

Artigo

Programa comunitário e deficiência de G-6-PD no Brasil

Mariane B. Compri¹
Newton C. Polimeno²
Maria J.A. Vieira³
Sara T.O. Saad⁴
Antonio S. Ramalho⁵

A viabilidade e a eficiência da implantação de um programa comunitário relativo à deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose foram investigadas em uma população brasileira (Bragança Paulista, SP). A comunidade foi abordada a partir dos seus doadores de sangue, examinando-se 4.621 indivíduos do sexo masculino e diagnosticando-se 80 portadores da alteração genética. O índice de positividade na amostra foi de 1,7%, a taxa de aceitação à orientação genética oferecida em caráter opcional atingiu 61% e a percentagem de assimilação satisfatória dos deficientes de desidrogenase de 6-fosfato de glicose quanto às informações fornecidas foi de 81%. A análise molecular demonstrou a presença quase que exclusiva na comunidade da variante A ou Africana de desidrogenase de 6-fosfato de glicose, relativamente benigna do ponto de vista clínico. Com um baixo custo anual, foi possível diagnosticar e orientar de forma ética um número significativo de famílias com a deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose, além de iniciar a educação da comunidade a respeito do problema.

Rev. bras. hematol. hemoter., 2000, 22(1):33-39

Palavras-chave: *deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose, genética comunitária, avaliação de programas*

Introdução

O termo Genética Comunitária foi usado pela primeira vez em 1990, em uma discussão a respeito das implicações em saúde pública da identificação do gene da fibrose cística (1). Já o seu conceito foi sendo delineado nos anos seguintes, em reuniões da Organização Mundial

da Saúde, estabelecendo-se assim uma nova disciplina da genética (2).

De acordo com Ten Kate (3), a genética comunitária situa-se na interface entre a medicina, a genética e a comunidade e pode ser conceituada pelo seu lado aplicado ou pelo seu lado científico. Do ponto de vista pragmático, ela pode ser definida pelos efeitos

1 - Professora Assistente Doutora do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Univ. São Francisco, Bragança Paulista, SP
2 - Professor Adjunto do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Univ. São Francisco, Bragança Paulista, SP
3 - Professora Assistente do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Univ. São Francisco, Bragança Paulista, SP
4 - Professora Adjunta da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Campinas, SP
5 - Professor Nível Titular da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Campinas, SP

Endereço para correspondência: Antonio Sérgio Ramalho
Departamento de Genética Médica, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas
C.P. 6111. CEP: 13081-970. Campinas. SP. E-mail: dgmfcm@obelix.unicamp.br

educacionais e preventivos dos serviços de genética sobre a comunidade, englobando aqui as atividades de triagem populacional e orientação genética, divulgação das alterações genéticas prevalentes na comunidade e assessoria reprodutiva. Já do ponto de vista científico, ela inclui todas as pesquisas necessárias à implantação e à avaliação de um programa de genética que atue sobre a comunidade, compreendendo aqui aspectos genético-epidemiológicos, moleculares, demográficos, sociais, psicológicos, éticos e culturais. Pelo seu caráter extremamente amplo, a genética comunitária é melhor caracterizada como uma metagenética, do que pela sua contribuição à genética em si.

Como seria de se esperar, as alterações genéticas de maior prevalência nas populações, sobretudo aquelas que contam com métodos de triagem de heterozigotos, como é o caso das hemoglobinopatias, a deficiência de G-6-PD, a fibrose cística, etc., constituem o alvo preferido da genética comunitária. No entanto, as alterações relacionadas à deficiência mental (ex.: síndrome de Down, fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, etc.) e às malformações também se enquadram em seus objetivos. Um programa de informação sobre agentes teratogênicos, por exemplo, atende perfeitamente aos objetivos da genética comunitária, desde que ele inclua alguma modalidade de avaliação do seu impacto sobre a população.

No Brasil, os primeiros programas de genética comunitária, nos moldes acima definidos, diziam respeito às hemoglobinopatias, tendo como alvo comunidades de aproximadamente 100.000 habitantes, como é o caso das cidades paulistas de Araras (4) e Bragança Paulista (5). Tendo em vista a composição racial dessa última comunidade, outra alteração genética que se julgou merecer um programa específico, através do presente estudo, foi a deficiência da desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD), que é um polimorfismo genético humano que tem recebido a atenção da Organização Mundial da Saúde (6).

A importância da deficiência de G-6-PD, que é uma alteração metabólica heterogênea,

determinada por genes recessivos do cromossomo X, diz respeito ao fato de os seus portadores, geralmente do sexo masculino, poderem manifestar uma crise hemolítica aguda, de intensidade variável, na presença de agente oxidantes de origem endógena ou exógena. Assim, por exemplo, a hemólise dos deficientes de G-6-PD pode ser desencadeada por diversos fármacos (sulfas e sulfonas, antimaláricos, nitrofuranos e vários analgésicos e antipiréticos, como a acetanilida, a aspirina e, talvez, a fenacetina e a dipirona), por alimentos (leguminosa *Vicea fava*, embutidos ricos em nitritos) e outros fatores do meio ambiente (naftalina, nitritos voláteis, pólen da *Vicea fava*, etc.) (7).

Apesar de a deficiência de G-6-PD ser uma alteração genética freqüente nas populações brasileiras, afetando cerca de 10% dos homens negróides e 1 a 3% dos homens caucasóides (8), até o momento ela ainda não mereceu em nosso país um estudo comunitário sistematizado, no qual os objetivos científicos e pragmáticos da genética comunitária sejam atingidos. O presente estudo foi realizado em Bragança Paulista, que é uma cidade do interior do Estado de São Paulo, distante apenas 90 km da capital e que reúne algumas condições propícias à implantação de programas comunitários. Dentre elas, merecem destaque o seu porte médio (cerca de 110.000 habitantes, pelo censo de 1995), a heterogeneidade racial da sua população, as boas condições de saneamento básico e um Curso de Medicina (Universidade São Francisco).

Casuística e métodos

A comunidade foi abordada a partir dos seus doadores de sangue, uma vez que esse procedimento apresenta vários aspectos favoráveis, tais como: a) o atual processo de doação de sangue nos Hemocentros, voluntário e não remunerado, favorece a heterogeneidade racial e sócio-econômica dos doadores, b) preponderância de indivíduos do sexo masculino, o que favorece a triagem de uma condição recessiva ligada ao cromossomo X, c) os indivíduos já estão colhendo voluntariamente amostras de sangue, d) a doação ocorre de

forma contínua durante todo o ano, permitindo um fluxo igualmente contínuo de triagem, e) a identificação de doadores deficientes de G-6-PD é recomendada em hemoterapia, o que justifica a triagem sistemática desses indivíduos do ponto de vista da ética médica (9).

A coleta de dados teve início em 1995 e finalizou-se em 1998. Nos primeiros 36 meses, foram triados, com relação à deficiência de G-6-PD, 4.621 doadores de sangue do sexo masculino atendidos no Setor de Hematologia Clínica e Laboratorial, vinculado à Hemo-Rede (Rede Estadual de Hematologia e Hemoterapia do Estado de São Paulo) da Universidade São Francisco, em Bragança Paulista, SP. O teste de triagem utilizado foi o de Brewer e colaboradores (10) e os casos triados tiveram a sua deficiência enzimática confirmada pela medida da atividade de G-6-PD (11) e pela eletroforese da enzima em acetato de celulose, pH 9,0 (12).

Uma vez diagnosticados pelos exames acima citados, os indivíduos deficientes de G-6-PD foram convidados por carta para uma consulta de orientação genética e, posteriormente, para o exame opcional de seus parentes, tendo sido fornecida a cada indivíduo uma cartilha ilustrada explicativa da sua característica metabólica. A participação dos deficientes de G-6-PD e dos seus familiares teve, portanto, caráter voluntário e opcional, isento de qualquer conotação financeira*, política, racial ou eugênica, conforme o recomendado pelo Código de Ética Médica (13). Quanto a esse aspecto, é importante ressaltar que o projeto foi submetido previamente ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco, recebendo parecer favorável.

Após seis meses da orientação, os deficientes de G-6-PD foram convidados para avaliação, mediante nova entrevista, ocasião em que foi aplicado um questionário semi-estruturado, a fim de avaliar os efeitos cognitivos e pragmáticos da orientação fornecida.

Em uma segunda fase, que se estendeu pelos 12 meses finais do projeto, foi realizada a caracterização molecular das mutações causadoras da deficiência de G-6-PD na comunidade. Para tanto, 70 deficientes de G-6-PD não consanguíneos tiveram o seu DNA

genômico isolado pela técnica recomendada por Maniatis e colaboradores (14). Os deficientes de G-6-PD nos quais a quantificação e eletroforese da enzima foram compatíveis com as variantes A- ou Mediterrânea tiveram os exons 4 ou 6 do gene da G-6-PD amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e submetidos à digestão pelas enzimas Nla III e Mbo II, respectivamente (15). Quando a caracterização molecular da mutação não foi possível por essa metodologia, o DNA foi submetido à análise de conformação em hélice simples (SSCP), para verificar o exon afetado (16).

O programa comunitário foi avaliado pelos seguintes indicadores de viabilidade e eficiência adaptados de Teixeira e Ramalho (4):

- 1- Taxa de aceitação à orientação genética por parte dos doadores deficientes de G-6-PD;
- 2- Porcentagem de doadores deficientes de G-6-PD que trouxeram os seus parentes para exame e taxa de positividade da alteração entre os mesmos;
- 3- Avaliação dos efeitos cognitivos e pragmáticos da orientação fornecida;
- 4- Custo de implantação do programa na Universidade São Francisco;
- 5- Significado médico das mutações encontradas na comunidade.

Resultados e discussão

Foram triados 85 deficientes de G-6-PD, dos quais 80 casos foram confirmados pela dosagem enzimática quantitativa e pela eletroforese da enzima. O índice de positividade na amostra de doadores foi, portanto, 1,7% (80/4.621) e a porcentagem de casos falsamente-positivos pelo teste de triagem empregado foi de apenas 6% (5/85).

Do ponto de vista da triagem populacional, os doadores de sangue mostraram-se adequados, tendo sido possível examinar 4.621 indivíduos do sexo masculino no período de 36 meses (média mensal de 128 indivíduos), identificando-se 80 famílias com a deficiência de G-6-PD na comunidade. Para uma população de cerca de 110.000 habitantes, tais cifras podem ser consideradas satisfatórias em termos de genética comunitária.

A triagem da deficiência de G-6-PD em

doadores de sangue mostrou-se mais eficiente do que a triagem de hemoglobinopatias em estudantes de primeiro e segundo graus realizada na mesma população (5). De fato, embora 2.074 estudantes tenham sido convidados para a investigação de hemoglobinopatias, através de cartas explicativas enviadas aos seus pais ou responsáveis, apenas 1.118 (54%) participaram da triagem realizada em um período de 24 meses, o que equivale a uma média de apenas 47 indivíduos triados por mês.

Dos 80 doadores deficientes de G-6-PD diagnosticados, 13 não foram encontrados, tendo as suas cartas sido devolvidas pelo serviço de correio e não constando em suas fichas telefone para contato.

1 - Taxa de aceitação à orientação genética

Dentre os 67 deficientes de G-6-PD que possuíam endereço definido para contato postal, 41 (61%) aceitaram o convite para receber a orientação genética. Essa taxa de aceitação pode ser considerada satisfatória, embora menor que a teoricamente desejável. Curiosamente, ela foi igual à taxa de aceitação à orientação genética oferecida opcionalmente a portadores de hemoglobinopatias de Araras, SP (4) e não diferiu significativamente da taxa de aceitação de 72% observada entre doadores de sangue com o traço falciforme de Campinas, SP ($X^2 = 1,95$; G.L. = 1; $0,10 < P < 0,20$) (17). Essas cifras demonstram que, quando o convite para a orientação genética é feito da forma eticamente correta, a taxa de aceitação pelos indivíduos da comunidade é satisfatória, variando de 60% a 70%. Cabe aqui ressaltar a importância de a carta-convite já esclarecer que a alteração genética em questão é benigna, que não se trata de uma doença, mas que as orientações a seu respeito são úteis para o indivíduo. Evidentemente, se os doadores fossem simplesmente convocados para esclarecimento a respeito de uma alteração detectada em seu sangue, a porcentagem de comparecimento seria provavelmente mais alta. Tal procedimento, no entanto, além de anti-ético, criaria um viés na pesquisa, apontando "taxas de aceitação" da orientação genética pela comunidade irreais e excessivamente altas.

Durante a orientação genética, os

deficientes de G-6-PD, além de serem esclarecidos a respeito da sua condição, receberam uma cartilha explicativa, na qual estão relacionadas as principais substâncias que lhe são potencialmente prejudiciais. Como tais indivíduos foram orientados a apresentar tal documento sempre que procurassem um médico ou um serviço de saúde, a problemática da deficiência de G-6-PD passou a ser divulgada entre clínicos da cidade, cumprindo-se assim dois dos principais objetivos da genética comunitária: a prevenção de complicações clínicas e a educação da comunidade.

2- Porcentagem de doadores deficientes de G-6-PD que trouxeram os seus parentes para exame e taxa de positividade da alteração entre os mesmos.

O processo de orientação genética dos deficientes de G-6-PD mostrou-se pouco eficiente no que diz respeito ao exame de outras pessoas da família. De fato, dentre os 41 indivíduos que compareceram à orientação genética, apenas 16 (39%) trouxeram familiares para a investigação da deficiência de G-6-PD. Dentre os 34 familiares examinados, foram diagnosticados mais um deficiente de G-6-PD (3%) e nove heterozigotas (26%). É importante ressaltar que as heterozigotas do gene da deficiência de G-6-PD, embora geralmente não corram o risco de manifestar crise hemolítica, são importantes para fins de orientação genética, pois os seus filhos do sexo masculino correm o risco de 50% de serem deficientes de G-6-PD.

O baixo percentual de exame de familiares não pode ser considerado, no entanto, surpreendente ou inesperado, uma vez que grande parte dos doadores de sangue eram solteiros, e, mesmos os casados, estavam conscientes de que não corriam o risco de transmitir aos filhos do sexo masculino a deficiência de G-6-PD, sendo as suas filhas heterozigotas e assintomáticas. Evidentemente, seria altamente desejável que outros casos da deficiência de G-6-PD fossem diagnosticados na família dos indivíduos triados (entre os seus irmãos, por exemplo), mas, na prática, isso não ocorre na proporção esperada. De fato, outros estudos realizados em populações brasileiras demonstraram que os indivíduos sob orientação genética preocupam-se fundamentalmente (e quase que

exclusivamente) em investigar a presença da alteração em seus filhos (4, 17, 18).

A alta taxa de recusa a um exame oferecido em caráter opcional, geralmente causa uma certa frustração aos profissionais médicos e paramédicos brasileiros, que, com a sua formação diretiva, alimentam, consciente ou inconscientemente, uma expectativa de um "procedimento adequado" por parte de seus pacientes. O conceito de não-diretividade baseia-se nos princípios da autonomia pessoal e da escolha individual, que, segundo Wertz (19), estão mais incorporados culturalmente aos povos de língua inglesa e do Norte da Europa, do que aos povos latinos. Dentro dos princípios da genética comunitária, no entanto, tal resultado deve ser analisado de forma neutra, sendo interpretado como uma decorrência das características sócio-econômicas, psicológicas e culturais da população estudada.

3 - Avaliação dos efeitos cognitivos e pragmáticos da orientação fornecida

Dentre os 41 pacientes orientados, 16 (39%) aceitaram submeter-se, após seis meses, a uma avaliação dos efeitos da orientação fornecida.

Para avaliação dos efeitos cognitivos, os pacientes responderam a um questionário de cinco questões, estabelecendo-se uma relação entre o número de acertos e os conceitos atribuídos: 5 corretas = excelente, 4 corretas = bom, 3 corretas = regular, 2 corretas = ruim, 1 correta ou nenhuma = nulo. O desempenho dos pacientes foi o seguinte: excelente = 5, bom = 5, regular = 3, ruim = 2 e nulo = 1. Considerando-se os conceitos excelente, bom e regular como satisfatórios, 81% dos deficientes de G-6-PD orientados foram classificados nessa categoria.

Na avaliação pragmática, verificou-se que 100% dos pacientes julgaram muito importante ter recebido a orientação genética, 100% acharam a cartilha útil e de fácil entendimento, 94% ainda guardavam a cartilha e 69% informaram ter incorporado os cuidados preventivos em suas vidas.

Concordando com esses resultados, as avaliações realizadas em nosso meio a respeito dos efeitos cognitivos e pragmáticos da orientação fornecida a portadores de outras alterações genéticas, tais como a talassemia (18)

e o traço falciforme (17), revelaram que os indivíduos geralmente assimilam satisfatoriamente as informações de caráter prático, mesmo que não memorizem adequadamente as informações de caráter acadêmico. O fornecimento das cartilhas explicativas é importante justamente por compensar, pelo menos em parte, tal deficiência na assimilação dos detalhes acadêmicos do problema genético discutido.

4 - Custo de implantação do programa na Universidade São Francisco

Tomando por base o preço dos reagentes utilizados (US\$ 816,95) e o número de indivíduos examinados nas fases de triagem e confirmação diagnóstica (4.750 indivíduos, entre doadores e familiares), o custo do programa por pessoa foi estimado em US\$ 0,172. Não foram aqui incluídos, no entanto, os gastos relativos à caracterização molecular das mutações, de interesse fundamentalmente científico. Da mesma forma, também não foram computados os gastos com pessoal, equipamentos e outras despesas, como as de correspondência, impressão de cartilhas, etc., uma vez que a pesquisa utilizou a infraestrutura material e humana de uma universidade.

5 - Significado médico das mutações encontradas na comunidade

Dentre os 70 deficientes de G-6-PD não consangüíneos submetidos à análise molecular, 69 (98,6%) apresentavam a variante A⁻ (202G[®]A) da enzima e apenas 1 (1,4%) apresentava uma variante mais rara, que ainda está sendo caracterizada pelo seqüenciamento direto de DNA. A análise pelo SSCP revelou que essa mutação mais rara, desacompanhada de alterações clínicas, afeta o exon 9 do gene da G-6-PD. Tal preponderância da mutação A⁻ (202G[®]A) observada no presente trabalho concorda com o resultado de outras análises moleculares realizadas em populações brasileiras (20,21). Trata-se de uma variante benigna, porém não desprovida de importância médica. De fato, nas pessoas com tal variante de G-6-PD, a crise hemolítica, geralmente provocada por medicamentos oxidantes fortes (sulfas, sulfonas e antimaláricos, por exemplo), inicia-se de 24 a 48 horas após o início da medicação, sendo a gravidade da crise bastante

variável. A intensidade do contato com o fator desencadeante da crise hemolítica é muito importante na determinação do quadro clínico. Muitas vezes, a crise pode consistir de uma leve anemia transitória, às vezes imperceptível pelo indivíduo que a manifesta. Frequentemente, o escurecimento da urina e uma leve icterícia de conjuntiva são os únicos sinais perceptíveis. Algumas vezes, no entanto, a crise pode chegar a ser grave, com o paciente acusando dores musculares, abdominais e lombares, febre alta, calafrios, náuseas e vômitos, anemia, icterícia, reticulocitose e hemoglobinúria. Havendo hemoglobinúria, que indica que a capacidade das haptoglobinas do plasma captarem a hemoglobina livre foi superada, pode haver lesão tubular renal, com oligúria, anúria e choque (22).

Se a medicação for suspensa, os indivíduos A- voltarão ao normal em poucas semanas, mas se a crise hemolítica não for muito séria, a medicação pode ser continuada, porque, surpreendentemente, também neste caso haverá melhora. Isso decorre do fato de que apenas as hemácias de mais de 50 dias apresentam deficiência acentuada de atividade de G-6-PD, enquanto nas hemácias jovens, a variante A- tem atividade suficiente para resistir à ação hemolítica da medicação empregada (23). Isso se deve, evidentemente, à instabilidade da enzima A-, causada pela dupla substituição de resíduos aminoácidos (68 val[®] met + 126 asn[®] asp).

Conclusão

Levando em consideração os resultados obtidos neste trabalho, com absoluta preponderância na comunidade estudada de uma variante clinicamente benigna da deficiência de G-6-PD, tornou-se necessário definir a estratégia mais adequada para os programas comunitários brasileiros relativos a essa enzimopatia.

A deficiência de G-6-PD, embora não possa ser considerada um problema prioritário de saúde pública em nosso país, possui testes de triagem e de comprovação diagnóstica simples, econômicos e eficientes, tem alta frequência populacional e a orientação dos seus portadores apresenta vantagens indiscutíveis. Assim sendo, a divulgação do problema nas comunidades merece ser feita sem alarmes desnecessários, por intermédio, por

exemplo, dos próprios doadores de sangue, uma vez que a identificação dos doadores deficientes de G-6-PD é recomendada em hemoterapia.

Uma vez divulgada a alteração genética, através da distribuição de publicações didáticas, pode-se aguardar a demanda espontânea da comunidade. Uma atuação mais diretiva deve ser utilizada nos casos de hemólise aguda e de icterícia neonatal diagnosticados nos serviços de saúde, bem como nas regiões nas quais as variantes graves de G-6-PD têm participação mais importante, como é o caso, por exemplo, da variante Mediterrânea no Rio Grande do Sul.

**O Programa foi financiado pela Universidade São Francisco e pela Universidade Estadual de Campinas.*

Community program and G-6-PD deficiency in Brazil

Mariane B. Compri, Newton C. Polimeno, Maria Julia Acedo Vieira, Sara T. O. Saad, Antonio S. Ramalho

Abstract

This study tested the viability and efficiency of a glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency program in which a Brazilian community – the town of Bragança Paulista, SP (Brazil) was involved. The screening was done among blood donors and the diagnosis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency was confirmed through enzymatic quantification and through electrophoresis of the enzyme. A total of 4,621 individuals were tested over a period of 36 months. A total of 80 individuals with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency were detected – 1,7% of the samples examined. The acceptance rate to the optional genetic orientation got to 61% and the percentage of good assimilation concerning the offered information was 81%. The molecular analysis demonstrated the presence, almost exclusive, in the community of the A⁻ or African variant, a benign mutation. With a verity low annual cost, it was possible not only to make diagnosis and to advise a significant number of families with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, but also to start the education of the community towards this problem.
Rev.bras.hematol.hemoter., 2000, 22(1):33-39

Key Words: *glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, community genetics, program evaluation*

Referências Bibliográficas

1. Modell, B. *Cystic fibrosis screening and community genetics*. **J. Med. Genet.** 1990; 27: 475-479.
2. Modell, B. & Kuliev, A. *The history of community genetics: the contribution of the haemoglobin disorders*. **J. Community Genet.** 1998; 1: 3-11.
3. Ten Kate, L.P., Editorial. **J. Community Genet.** 1998; 1: 1-2.
4. Teixeira, R.C. & Ramalho, A.S. *Genetics and public health: response of a Brazilian population to an optional hemoglobinopathy program*. **Rev. Bras. Genet.**, 17: 435-438, 1994.
5. Compri, M.B.; Polimeno, N.C.; Stella, M.B.; Ramalho, A.S. *Programa comunitário de hemoglobinopatias hereditárias em população estudantil brasileira*. **Rev. de Saúde Pública** 1996; 30: 187-195.
6. WHO- World Health Organization. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Report of a WHO working group*. **Bull. World Health Organiz.** 1995; 67: 601-611.
7. Luzzato, L.; Mehta, A. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency*. In: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S. & Valle, D. (Eds). *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. **New York, Mc Graw-Hill**, 1995.
8. Sena, L.L.A. & Ramalho, A.S. *Clinical evaluation of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a Brazilian population*. **Rev. Bras. Genet.** 1985; 8: 89-96.
9. Mollison, P.L. *Blood transfusion in clinical medicine*. **Oxford, Blackwell**, 1974.
10. Brewer, G.J.; Tarlov, A.R.; Alving, A.S. *The methemoglobin reduction test of primaquine type sensitivity of erythrocytes. A simplified procedure for detecting a specific hyper-susceptibility to drug hemolysis* **JAMA** 1962; 5: 126-128.
11. Beutler, E. *Red cell metabolism. A manual of biochemical methods*. 2^a ed., **New York, Grune & Stratton**, 1972.
12. Sparks, R.S., Balluda, M.C.; Townsend, D.E., *Cellulose acetate electrophoresis of human G-6-PD*. **J. Lab. Clin. Med.** 1969; 73: 531-534.
13. CREMESP – *Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo, Ética Médica*. **São Paulo, Editora do Círculo do Livro - SP**, 1996.
14. Maniatis, T.; Fritsch, E.F.; Sambrook, J. *Molecular cloning, a laboratory manual*. **New York, Spring Harbor Ed.**, 1989.
15. Poggi, V.; Town, M.; Foulpes, N.S. Luzzato, L., *Identification of a single base in a new human mutant glucose-6-phosphate dehydrogenase gene by polymerase-chain reaction amplification of the entire coding region genomic DNA*. **Biochem. J.** 1990; 271: 157-160.
16. Orita, M.; Iwahana, H.; Kanazawa, K. Sekyta, T. *Detection of polymorphism of human DNA by gel electrophoresis as a single strand conformation polymorphisms*. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 1989; 86: 2766-2770.
17. Paiva e Silva, R.B. & Ramalho, A.S. *Riscos e benefícios da triagem genética: o traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira*. **Cad. de Saúde Pública** 1997; 13: 285-294.
18. Serra, H.G.; Martins, C.S.B.; Paiva e Siva, R.B.; Ramalho, A.S. *Evaluation of counseling offered to Brazilian carriers of the beta-thalassemia trait and to their relatives*. **Rev. Bras. Genet.** 1995; 18: 479- 484.
19. Wertz, D.C. *Genetic counseling in Mexico*. **Am. J. Med. Genet.** 1998; 75: 424- 425.
20. Saad, S.T.O.; Salles, T.S.I.; Carvalho, M.H.M. Costa, F.F., *Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Brazil*. **Hum Hered.**, 1997; 47: 17-21.
21. Weimer, T.A.; Salzano, F.M.; Westwood, B.; Beutler, E., *G-6-PD variants in three South American ethnic groups: population distribution and description of two new mutations*. **Hum. Hered.** 1998; 48: 92-96.
22. Ramalho, A.S. *As hemoglobinopatias hereditárias. Um problema de saúde pública no Brasil*. **Ribeirão Preto, Editora da Sociedade Brasileira de Genética**, 1986.
23. Beiguelman, B. *Farmacogenética e os sistemas sanguíneos eritrocitários*. **Rio de Janeiro, Editora Guanabara-Koogan**, 1983.

Recebido: 12/02/2000
Aceito: 02/03/2000