

Avaliação de um teste rápido “point-of-care” para deficiência de G6PD no Brasil

O teste STANDARD G6PD da SD Biosensor



PATH
 ●●●▲○◆//□□

Histórico

A deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é uma deficiência enzimática comum prevalente em muitos países endêmicos para malária. Os indivíduos com deficiência de G6PD são suscetíveis à hemólise, quando expostos a certos medicamentos, inclusive as 8-aminoquinolinas (primaquina e tafenoquina), usadas para tratar a malária *P. vivax*.

O teste de referência para a dosagem da atividade de G6PD é a espectrofotometria quantitativa. Entretanto, é um teste complexo que requer uma infraestrutura laboratorial substancial que frequentemente não está prontamente disponível em muitos contextos próximos aos pacientes nas áreas endêmicas de malária. Os testes qualitativos são amplamente disponíveis, mas não conseguem identificar, com confiabilidade, as mulheres com níveis intermediários de G6PD. É importante considerar que a tafenoquina de dose única (conhecida pela marca comercial Kozenis®, da GlaxoSmithKline) só é indicada para pacientes com atividade de G6PD >70%, o que exige o uso de testes quantitativos ou semiquantitativos antes da prescrição. O acesso a testes simples, apropriados, no local do atendimento, para a deficiência de G6PD é crítico para o tratamento seguro da malária *P. vivax*, no apoio aos esforços nacionais de controle e eliminação da malária.



O teste STANDARD™ G6PD da SD Biosensor. Foto: PATH/ Patrick McKern.

A empresa SD Biosensor (República da Coreia) desenvolveu o STANDARD™ G6PD, um teste semiquantitativo novo para a deficiência de G6PD, voltado para o uso no próprio local de atendimento aos pacientes. O teste utiliza um analisador portátil, operado por bateria, que fornece uma medida numérica da atividade de G6PD, normalizada pela concentração de hemoglobina (U/g Hb). Esse valor pode ser usado então como maneira semiquantitativa para classificar os indivíduos em deficientes, intermediários ou normais em atividade de G6PD, de acordo com os pontos de corte recomendados pelo fabricante.

Objetivos e métodos

A PATH, a Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT/HVD) e o Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia (CEPEM) realizaram um estudo no Brasil para avaliar a acurácia diagnóstica do teste STANDARD G6PD, quando usado por profissionais de saúde capacitados.

O estudo foi conduzido entre julho e dezembro de 2019 em dois centros no Brasil: a FMT/HVD em Manaus, estado do Amazonas, e o CEPEM em Porto Velho, estado de Rondônia. Os participantes foram recrutados em clínicas, além de uma amostra enriquecida com indivíduos com atividade de G6PD conhecida.

O desempenho do teste foi medido em amostras de sangue capilar no próprio local do atendimento e em amostras de sangue venoso com K₂EDTA no laboratório. O desempenho do teste STANDARD G6PD na dosagem da atividade de G6PD foi comparado com o de um padrão de referência, um teste espectrofotométrico quantitativo (Pointe Scientific, Estados Unidos), normalizado pela hemoglobina. O desempenho do teste na dosagem de hemoglobina foi comparado com um hemograma completo de referência em Manaus. No local do atendimento, as dosagens de G6PD e hemoglobina eram obtidas com amostras de sangue capilar, usando os testes STANDARD™ G6PD e HemoCue®201+ (HemoCue AB, Suécia). Era preparada uma lâmina de gota espessa para microscopia de malária. As amostras de sangue venoso eram coletadas e transferidas para os laboratórios, onde os testes STANDARD e HemoCue eram repetidos, além do ensaio espectrofotométrico quantitativo, o teste de referência para atividade de G6PD. A G6PD era avaliada também no laboratório com o *fluorescent spot test*. Em Manaus, um hemograma completo era realizado com um analisador hematológico.

O estudo usou os pontos de corte definidos pelo fabricante para o teste STANDARD G6PD: $\leq 4,0$ U/g Hb para homens e mulheres com deficiência de G6PD ($\leq 30\%$ de atividade); 4,1 a 6,0 U/g Hb para mulheres com atividade de G6PD intermediária ($>30\%$ e $\leq 70\%$ de atividade); $>4,0$ U/g Hb para homens com atividade de G6PD normal ($>30\%$ de atividade); e $>6,0$ U/g Hb para mulheres com G6PD normal ($>70\%$ de atividade).

Resultados

Um total de 1.736 indivíduos foram incluídos no estudo: 924 em Manaus e 812 em Porto Velho. Amostras venosas estavam disponíveis para a análise de 1.662 participantes e amostras capilares de 1.663 participantes.

Na amostra, houve 59 participantes com deficiência de G6PD (homens e mulheres com atividade de G6PD $<30\%$ do normal) e 35 mulheres com atividade intermediária de G6PD (entre 30% e 70% do normal), de acordo com o teste de referência, calculado com base na mediana masculina ajustada de cada centro. Houve 251 casos confirmados de malária, a maioria dos quais (94%) em Porto Velho.

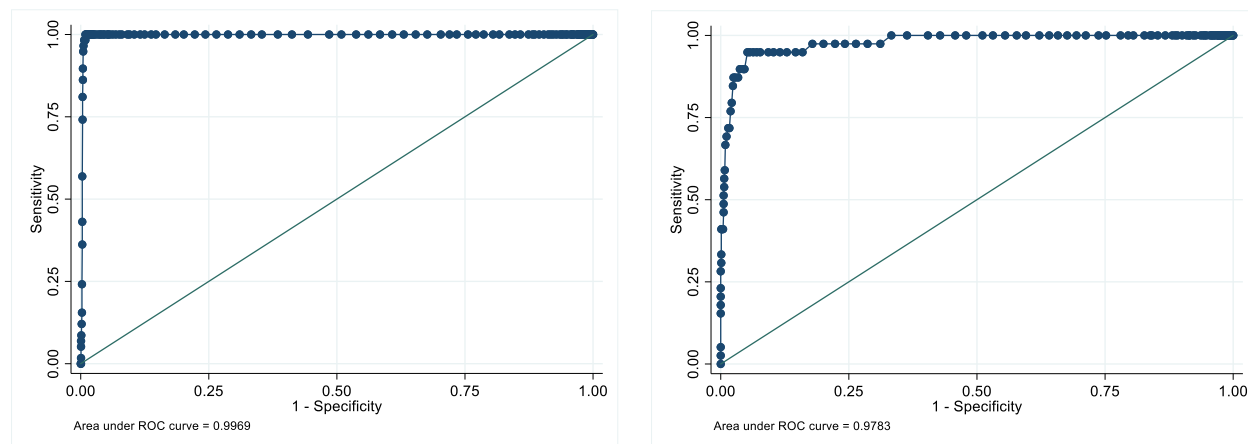
Durante o estudo, o teste STANDARD G6PD era processado em uma ampla faixa de temperaturas, de 18°C a 44°C, o que reflete as condições de utilização do dispositivo no mundo real.

Desempenho clínico do teste para atividade de G6PD

O teste STANDARD G6PD mostrou boa capacidade diagnóstica para diferenciar entre casos de atividade de G6PD deficiente, intermediária e normal (Figura 1). O teste foi capaz de diagnosticar homens e mulheres com deficiência de G6PD, com alta área sob a curva (AUC), de 1,0 em amostras capilares. No ponto de corte de 70% para mulheres com atividade intermediária, o teste também mostrou AUC alta, de 0,98 em amostras capilares.

Figura 1. Curvas ROC com pontos de corte de 30% e 70% de atividade em sangue capilar.

Homens e mulheres deficientes, com 30% de G6PD e mulheres intermediárias, com 70% de G6PD



O teste STANDARD G6PD mostrou bom desempenho em comparação com o teste de referência (espectrofotometria) (Tabela 1). Com a utilização dos pontos de corte recomendados pelo fabricante, de <30% para ambos os tipos de amostras de sangue, a sensibilidade foi muito boa, com 100%. No ponto de corte de 70%, que é particularmente relevante para a administração do Kozenis, a sensibilidade foi 97% nas amostras de sangue venoso e 94% nas amostras de sangue capilar. A especificidade nesse ponto de corte foi 97% e 92% em amostras de sangue venoso e capilar, respectivamente. Todas as amostras com menos de 65% de atividade de G6PD tiveram resultados no teste de STANDARD G6PD de $\leq 6,0$ U/g Hb. Apenas duas mulheres com atividade de G6PD entre 65% e 70% tiveram resultados normais com o teste STANDARD G6PD em sangue capilar ($>6,0$ U/g Hb). O fato de estar ou não infectado com a malária não parece ter influenciado significativamente o desempenho do teste.

Tabela 1. Desempenho do teste STANDARD G6PD com os pontos de corte recomendados pelo fabricante, comparado com a espectrofotometria (referência), de acordo com o tipo de amostra, com duas definições de atividade intermediária.

	Venoso	Capilar
Deficiência de G6PD, 30%, em homens e mulheres		
Sensibilidade (IC 95%)	100,0 (93,6–100,0)	100,0 (93,8–100,0)
Especificidade (IC 95%)	100,0 (93,6–100,0)	100,0 (93,8–100,0)
Atividade intermediária de G6PD, 70%, em mulheres		
Sensibilidade (IC 95%)	96,9 (83,8–99,9)	94,3 (80,8–99,3)
Especificidade (IC 95%)	96,5 (95,0–97,6)	92,3 (90,3–94,0)

IC, intervalo de confiança.

Desempenho clínico do teste para dosagem de hemoglobina

A correlação entre o teste STANDARD G6PD e o hemograma completo para a dosagem de hemoglobina foi baixa, com valores de R-quadrado de 0,67 para amostras tanto capilares quanto venosas. Entretanto,

o teste STANDARD G6PD mostrou boa concordância categórica com o hemograma completo na capacidade de identificar anemia moderada e grave, com >93%. Embora esse nível de concordância tenha sido determinado predominantemente pela alta proporção de casos sem anemia ou com anemia leve na população do estudo, o teste HemoCue mostrou padrões semelhantes de classificação errônea, quando comparado com o hemograma completo. Para o teste STANDARD G6PD, a testagem confirmatória de hemoglobina é recomendada durante o monitoramento da progressão da doença ou na tomada de decisões relacionadas à concentração de hemoglobina.

Conclusões

O teste STANDARD G6PD é uma ferramenta promissora para auxiliar na identificação de indivíduos com deficiência de G6PD. A disponibilidade do teste representa uma oportunidade importante para melhorar o manejo de casos de *P. vivax* em contextos endêmicos de malária, como o Brasil, onde alternativas à espectrofotometria quantitativa são necessárias para ampliar o acesso à cura radical. Os resultados do estudo são particularmente relevantes para a introdução do Kozenis de dose única no Brasil, onde o medicamento foi aprovado em 2019.

Para maiores informações

Acesse a publicação completa desse estudo:

Zobrist S, Brito M, Garbin E, et al. Evaluation of a point-of-care diagnostic to identify glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Brazil. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2021;15(8): e0009649. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009649>.

Para perguntas, por favor contate Dr. Marcus Lacerda (FMT/HVD), Dr. Dhélio Pereira (CEPEM) ou Dr. Gonzalo Domingo (PATH).

Financiamento

A pesquisa foi apoiada pelo *Foreign, Commonwealth & Development Office* do Reino Unido, financiamento número 204139, e pela *Bill & Melinda Gates Foundation*, financiamento número OPP1107113. Os achados e conclusões são da responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem as posições do *Foreign, Commonwealth & Development Office* ou da *Gates Foundation*.