscopista. As lâminas serão entregues conjuntamente com o formulário de segunda leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A02) ao microscopista que realizará a segunda leitura, assegurando-se que não seja a mesma pessoa que realizou a primeira leitura e que esta pessoa não tenha acesso aos resultados no formulário de primeira leitura de lâmina.

6.6 Registro dos resultados

- O microscopista registrará os resultados da leitura em μL nos formulários de primeira e segunda leitura de lâmina. A primeira seção do formulário, incluindo a etiqueta de identificação da amostra, já haverá sido preenchida no momento da coleta da amostra. A seção de Resultados será preenchida pelo microscopista com a seguinte informação:
 - Caso a lâmina for negativa, o número de campos examinados será registrado (deve ser 200) e o número de parasitos deverá ser 0 para todas as espécies.

- Caso a lâmina for positiva, o número de leucócitos contados e o número de formas assexuadas de parasitos contados para cada espécie deverão ser registrados.
- O número de gametócitos para cada espécie também deverá ser registrado.
- Caso a lâmina não possa ser lida, o motivo deverá ser registrado (não encontrada, quebrada, má qualidade).
- O microscopista assinará e datará o formulário com a data da leitura e registrará seu código do estudo.
- O microscopista que realizar a primeira leitura registrará os resultados no formulário de primeira leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A01 ou POP_MAL_LB_001_A03) e o que realizar a segunda leitura registrará os resultados no formulário de segunda leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A02).
- Os formulários Resultado de primeira leitura e Resultado de segunda leitura serão enviados diariamente ao centro de registro de dados para serem inseridos.

7. CÁLCULO DA DENSIDADE PARASITÁRIA E CONTROLE DE QUALIDADE INTERNA

- Todas as lâminas serão lidas duas vezes independentemente e os resultados registrados em diferentes formulários de resultados de leitura de lâmina (primeira e segunda leituras), que serão inseridos nas bases de dados.
- As lâminas que NÃO caírem nos seguintes critérios deverão ser lidas uma terceira vez:
 - Ambas as lâminas positivas, tendo ambas as leituras > 400 parasitos por μL e a proporção de densidades de ambas as leituras (maior contagem / menor contagem) < 2 .
 - Ambas as lâminas positivas e uma ou ambas tem contagem < 400 parasitos por μL e a maior contagem é menos que um log 10 superior à menor contagem.
 - Ambas as lâminas negativas.
- Um programa de computador gerará uma lista com as lâminas que devem ser lidas uma terceira vez, baseado na proporção das densidades das duas primeiras leituras. No centro de dados o programa produzirá impresso que será a ficha de Resultado de terceira leitura de lâmina e incluirá o número de identificação de amostra, o número de identificação permanente, a posição na caixa e os códigos dos microscopistas que realizaram a primeira e segunda leituras.
- No laboratório a lâmina será retirada da posição na caixa correspondente e será lida a terceira vez por um microscopista.
- O microscopista que realiza a terceira leitura registrará os resultados no impresso, que será então devolvido ao centro de dados e inserido nas bases de dados.

- O resultado definitivo (após a segunda leitura no caso de concordância ou após a terceira leitura caso não haja concordância entre as duas primeiras) será calculado por um programa de computador e levará em conta os seguintes critérios:
 - Caso ambas as leituras sejam negativas, o resultado final será negativo.
 - Caso as duas lâminas sejam positivas e haja concordância, o resultado final será a média geométrica das duas leituras.
 - Caso uma leitura seja positiva e a outra negativa e a terceira leitura seja positiva, o resultado final será a média geométrica das duas densidades positivas. Caso a terceira leitura seja negativa, o resultado final será negativo.
 - Caso as três leituras sejam positivas, o resultado final será a média geométrica das duas leituras com densidades mais próximas.
- Todos os resultados de leituras de lâminas serão armazenados pelos investigadores.

8. ARMAZENAMENTO DAS LÂMINAS

- As lâminas serão levadas a um(a) técnico(a) de laboratório designado(a). Este deverá conferir conjuntamente com o investigador que as trouxe a presença das lâminas e o correto preenchimento dos formulários correspondentes.
- No caso de a lâmina não haver sido montada com o Entelan[®] após a coloração, tal procedimento deverá ser realizado, após a leitura do segundo microscopista para que a lâmina seja armazenada.
- Em seguida as lâminas deverão ser armazenadas nas caixas apropriadas, sendo o local de cada lâmina registrado nos formulários de Resultado de primeira leitura de lâmina e Resultado de segunda leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A01 ou POP_MAL_LB_001_A03 e POP_MAL_LB_001_A02).
- As caixas serão numeradas à medida que forem preenchidas. As datas das lâminas que ocuparem a primeira e a última posição em cada caixa deverão estar escritas no exterior da caixa.
- A partir do registro da posição das lâminas nas caixas, o microscopista retirará as lâminas à medida que realizar as leituras de densidade parasitária.
- O segundo microscopista deverá atentar para o número da caixa e a posição da lâmina detalhados na ficha de Resultado de segunda leitura de lâmina (versão atual de POP_MAL_LB_001_A02) para recolocar a lâmina na posição correta após a leitura.
- Caso uma terceira leitura seja necessária, a lâmina será retirada da caixa e colocada novamente na mesma posição quando a terceira leitura for encerrada.
- As duplicatas das lâminas serão mantidas em uma caixa de lâminas distinta e armazenadas no laboratório, sendo usadas apenas no caso de perda ou quebra da

primeira lâmina. As datas das lâminas que ocuparem a primeira e a última posição em cada caixa deverão estar escritas no exterior da caixa.

- As caixas de armazenamento devem ser mantidas num local trancado no laboratório, sob condições apropriadas de temperatura e umidade e protegidas de luz direta.

9. REFERÊNCIAS

- WHO manual for malaria diagnostic in developing countries.
- Diagnoses and management of severe falciparum malaria. WHO/CDS/CPE/SMT/2000.4
- Diagnostic procedures for blood specimens. Diagnostic for Parasitic Diseases, CDC, Atlanta.
- Manual de diagnóstico laboratorial da malária. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde; 2005.

10. ANEXOS

TÍTULO DO ANEXO			CÓDIGO DO ANEXO (Incluindo versão/idioma):	
Título do Anexo 1: Resultado de primeira leitura de lâmina			POP_MAL_LB_001_A01_v02_PT	
Título do Anexo 2: Resultado de segunda leitura de lâmina			POP_MAL_LB_001_A02_v02_PT	
Título do Anexo 3: Resultado de leitura de lâmina			POP_MAL_LB_001_A03_v02_PT	
NOME DO ANEXO: Resultado de primeira leitura de lâmina			CÓDIGO DO ANEXO (Incluindo versão/idioma) POP_MAL_LB_001_A01_v02_PT	
Novo		Justificativa Acrescida opção "9 (não se aplica)" ao item 9; ajuste do formato de data.	Criado por:	Aprovado por:
Revisão	X		Data e assinatura	Data e assinatura
Tradução				
NOME DO ANEXO: Resultado de segunda leitura de lâmina			CÓDIGO DO ANEXO (Incluindo versão/idioma) POP_MAL_LB_001_A02_v02_PT	
Novo		Justificativa Acrescida opção "9 (não se aplica)" ao item 9; ajuste do formato de data.	Criado por:	Aprovado por:
Revisão	X		Data e assinatura	Data e assinatura
Tradução				

11. DECLARAÇÃO

Este documento se refere à versão final deste POP e encontra-se em vigor a partir da data estipulada no cabeçalho.

7.2 PARECER DE APROVAÇÃO ÉTICA DA PESQUISA



Fundação de Medicina Tropical do Amazonas
 Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
 Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro
 Cep: 69040-000
 Manaus – Amazonas - Brasil



APROVAÇÃO Nº 1943



Registro CEP Nº 2758-08

CAAE – 0054.1.114.000-08

Processo: 2758/2008-FMT-AM

Projeto de Pesquisa: Caracterização Clínica da Malária Complicada por Plasmodium vivax

Pesquisador responsável: Marcus Vinicius G. Lacerda

Instituição Sediadora: FMT-AM

Instituição Vinculada: Não se aplica

Área Temática Especial: Pesquisa com cooperação estrangeira

Patrocinador: Centre de Recerca de Salut Internacional de Barcelona

Registro para armazen. de mat. Biológico humano: Não se aplica

7.3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO (2018-2019)

Artigos publicados

Brito-Sousa JD, Santos TC, Avalos S, Fontecha G, Melo GC, Val F, Siqueira AM, Alecrim, G, Bassat Q, Lacerda MVG, Monteiro WM. Clinical Spectrum of Primaquine-induced Hemolysis in G6PD Deficiency: A 9-Year Hospitalization-Based Study from the Brazilian Amazon. **Clin. Infect. Dis.** 2019. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz122>

Brito-Sousa JD, Sachett JAG, Oliveira SS, Mendonça-da-Silva I, Marques HO, de Lacerda MVG, et al. Accuracy of the Lee–White clotting time performed in the hospital routine to detect coagulopathy in *Bothrops atrox* envenomation. **Am J Trop Med Hyg.** 2018. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0992>

Brito-Sousa JD, Oliveira SS, Sachett JAG, Fan HW, Monteiro WM. Low Accuracy of Microscopic Hematuria in Detecting Coagulopathy from *Bothrops* Pit Viper Bites, Brazilian Amazon. **Clin Toxicol.** 2018. <https://doi.org/10.1080/15563650.2018.1560463>

Santos HLR, **Brito-Sousa JD**, Alcântara JA, Sachett JAG, Villas-Boas TS, Saraiva I, Bernarde PS, Magalhães SFV, Melo GC, Peixoto HM, Oliveira MR, Sampaio VS, Monteiro WM. Rattlesnakes bites in the Brazilian Amazon: clinical epidemiology, spatial distribution and ecological determinants. **Acta Trop.** 2018. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.030>

Almeida-Rodrigues MG, **Brito-Sousa JD**, Dias ALB, Monteiro WM, Sampaio VS. The role of deforestation on American Cutaneous Leishmaniasis incidence: spatial-temporal distribution, environmental and socioeconomic factors associated in the Brazilian Amazon. **Trop Med Int Health.** 2018. <https://doi.org/10.1111/tmi.13196>

Alves EC, Sachett JAG, Sampaio VS, **Brito-Sousa JD**, Oliveira SS, Nascimento EF, et al. Predicting acute renal failure in *Bothrops* snakebite patients in a tertiary reference center, Western Brazilian Amazon. **PLoS One.** 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202361>

Costa MRF, Barcelos ALR, Camargo MA, Melo GC, Almeida AC, Costa AG, **Brito-Sousa JD**, et al. Performance of an Immuno-Rapid Malaria Pf/Pv Rapid Diagnostic Test for

Malaria Diagnosis in the Western Brazilian Amazon. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0450-2017>

Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Pereira JPT, Sarraff LKS, Nascimento EF, **Brito-Sousa JD**, Sampaio VS, Lacerda MVG, Sachett JAG, Sano-Martins IS, Monteiro WM. Factors associated with systemic bleeding in *Bothrops* envenomation in a tertiary hospital in the Brazilian Amazon. **Toxins.** 2018. <https://doi.org/10.3390/toxins11010022>

Artigos aceitos para publicação

Baia-Da-Silva DC, **Brito-Sousa JD**, Rodovalho S, Peterka C, Moresco G, Lapouble OM, Melo GC, Sampaio VS, Alecrim MGC, Pimenta P, Lima JBP, Lacerda MV, Monteiro WM. Current vector control challenges in the fight against malaria in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*