



UNAH

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA



AMI/RAVREDA Iniciativa Amazónica Contra la Malaria
Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a los Antimalaricos

XIV Reunión Anual de Evaluación de AMI/RAVREDA

Rio de Janeiro, Brasil - 24 al 26 de marzo del 2015 - Agenda



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



CDC
CENTERS FOR DISEASE
CONTROL AND PREVENTION



STAPS
Sistema for Improved Access
to Pharmaceuticals and Services



USAID USP
PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES



LINKS MEDIA
Creating a Culture of Learning

Deficiencia de Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa en individuos infectados con malaria en Honduras



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MICROBIOLÓGICAS

Secretaría de Salud



Honduras



UNAH

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA

LU
CEM
ASPI
CIO

Deficiencia de Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa en individuos infectados con malaria en Honduras

- Gustavo Fontecha Sandoval, PhD. Grupo de Investigación en Parasitología UNAH
- Miguel Ángel Zúñiga, MSc. UNAH
- Rosa Elena Mejía, MSc. Secretaría de Salud de Honduras / OPS Honduras



Secretaría de Salud



G6PDd: Un desorden hemofílico muy común (400 millones de personas)

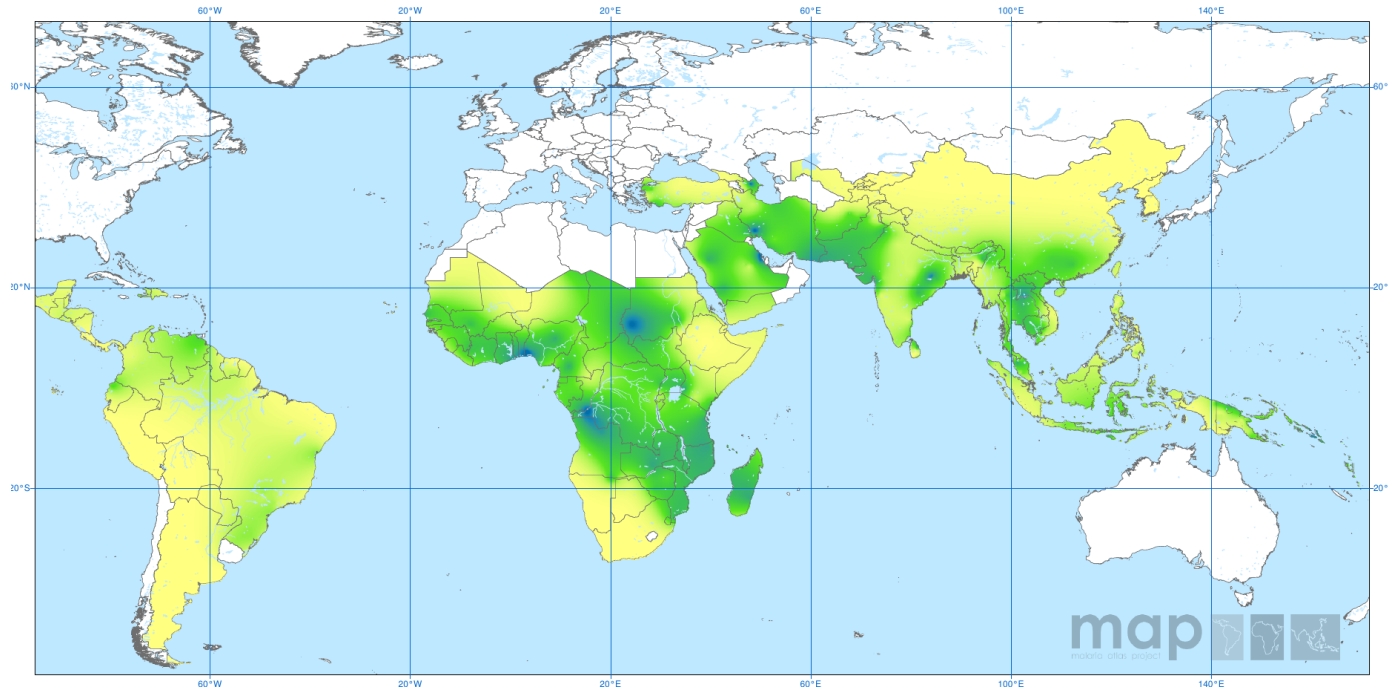


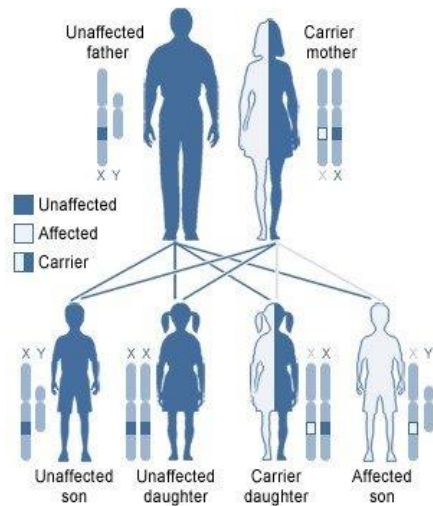
Fig 1. Frecuencia alélica predecida para G6PDd (malaria atlas project - map)

Poblaciones con alta frecuencia (5 -30%):

- África
- Medio Oriente
- Asia

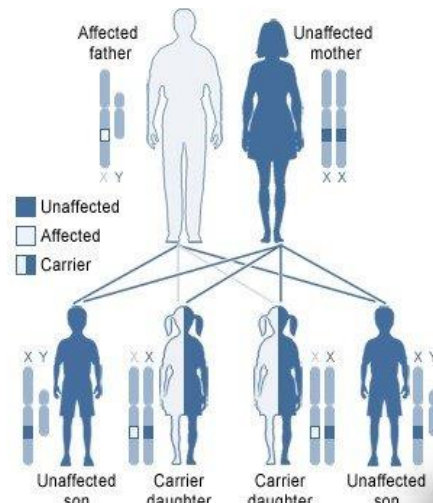
- G6PDd: ligada al cromosoma X
- Su severidad difiere según el sexo.

X-linked recessive, carrier mother

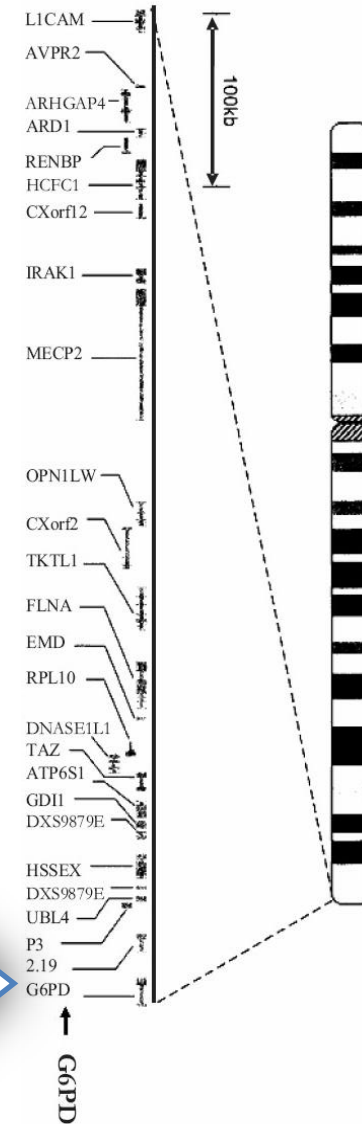
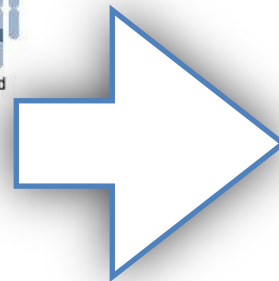


U.S. National Library of Medicine

X-linked recessive, affected father



U.S. National Library of Medicine





- **186** variantes alélicas de la G6PD a nivel mundial.
- World Health Working Group, 1989: 5 variantes clínicas

- **Clase I:** Deficiencia severa con anemia hemolítica crónica
- **Clase II:** Deficiencia severa (<10% actividad), con hemólisis intermitente
- **Clase III:** Deficiencia moderada (10-60% actividad), hemólisis solamente por estresantes
- **Clase IV:** No-deficiente, sin secuelas clínicas
- **Clase V:** Actividad enzimática aumentada, sin secuelas clínicas

- **186** variantes alélicas de la G6PD a nivel mundial.

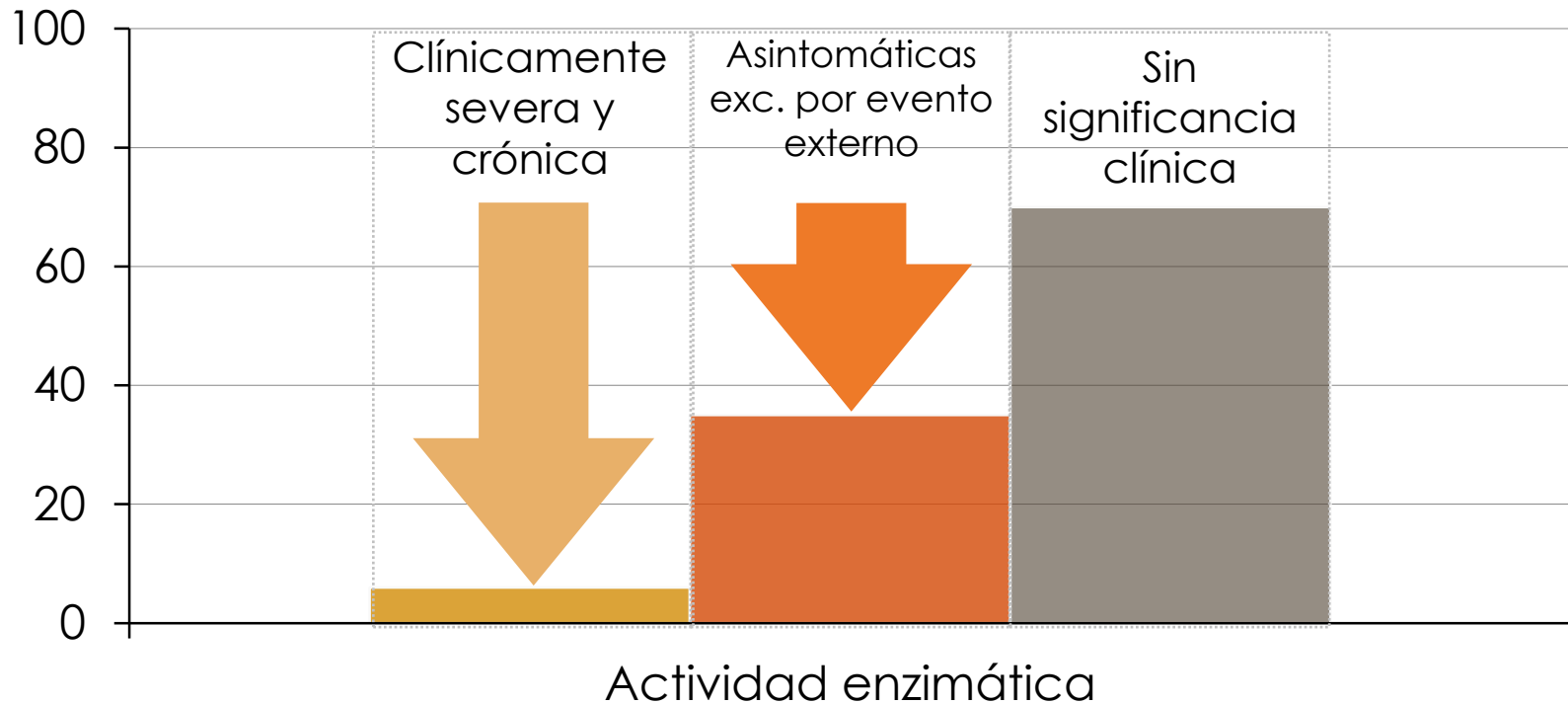


Fig 2. Severidad clínica de G6PDd según actividad enzimática (Luzzatto, L., 2009 / Howes, R.E., et al. 2013).



Agentes	Drogas	Variantes Asociadas
Agentes antidiabéticos	Glibenclamida	Mediterránea, Asiáticas
Antimaláricos	Pentaquina Pamaquina Primaquina Tafenoquina	Todas
Agentes quimioterapéuticos	Cloranfenicol, Ciprofloxacina, Ácido Nalidíxico	Mediterránea, Asiáticas
Agentes contra la gota	Urato oxidasa Recombinante	Todas
Sulfonamidas	Sulfasalazina , Sulfapiridina, Sulfadimidina	Todas
Sulfonas	Dapsona (diafenilsulfona)	Todas

Tabla 1: Drogas y químicos que deben ser evitados por individuos con G6PDd [Beutler, 1994].

La distribución de la **malaria** es muy similar a la distribución de los alelos **G6PDd**.

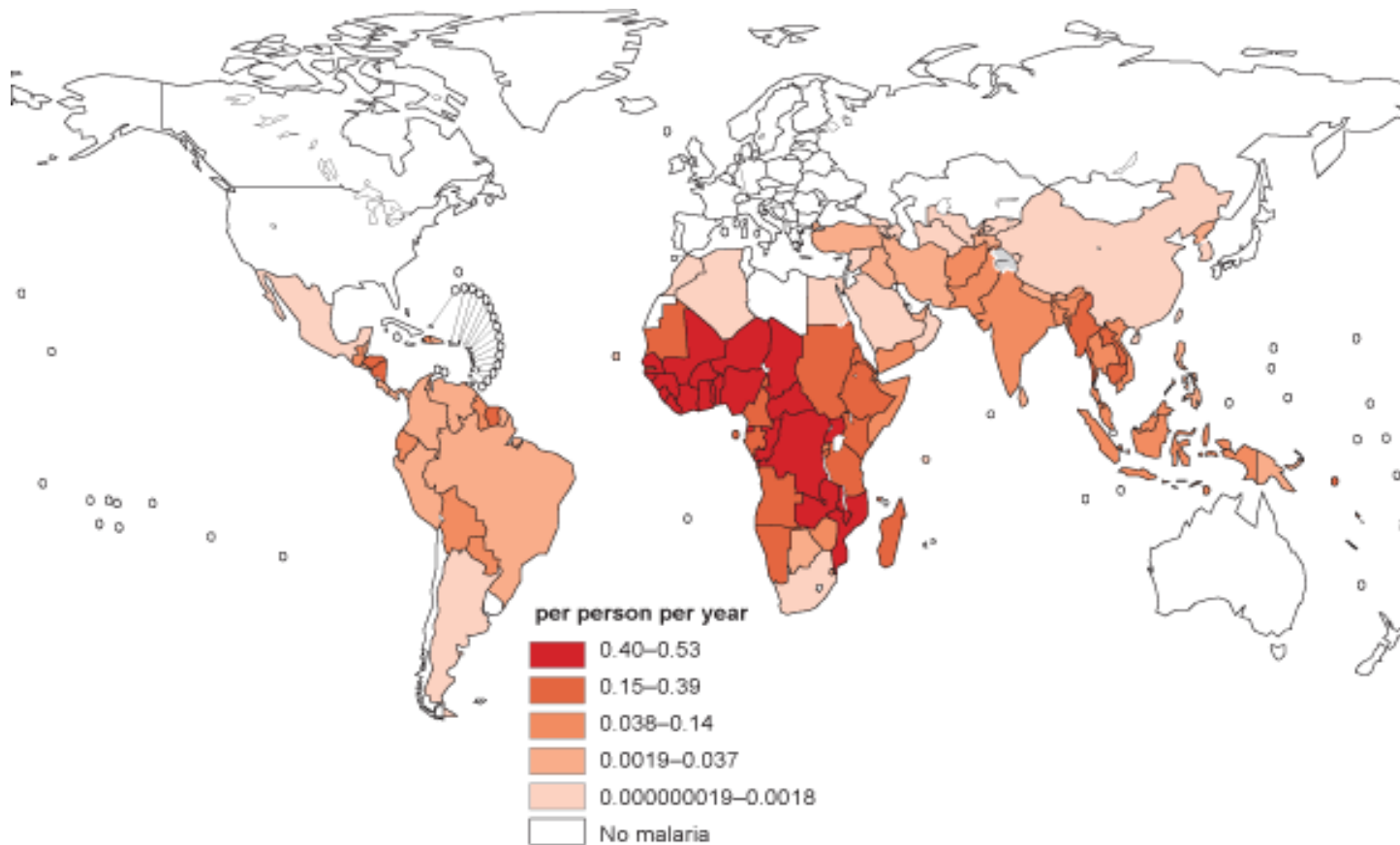


Fig. 3. Prevalencia de malaria OPS-OMS. 2005 <http://www.paho.org>



UNAHA

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA

Malaria en Honduras

LU
CEM
ASPI
CIO

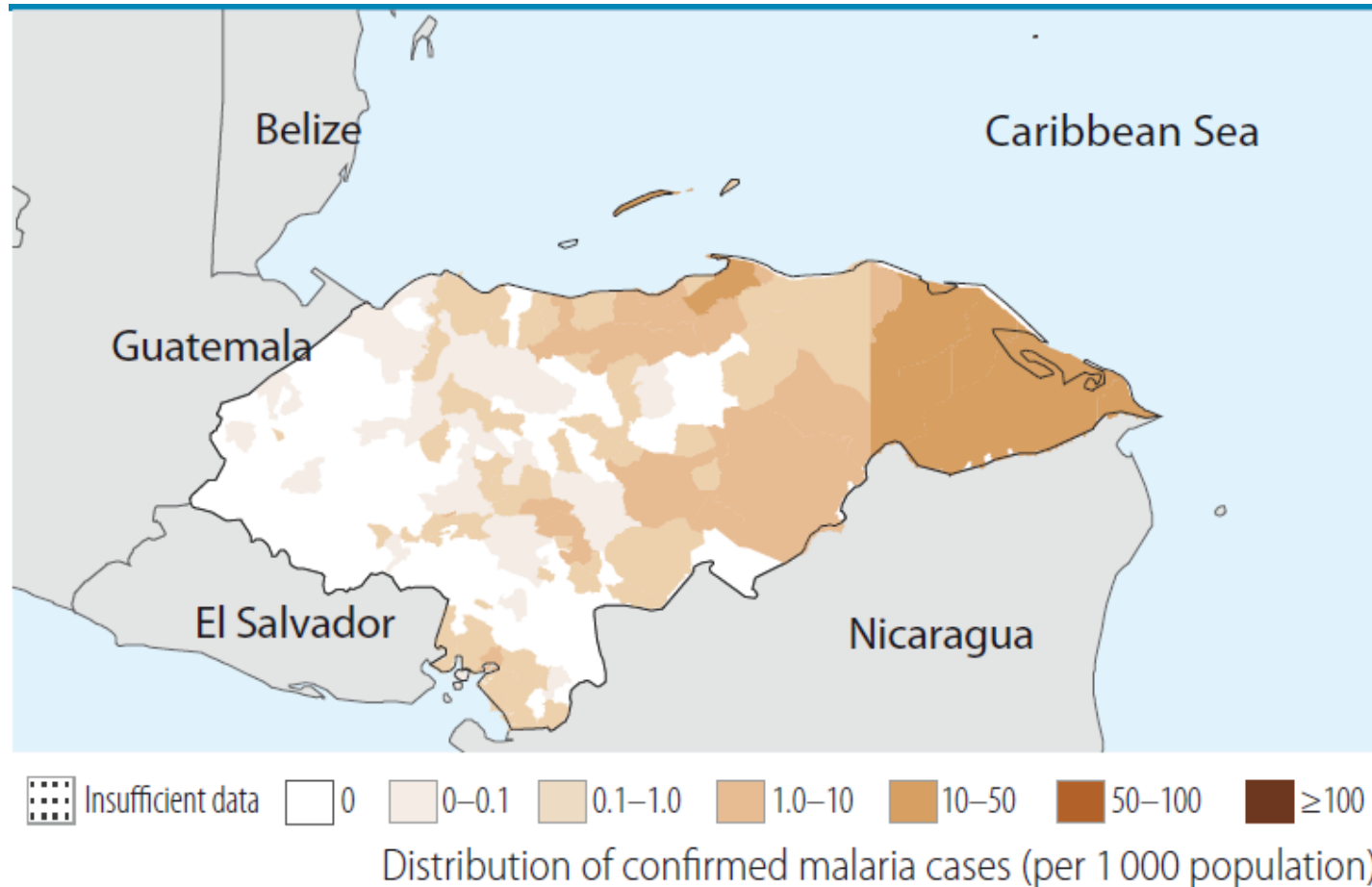


Fig. 4. Prevalencia de malaria en Honduras. WHO 2013.

- **Primaquina**
 - 8-aminoquinolinas
 - Contra gametocitos de *P. falciparum* e hipnozoítos de *Plasmodium vivax*.
 - Puede causar efectos adversos en individuos con G6PDd.

- **Tafenoquina** fase III 2014



News Feature | April 30, 2014



GSK Begins Phase 3 Trial For Malaria Drug

By *Estel Grace Masangkay*

GlaxoSmithKline and Medicines for Malaria Venture (MMV) announced the initiation of a Phase III trial for the investigational malaria drug tafenoquine.

Tafenoquine is an investigational 8-aminoquinoline derivative that challenges the *P. vivax* lifecycle. Tafenoquine is under development for treatment and relapse prevention (radical cure) of *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) malaria.

The Phase III program includes two randomized, double blind treatment studies labeled DETECTIVE and GATHER. The trials will investigate tafenoquine in adult patients with *P. vivax* malaria.

Dr. Timothy Wells, MMV's CSO, said, "One of the big challenges we face in tackling malaria is to have new medicines to prevent relapse, caused by dormant forms of *P. vivax*. The Phase 3 program is designed to build upon the promising results of the Phase 2b study which showed that treatment with tafenoquine prevented relapses. If successful, tafenoquine has the potential to become a major contributor to malaria elimination."





Objetivo general

Describir la frecuencia de variantes deficientes de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en población infectada por malaria en Honduras.





Comité de ética de Investigación (CEI) de la
Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas
(MEIZ-UNAH)



- Estudio descriptivo.
- Tamaño de la muestra:
 - ✦ 400 muestras provenientes de las zonas endémicas de Honduras.

Pv = 322

Pf = 66

Mix = 10

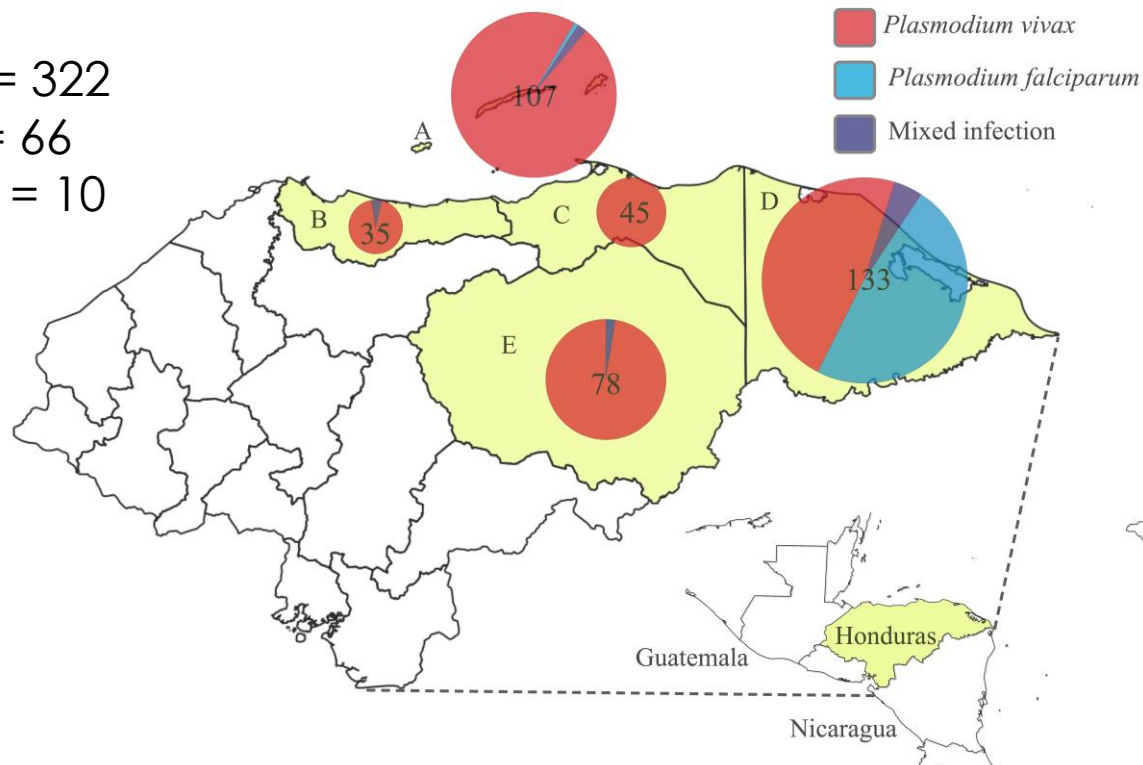


Fig. 5. Número de muestras y tipo de infección malárica.



✦ Universo:

- ✦ Muestras de pacientes hombres o mujeres de cualquier edad con malaria residentes en zonas endémicas que resultaron positivos a la prueba de detección del gen 18S ribosomal del parásito.

✦ Muestreo:

- ✦ No probabilístico por conveniencia.



- Alelos:
 - **G6PD A+** (N126D): **85%** actividad enzimática (Clase IV)
 - **G6PD A-** (V68M + N126D): **12%** actividad enzimática (Clase III)
 - **G6PD B**: Actividad normal

Variant	Sequence (5'-3')	Exon	Restriction enzyme	Refs.
A- (202 G>A, 376 A>G)	GTGGCTGTTCCGGGATGGCCTTCTG AGGGCAACGGCAAGCCTTAC	IV, V	NlaIII	Bouanga et al 1998, Mombo et al 2003, Hirono and Beutler 1988
A+ (376 A>G)	CTGCGTTTTCTCCGCCAATC AGGGCAACGGCAAGCCTTAC	V	FokI	Mombo et al 2003, Hirono and Beutler 1988

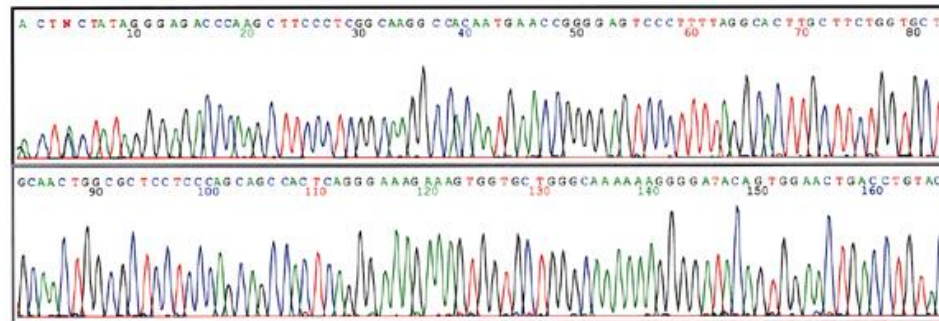
Tabla 2. Primers y enzimas usados para detectar las mutaciones en el gen G6PD.

- Kit comercial (Solgent, Corea del Sur):

- A 376 G
- G 202 A
- T 968 C
- G 680 T
- A 542 T (Santamaría)
- C 563 T (Mediterránea)



- Secuenciación:





Resultados por PCR-RFLP

- ✘ Total muestras procesadas por PCR-RFLP: 400

- ✘ Muestras G6PDd: 66
 - ▣ G6PD A+ : 18 (4.50 %)
 - ▣ G6PD A - : 48 (12.00 %)



Genotype	n	Sex	Total	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	Mixed infection
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
G6PD B (Wildtype) 334	334	M	164 (41.21)	139 (34.92)	21 (5.28)	4 (1.01)
		F	170 (42.71)	145 (36.43)	22 (5.53)	3 (0.75)
G6PD A+	17	M	4 (1.01)	2 (0.50)	2 (0.50)	0
		F	13 (3.27)	10 (2.51)	3 (0.75)	0
G6PD A-	47	M	16 (4.02)	8 (2.01)	7 (1.76)	1 (0.25)
		F	31 (7.79)	18 (4.52)	11 (2.76)	2 (0.50)
			398 (100)	322 (80.90)	66 (16.58)	10 (0.02)

Tabla 3. Frecuencias alélicas de G6PDA+ y G6PDA-.



Department	n	G6PD Genotype	n (%)	Heterozygous	Homozygous	Hemizygous
Atlántida	35	A-	1 (2.86)	0	0	1
		A+	3 (8.57)	1	0	2
		B	31 (88.57)			
Colón	45	A-	2 (4.44)	0	2	0
		A+	3 (6.67)	3	0	0
		B	40 (88.89)			
Gracias a Dios	133	A-	31 (23.3)	17	3	11
		A+	7 (5.3)	4	1	2
		B	95 (71.4)			
Islas de la Bahía	107	A-	10 (9.35)	6	1	3
		A+	3 (2.80)	3	0	0
		B	94 (87.85)			
Olancho	78	A-	3 (3.85)	2	0	1
		A+	1 (1.28)	1	0	0
		B	74 (94.87)			
Total	398	A-	47 (11.81)	25	6	16
		A+	17 (4.27)	12	1	4
		B	334 (83.92)			

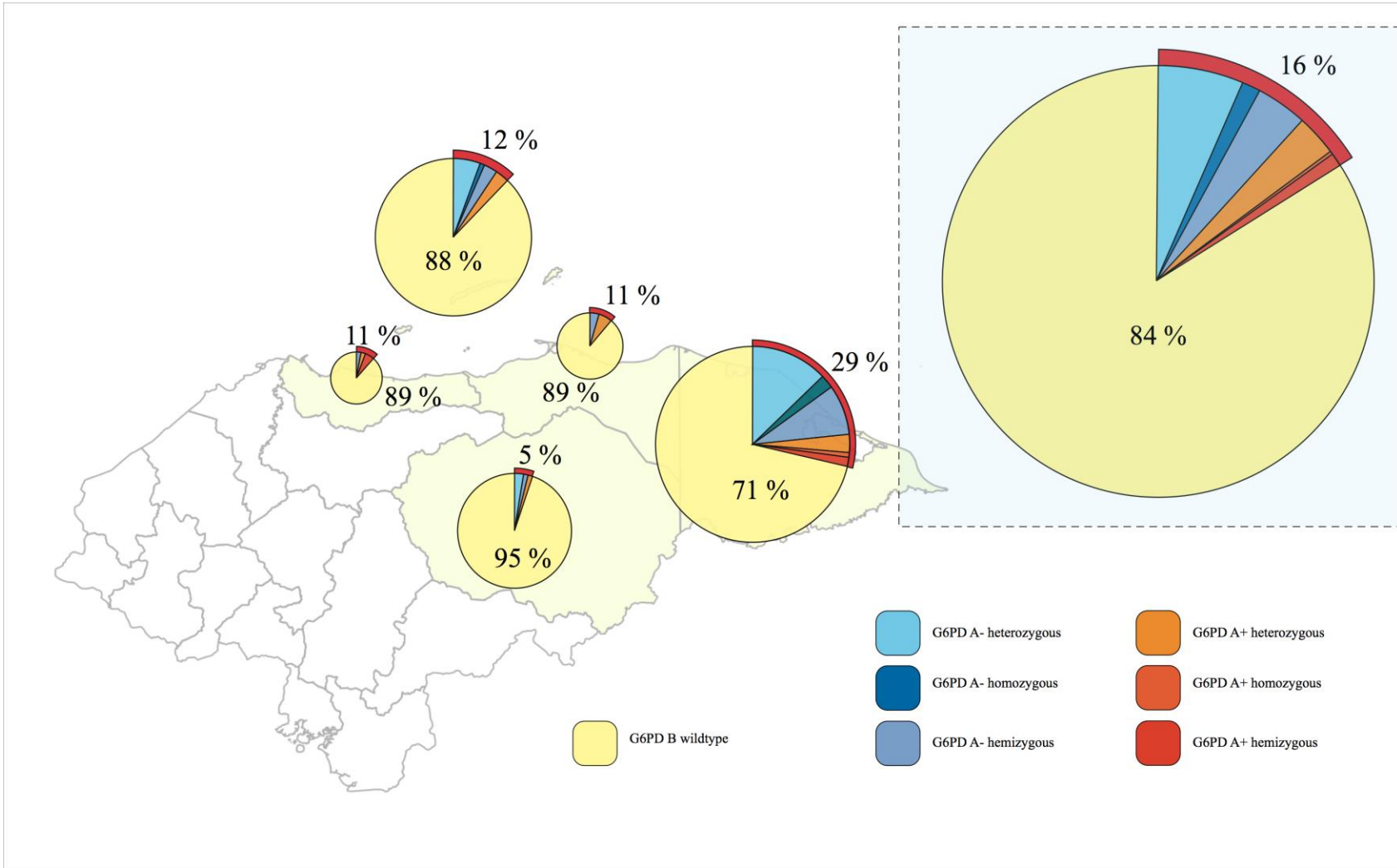
Tabla 4. Frecuencias alélicas de G6PDd por Departamento y Genotipo.



UNAH

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA

Resultados





UNAH

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA

Resultados

LU
CEM
ASPI
CIO

	n (%)	Genotype		
		G6PD A-	G6PD A+	G6PD B (Wildtype)
Male	184 (46.23)	16 (4.02)	4 (1.01)	164 (41.21)
Female	214 (53.77)	31 (7.79)	13 (3.27)	170 (42.71)
Total	398 (100)	47 (11.81)	17 (4.27)	334 (83.92)

Tabla 5. Frecuencias alélicas de G6PDd por sexo.

PCR XY determinación



Solgent kit	PCR-RFLP		Total
	G6PD A-	G6PD A+	
G6PD A-	47 (72.3 %)	1 (1.5 %)	48 (73.8 %)
G6PD A+	0	16 (24.6 %)	16 (24.6 %)
G6PD Santamaria	0	1 (1.5 %)	1 (1.5 %)
Total	47 (72.3 %)	18 (27.7 %)	65 (100 %)

Measure of agreement Kappa = 0.923 with asymptotic Std. Error = 0.052 (not assuming the null hypothesis)

Tabla 6. Comparación de resultados entre dos técnicas de diagnóstico de G6PDd.

Santamaría: 542A > T, 376A > G Clase II



- Este es el **primer reporte** de frecuencias alélicas deficientes para la enzima G6PD en Honduras.
- Es el primer reporte de la variante **Santamaría** en Honduras.
- Las frecuencias en la población de áreas maláricas de Honduras, para las variantes G6PD A+ y G6PD A- (4.50 % y 12.00 %) es **mucho mayor** a la predicción teórica esperada.
- Estos datos contribuyen a llenar parcialmente el vacío de información relacionado con la frecuencia de variantes deficientes de G6PD en Honduras, para su utilidad en programas de planificación, control y toma de decisiones en materia de salud pública para la malaria.



UNAH
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA

Agradecimientos



**Organización
Panamericana
de la Salud**



**Organización
Mundial de la Salud**

OFICINA REGIONAL PARA LAS **Américas**



Red Amazónica de Vigilancia de la
Resistencia a los Antimaláricos /
Amazon Malaria Initiative



RAVR/PA - AMI



UNAH

FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA


HONDURAS
Todo está aquí

GRACIAS POR SU ATENCIÓN

