



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO PROFISSIONAL  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS  
FUNDAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO  
ADMINISTRATIVO - FUNDAP



**LAYSE MARIA DA SILVA MACHADO  
MATHEUS HENRIQUE DE OLIVEIRA**

**TRAÇO FALCIFORME E SUA PREVALÊNCIA EM DOADORES NO HEMOCENTRO  
DE RIBEIRÃO PRETO, NÚCLEOS E UNIDADES.**

RIBEIRÃO PRETO  
2015



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO  
PROFISSIONAL  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS  
FUNDAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO ADMINISTRATIVO  
– FUNDAP



LAYSE MARIA DA SILVA MACHADO  
MATHEUS HENRIQUE DE OLIVEIRA

**TRAÇO FALCIFORME E SUA PREVALÊNCIA EM DOADORES NO HEMOCENTRO  
DE RIBEIRÃO PRETO, NÚCLEOS E UNIDADES.**

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP e FUNDAP, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP/ Departamento de Hemoterapia e Hematologia.

**Área:** Técnicas Laboratoriais em Hemoterapia e Hematologia.

**Orientador(a):** Dra. Maria Rosa de Almeida Arcodepani

**Supervisor(a) Titular:** Dra. Vanderléia Bárbaro Valente

RIBEIRÃO PRETO  
2015

O que se opõe ao descuido e ao descaso é o cuidado. Cuidar é mais que um ato, é uma atitude. Portanto, abrange mais que um momento de atenção. Representa uma atitude de ocupação, preocupação de responsabilidade e de envolvimento afetivo com o outro.

Leonardo Beff

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar a Deus, nosso eterno protetor, pelas oportunidades em nossas vidas e por nos dar forças para superar todos os obstáculos encontrados pelo caminho;

Aos nossos queridos pais, irmãos, familiares e amigos, pelo carinho, incentivo constante e apoio durante essa jornada;

À Doutora. Vanderléia Bárbaro Valente pelo amor carinho preocupação e dedicação durante o trajeto do curso;

Dra. Maria Rosa de Almeida Arcodepani pela orientação, dedicação e ensinamentos para a realização desse trabalho;

A todos os funcionários do Hemocentro de Ribeirão Preto pelo acolhimento e pelo grande conhecimento compartilhado durante nossa caminhada, muito obrigado!

## RESUMO

O traço falcêmico, nada mais é do que uma heterozigose para hemoglobina S. Os indivíduos Hb AS apresenta uma condição relativamente comum e clinicamente benigna, são consideradas pessoas normais, não apresentando nenhum tipo de anormalidade física e sua expectativa de vida é semelhante ao da população geral. Diferentemente dos portadores em homozigose para a Hb S (Hb SS) positivo para anemia falciforme no qual é uma doença genética de maior prevalência mundial e a que apresenta maior gravidade clínica e hematológica. O Brasil apresenta populações com heterogeneidade étnica com isso o traço falcêmico assim como anemia falciforme está presente em todo o país. **Matérias e método:** Os resultados foram analisados de forma quantitativa, onde utilizamos programa do Excel, que tem como princípio a obtenção da quantidade de indivíduos com Hb AS positivo durante o período em estudo, além de fontes literárias como: Livros, artigos científicos, sites eletrônicos para concretizar a revisão literária. **Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo principal avaliar a prevalência de doadores positivo para Hb AS no Hemocentro de Ribeirão Preto e região abrangente no período 01/01/2013 à 31/12/2013 totalizando 1 ano de análise. **Resultados:** Das 94.527 doações feitas no Hemocentro de Ribeirão Preto, Posto de Coleta, núcleos e unidades no período em estudo, 399 apresentaram positivo para Hb AS. Sendo 75 doações positiva no Hemocentro de Ribeirão Preto, 28 casos confirmado para Hb AS nas unidades no qual são compostas pelas cidades de Batatais, Bebedouro, Olímpia e Serrana, 225 doações positivas para Hb AS nos núcleos formados pelas cidades de Araçatuba, Fernandópolis, Franca e Presidente Prudente. Ressaltando que durante esse período foram realizadas coletas externas no qual obtiveram 71 doadores heterozigoto positivo para Hb S. **Conclusão:** O número de casos indicativos aos heterozigotos para hemoglobina S apresentou-se presentes em todas as cidades envolvida no estudo, assim o risco do aumento de prevalência de novos casos de heterozigotos e homozigotos para hemoglobina S futuramente.

Palavra Chaves: Traços Falcêmico, prevalência, banco de sangue

## ABSTRACT

The sickle cell trait is nothing more than a heterozygote for hemoglobin S. The Hb AS individuals presents a relatively common condition is clinically benign, are considered normal peoples, does not show any physical abnormality and their life expectancy is similar to the general population. Unlike the patients in homozygous for Hb S (Hb SS) positive for sickle cell anemia in which is genetic disease of greater prevalence worldwide and the one with more severe clinical hematological. Brazil had populations with ethical heterogeneity with this trait sickle cell anemia is present throughout the country. **Materials and method:** The results were analyzed quantitatively, where we use the Excel program, which has as a principle the obtaining of Hb AS positive individuals during the study period, and literary sources as: Books, scientific articles, electronic sites to achieve literary review. **Objective:** This study aimed to assess the prevalence of positive donors for Hb AS at the Blood Center of Ribeirão Preto and comprehensive region in the period 01/01/2013 to 31/12/2013 totaling one year of analysis. **Results:** Of 94.527 of donations made to the blood center of Ribeirão Preto, Collection Post, cores and units during the study period, 399 were positive for Hb AS. Being 75 positive donations at the Blood Center of Ribeirão Preto, 28 cases confirmed to Hb AS the units in which are composed by the cities of Batatais, Bebedouro, Olímpia é Serrana, 225 positive donations for Hb AS in the nuclei formed by the cities in Araçatuba, Fernandópolis, Franca e Presidente Prudente. Noting that during this period external collections were made in which obtained 71 positive donors heterozygote for Hb S. **Conclusion:** The number of likely cases to heterozygous for hemoglobin S, presented gifts in all cities involved in the study, so the rush of increased prevalence of news cases of heterozygous and homozygous for hemoglobin S future.

Keywords: sickle cell traits, prevalence, blood bank

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
HEMOGLOBINA NORMAL .....	10
HEMOGLOBINA VARIANTE .....	12
HEMOGLOBINA S .....	13
HEMOGLOBINA AS ou TRAÇO FALCEMICO.....	15
TRAÇO FALCIFORME - Doação de Sangue .....	16
DIAGNÓSTICO DO TRAÇO FALCÊMICO.....	17
Teste de Solubilidade - Adaptado para microplaca .....	18
Eletroforese de Hemoglobina PH Alcalino em Acetato de Celulose.....	20
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>28</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

IMAGEM 1: ESTRUTURA MOLECULAR DA HEMOGLOBINA .....	11
IMAGEM 2: DREPANÓCITOS EM LÂMINA.....	14
IMAGEM 3: CRUZAMENTO DE UM CASAL COM TRAÇO FALCIFORME.....	15
IMAGEM 4 :TESTE DE SOLUBILIDADE ADAPTADO PARA MICROPLACA .....	19

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: PADRÃO DE PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINAS .....	12
TABELA 2: INDIVÍDUOS COM HBAS POSITIVO NO PERÍODO DE JANEIRO A DEZEMBRO DE 2013 EM RIBEIRÃO PRETO E REGIÃO( NÚCLEOS E UNIDADES) .....	24
TABELA 3: INDIVÍDUOS COM HBAS POSITIVO NO PERÍODO DE JANEIRO A DEZEMBRO DE 2013 NA MATRIZ( RIBEIRÃO PRETO) .....	25
TABELA 4: INDIVÍDUOS COM HBAS POSITIVO NO PERÍODO DE JANEIRO A DEZEMBRO DE 2013 EM NÚCLEOS DA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO.....	25
TABELA 5: INDIVÍDUOS COM HBAS POSITIVO NO PERÍODO DE JANEIRO A DEZEMBRO DE 2013 EM UNIDADES DA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO.....	26



## INTRODUÇÃO

O traço falciforme (TF), heterozigose para hemoglobina S, apresenta uma condição relativamente comum e clinicamente benigna em que o indivíduo herda de um dos pais o gene para hemoglobina A e do outro o gene para hemoglobina S. Assim os portadores da hemoglobina AS, são considerados pessoas normais, não apresentando nenhum tipo de anormalidade física e sua expectativa de vida é semelhante ao da população geral. (SIQUEIRA et al, 2009).

A prevalência desde traços pode variar de uma forma muito alta, atingindo valores máximos em países como a África, Arábia, Índia, Turquia, Grécia e Itália. No EUA, e no Brasil há uma prevalência na população negra de 6,7% a 10,1%. Analisando hematologicamente, a morfologia e a contagem de eritrócitos são normais nesses indivíduos, além de as hemácias possuírem uma sobrevivência normal, não apresentando nenhum tipo de anemia ou hemólise (MURÃO M, et al ; 2007).

Na literatura não existe relação entre prevalência de hemoglobinas anormais e o sexo dos indivíduos, uma vez que o gene responsável pela AF não está ligado ao sexo e sim a genes autossômicos dominantes localizados nos cromossomos 11 e 16 e determinam a síntese das cadeias polipeptídicas (SILVA W MORAES, 2012).

Dados do Ministério da Saúde fala que 3,5 mil crianças brasileiras nascem com anemia falciforme. Outras 200 mil nascem com traços falciformes, gene esse que pode ser transmitido para gerações seguintes. Devido a essa elevada frequência de heterozigotos e a gravidade clínica dos homozigotos, a nossa população vêm sendo alvo de políticas públicas adotadas pelo Ministério da Saúde e outras instituições governamentais no intuito de ter uma atenção especial ao Portador da hemoglobina AS (SILVA; et al, 2012).

Desde a década de 70, recomenda-se a inclusão da realização de exames de hemoglobinas para a doação de sangue no Brasil. Nesse período, foi recomendado que a investigação de hemoglobinas variantes começasse a ser realizadas nos centros de hemoterapia de todo Brasil, sendo um procedimento duplamente útil, beneficiando tanto o doador e o receptor de sangue ao mesmo tempo (GHAZALE et al, 2008)

A importância de realizar a triagem dos portadores do traço falciforme nos bancos de sangue é de suma importância. O Brasil apresenta populações com heterogeneidade étnica com isso o traço falcêmico assim como anemia falciforme é altamente prevalente no país. A chance de encontrar um receptor de sangue com essa característica é muito grande, o que diminuiria a eficácia da transfusão, assim o receptor estará sendo protegido do recebimento de hemácias anormais que não podem cumprir com o seu papel tornando a transfusão ineficaz.

O benefício da triagem dos doadores de sangue é a detecção do traço falciforme e o aconselhamento genético, uma vez que a identificação de indivíduos heterozigota é extremamente importante para saúde pública, pois é uma possível fonte de novos heterozigotos, além de podem originar pessoas homozigotas para a doença (SILVA e GIOVELLI, 2010).

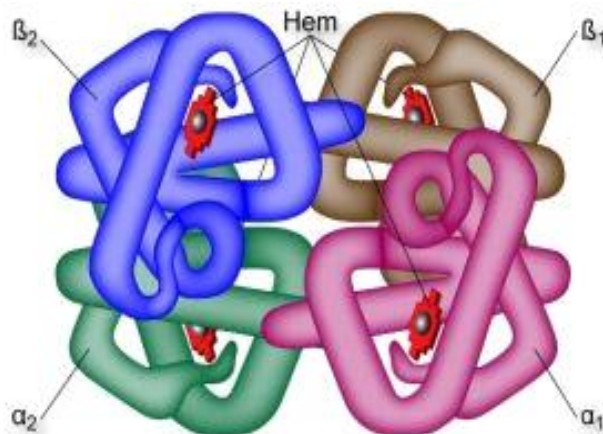
### **HEMOGLOBINA NORMAL**

O nome hemoglobina deriva do grego *haima* (sangue) e do latim *globus* (bola), é uma proteína localizada no interior das células eritrocitárias que tem como principal função o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos e, ao mesmo tempo facilita a eliminação de CO<sub>2</sub> em sentido inverso. A globina é a parte proteica da hemoglobina composta por quatro cadeias polipeptídicas associadas a um grupamento proteico (heme) ao qual se liga o oxigênio. O heme, anel porfirínico cujo núcleo contém ferro sob forma Fe<sup>2+</sup> (ferroso) que é o pigmento que dá a cor vermelha ao sangue.(GUIMARÃES, 2007).

Graças à alta relatividade do ferro e grande afinidade pelo O<sub>2</sub> que este pode ser transportado para todos os tecidos do corpo, incorporando-se em várias reações celulares e participando da produção de energia oxidativa. Cada cadeia polipeptídica da globina é composta por uma sequência de aminoácidos, tendo as cadeias alfa 141 resíduos de aminoácidos cada uma e as cadeias não-alfa, 146 resíduos. (CORDERO, 2009).

A estrutura tetramérica da Hb é essencial para o transporte de O<sub>2</sub>, assim no processo de oxigenação e desoxigenação a molécula tem duas conformações associadas. Na oxigenação, as ligações entre as cadeias de globina se movem

juntas, levando uma maior afinidade pelo O<sub>2</sub>; a desoxigenação, o 2,3 Difosfoglicerato (2,3 DPG) e a queda do pH favorecem a diminuição da afinidade pelo O<sub>2</sub>. ( CORDERO, 2009).



**Imagem 1:** Estrutura Molecular da Hemoglobina

**Fonte:** Adaptado de [fig.cox.miami.edu/.../chemistry/hemoglobin.jpg](http://fig.cox.miami.edu/.../chemistry/hemoglobin.jpg) acessado 30/11/2014

A gênese das cadeias globínicas é regulada por agrupamentos (*clusters*) de genes nos cromossomos 11 e 16, que são expressos sequencialmente nos períodos embrionário, fetal e adulto. Os agrupamentos ou (*clusters*) α estão localizados no braço curto do cromossomo 16, enquanto os genes do agrupamento β estão no braço curto do cromossomo 11. As diferentes combinações das cadeias globínicas possibilitam o surgimento de hemoglobinas distintas e para o tetrâmero funcional seja formado é necessário um perfeito equilíbrio na produção destas cadeias (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003).

No período embrionário, tetrâmero de hemoglobina Gower-1 é formada por duas cadeias ε (agrupamento β) e duas ζ (agrupamento α). Por volta da oitava semana de gestação, as cadeias produzidas são largamente substituídas pela cadeia α adulta e duas diferentes cadeias fetais conhecidas por Gγ e Aγ. As cadeias γ diferem somente pela presença de glicina ou alanina na posição 136, respectivamente. As hemoglobinas Hb Gower 2 (α<sub>2</sub> ε<sub>2</sub>) e Hb Portland (ζ 2γ<sub>2</sub>) são detectadas durante a passagem do período de estágio embrionário para o fetal. A HbF (α<sub>2</sub> γ<sub>2</sub>) torna-se a hemoglobina predominante ao longo do período fetal restante. Após o nascimento, as cadeias γ são gradualmente substituídas pela síntese das cadeias β, dando origem à produção da hemoglobina A. Por volta do

6º mês após o nascimento, 97 a 98% da hemoglobina é formada pelo tetrâmero  $\alpha_2\beta_2$  (HbA), enquanto a HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) está presente em aproximadamente 2 a 3%. Pequenas quantidades de HbF também são encontradas no sangue adulto normal (TORRES; BONINI-DOMINGOS, 2005)

Hemoglobina	% no RN	% no adulto
Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ )	0 a 20	96 a 98
Hb A2 ( $\alpha_2\delta_2$ )	0 a 1	2,0 a 3,7
Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ )	80 a 100	0,2 a 1,5

**Tabela 1:** Padrão de prevalência de hemoglobinas

Fonte: Ferraz&Murao,2007

As diferenças existentes entre as hemoglobinas sintetizadas durante o desenvolvimento do indivíduo servem para preencher as diferentes necessidades de oxigênio destas diversas fases. Algumas hemoglobinas perduram durante a vida embrionária e fetal e logo desaparecem após o nascimento. Essas mudanças correspondem à ativação e à inativação simultâneas dos genes responsáveis pela síntese de várias cadeias de globina (LORENZI, 2006).

Ao decorrer do desenvolvimento humano, a expressão coordenada dos genes semelhantes à alfa e beta globina são de suma importância para uma concentração balanceada e adequada da Hb dentro dos eritrócitos (SILVA REZENDE, 2012).

### HEMOGLOBINA VARIANTE

As alterações das hemoglobinas aparecem como resultado de algum tipo de mutação dos genes alfa, beta, gama ou delta, no qual são responsáveis pelo sequenciamento e estrutura de cada tipo de polipeptídeo. Devido a consequência sofrida, as cadeias de globina se formam de maneira anormal, e é chamada

hemoglobina variante, interferindo a função desempenhada pela hemoglobina dos eritrócitos (SILVA; GIOVELLI, 2010).

Os genes que codificam as globinas podem sofrer mutações e entre estas algumas alteram a funcionalidade das proteínas. Assim a mais simples e comum lesão molecular, a troca de uma base do DNA genômico, pode provocar a supressão da síntese da cadeia de globina, uma redução na velocidade de síntese ou ainda a produção de cadeia com alterações estruturais variadas, desde a troca de um aminoácido até a produção de cadeias alongadas (ZAGO; FALCÃO; PINTO, 2004).

As hemoglobinas variantes consiste de resultados de mudanças na sequenquência de aminoácidos das cadeias  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$  dos tetrâmeros das hemoglobinas A, F e A2. As variantes são causadas por alterações nos nucleotídeos do DNA, tais como deleções, inserções e mutações de ponto em um dos genes estruturais de globina (SILVA RESENDE, 2012).

A molécula de Hemoglobina variante pode ser classificada como estruturais e de síntese. As alterações estruturais incluem a substituição, deleção e inserção de um ou mais aminoácidos, como também a fusão de duas cadeias globínicas diferentes causando a formação de uma Hb anormal. As alterações de síntese se caracterizam pela síntese reduzida ou nula de uma ou mais tipos de cadeias globínicas. Ambas as modificações resultam na formação de moléculas de Hb com características bioquímicas alteradas em relação às Hb normais (GALARÇA et al, 2014).

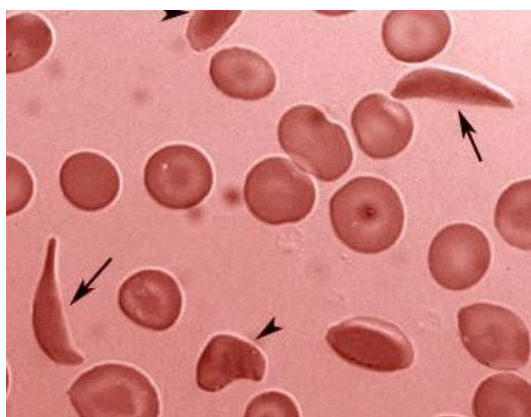
Cada hemoglobinopatia variante ocorre na forma homozigota e heterozigota. No estado heterozigoto, as hemácias contêm tanto a hemoglobina adulta normal (HbA) como a hemoglobina variante. Como raramente a expressão fenotípica tem significado clínico, diz-se que os heterozigotos têm o "traço" para aquela anormalidade. No estado homozigoto, a Hb A está ausente e as manifestações clínicas são de gravidade variável (ALBERTI LISOT, 2003).

## **HEMOGLOBINA S**

O HbS é uma proteína mutante, cuja principal característica é de sofrer polimerização sob baixas tensões de oxigênio. (ZANETTE, 2007). A causa dessa mutação é devida alteração do ponto no gene da  $\beta$  globina, com padrão de herança autossomo recessivo, denominado Hb S, ao invés da hemoglobina normal Hb A.

Essa mutação causa a modificação de um nucleotídeo no sexto códon do gene da  $\beta$  globina e assim a substituição do aminoácido ácido glutâmico por uma valina (BELISÁRIO, 2010).

A polimerização da Hb S deforma o eritrócito, fazendo com que a célula perca seu formato discoide, tornando-se alongada com filamentos na sua extremidade. Assim a sequência que provoca alterações das células eritrocitárias discoide em células falcizadas altera a funcionalidade da bomba de sódio e potássio, ocorrendo a perda de potássio e água assim, tornando as hemácias mais densas e favorecendo o aumento do nível de polímero de Hb S. (MANFREDINI et al, 2007).



**Imagem 2:** Drepanócitos em lâmina

Fonte: Lorenzi, 2006

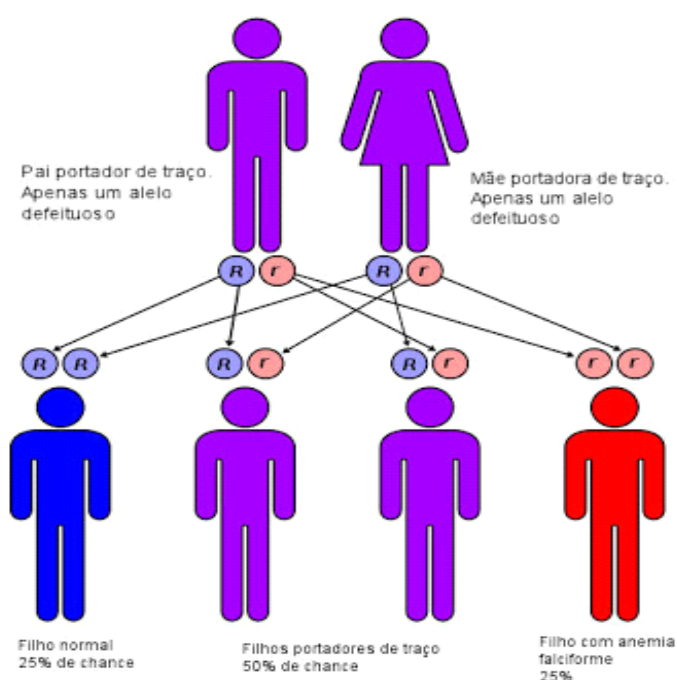
A imagem a cima de uma hemácia, apresenta-se células eritrocitárias em forma de foice em lâmina de microscópica. Este drepanócitos se encontra alongadas devido à polimerização da hemoglobina anormal.

Os glóbulos vermelhos em forma de foice ou drepanócito com também é conhecido, não circulam adequadamente na microcirculação, resultando tanto em obstrução do fluxo sanguíneo capilar como em sua própria destruição precoce. Este mecanismo fisiopatológico provoca graves manifestações clínicas, com maior frequência após os 6 meses de idade (SANTOS, 2011).

## HEMOGLOBINA AS ou TRAÇO FALCEMICO

O traço falciforme ou siclêmico é caracterizado pela presença de Hb S em heterozigose, e não apresenta alterações hematológicas ( MANFREDINI *et al*, 2007). Porém, nos casos em que os níveis de hemoglobina S chegam a 45%, pode ocorrer falcização em situações de hipóxia, como anestesia ou exposição a altitudes elevadas (MESIANO, 2001).

A heterozigose para o gene da hemoglobina S consiste que a determinada pessoa herdou de um dos pais o gene para hemoglobina A, e do outro, o gene da hemoglobina S, caracterizando assim um individuo AS. Pessoas com o traço falcêmico não desenvolvem a doença, e são normalmente saudáveis, devendo apenas ter um pouco de atenção em relação à geração de filhos com um parceiro que seja também traço falcêmico, observando que podem gerar filhos com Anemia Falciforme. (Doença Falciforme - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - 2007) - acessado em 03/12/2014 -bvsmms.saude.gov.br



**Imagem 3:** Cruzamento de um casal com traço falciforme

Fonte: Adaptado [www.mdsaude.com](http://www.mdsaude.com); acessado 25/12/2014.

Estudos mostram que não há um aumento ou uma causa específica de mortalidade devido à heterozigose AS. Entretanto, há relatos na literatura, de

possíveis causas relacionadas a esta hemoglobinopatia. Observamos a seguir, algumas anormalidades associadas à heterozigose para hemoglobinopatia S:

- Infarto esplênico associado à hipóxia em elevadas altitudes: há relatos na literatura de complicações em altitudes acima de 3.200 m, além de exercícios físicos intensos em grandes altitudes (Ex: jogadores de futebol)
- Morte súbita: um estudo nos EUA designa um risco 28 vezes maior em recrutas americanos com AS, quando comparados a indivíduos negros AA;
- Complicações renais: bacteriúria assintomática, hematúria microscópica e alterações na capacidade de concentração urinária, estão entre os tópicos mais importantes descritos em relação a indivíduos AS com complicações renais.
- Anestesia e cirurgia: durante estes procedimentos, sempre evitar ao máximo que o indivíduo sofra hipóxia, acidose, ou algum tipo de desidratação;

Além dessas anormalidades "mais comuns" apresentadas anteriormente, há também números significativos de pacientes que apresentaram embolia pulmonar, desenvolvimento de glaucoma e alterações ósseas e articulares. (Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes- 2002-pág. 30 a 32).

A detecção de indivíduos portadores das formas imperceptíveis de hemoglobinopatias é de uma importante magnitude para saúde pública, pois além destes heterozigotos representarem fonte de novos heterozigotos, possa, pelo casamento entre portadores, originar pessoas homozigotas para Anemia Falciforme (BATISTA; ANDRADE, 2002).

O aconselhamento genético é uma importante ferramenta em se referindo a Anemia Falciforme, pois o mesmo consiste a uma doença de hereditariedade genética, esse método apresenta uma especial importância, pois tem o intuito de orientar os pacientes portadores do traço falcêmico sobre a tomada de decisões em relação à reprodutividade e ajudar a compreender as conotações dessa doença. (GUIMARÃES; COELHO, 2008).

### **TRAÇO FALCIFORME - Doação de Sangue**

A doação de sangue por brasileiros portadores do traço falciforme foi questão de discussão na década de 70. Com isso os importantes autores



americanos como Mollison( 1972) Oski e Naiman ( 1972), Ramalho ( 1976) surgirem que a investigação desta hemoglobina fosse realizada pelos serviços de hemoterapia nacionais (WATANEBE; 2007).

De acordo com Watanebe, 2007, o Ministério da Saúde, implantou a RDC Portaria nº 1.379, de 19 de novembro de 1993, que regulamentava as Normas Técnicas em Hemoterapia, essa norma alertava para o uso de concentrado de hemácias de doadores heterozigotos para hemoglobina. Com a obrigação de realizar as triagens nos doadores no centro de hemoterapia de todo país. Foi realizada uma importante modificação a respeito da HbS na Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº343, onde essa resolução recomendava a detecção de hemoglobina S e de outras hemoglobinas anormais nos doadores de sangue. Os componentes eritrocitários de doadores com pesquisa de hemoglobina S positiva deveriam conter informações no seu rótulo, mas não precisavam ser descartados.

Para cumprir esta normativa, os serviços de hemoterapia iniciaram a pesquisa da HbS em todos os doadores, através da resolução da Diretoria Colegiada - RDC, do Ministério da Saúde nº153 de 14 de junho de 2004 ( BRASIL, 2004). Essa resolução veio ao encontro da necessidade de melhorar cada vez mais a qualidade e confiabilidade ao pacientes do sangue a ser transfundido.

O Ministério da Saúde com a portaria 1353 de 13 de junho de 2011, implantou uma nova RDC, segundo esta normativa, os componentes eritrocitários dos doadores com pesquisa positiva de hemoglobina S devem continuar apresentando esta informação no seu rótulo e não devem ser desleucocitados ou utilizados em pacientes com hemoglobinopatias, com acidose grave, em recém-nascido, transfusão intrauterina, procedimentos cirúrgicos com circulação extracorpórea ou hipotermia.( BRASIL, 2011).

## **DIAGNÓSTICO DO TRAÇO FALCÊMICO**

Os portadores do traço falciforme são clinicamente e hematologicamente saudáveis, com isso são aptos à doação de sangue, mas como afirmam a literatura, esse sangue possui utilização restrita tornando o diagnóstico desta alteração imprescindível (SILVA; GIOVELLI, 2010).

As técnicas realizadas no Hemocentro de Ribeirão Preto para detecção de

Hb S nos doadores apresenta uma grande variedade de teste qualitativo e quantitativo. Entre os testes qualitativos, está o teste de solubilidade e quantitativo a eletroforese de hemoglobina.

O HPLC é um método de detecção que possui maior sensibilidade do que os procedimentos eletroforéticos. O sistema automatizado é de fácil manuseio e os resultados são apresentados rapidamente. O teste é utilizado para a quantificação das Hb A<sub>2</sub> e Hb F, além da identificação das Hb A, Hb , Hb D e Hb C. O tempo de retenção das frações normais permite padronizar o tempo de eluição das variantes sendo este um critério adicional para identificação.( SILVA W MORAES, 2012).

### **Teste de Solubilidade - Adaptado para microplaca**

O teste de solubilidade visa reduzir a hemoglobina S, pois é insolúvel em tampão inorgânico. Considerando que outras hemoglobinas são solúveis, está seria uma forma de isolar a hemoglobina S. O princípio do teste se baseia no fato de que quando há desoxigenação, ocorre o deslocamento lateral das cadeias betas, ao contrário do que ocorre na oxigenação, com as cadeias beta retornando ao eixo. A lise dos eritrócitos, quando na mistura de ditionito de sódio no teste de solubilidade, libera hemoglobina desoxigenada e a cadeia beta de cada molécula se desloca lateralmente, causando "opacidade" na leitura do teste (DUARTE, 2012).

O objetivo dessa técnica é detectar a presença da HbS na hemácia. Este teste é fundamentado na insolubilidade da HbS no estado reduzido. A amostra para a realização do teste deve ser coletada com anticoagulante EDTA ou citrato.

#### **Técnica:**

Solução Fosfato:

-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (anidro): 33,78 g

-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anidro): 59,33 g

-Saponina P.A: 2,5 g

-Água destilada: 250 ml

Identificar microplaca com o número de doadores;

Dois Poços da microplaca são reservados para os controles, positivo e negativo;

Dissolver 0,1 g de ditionito de sódio para cada 10 ml de tampão fosfato;

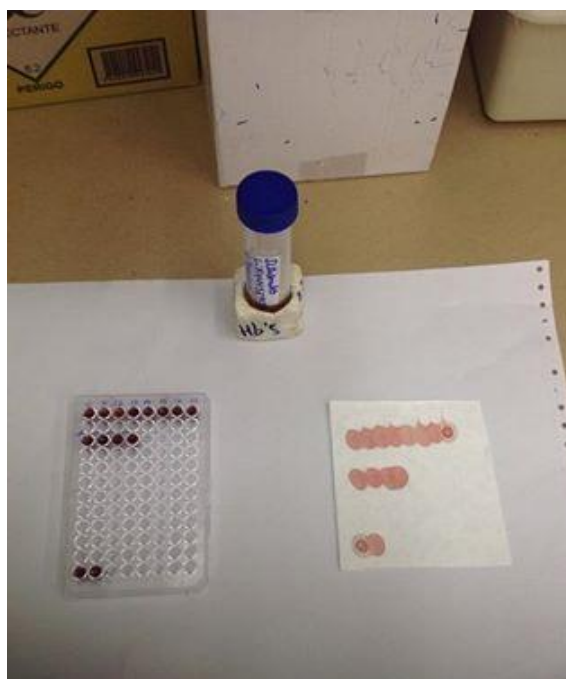
Dispensar 200 µl desse tampão/ditionito nos poços da microplaca;

Pipetar 10 µl de hemácias ou 20 µl do sangue total a ser testado em cada poço, homogeneizando;

Aguardar 10 minutos;

Dispensar 10 µl da reação em um papel filtro;

Efetuar a leitura



**Imagem 4** :Teste de solubilidade adaptado para microplaca

Fonte: Oliveira, 2014.

## **Eletroforese de Hemoglobina PH Alcalino em Acetato de Celulose**

A eletroforese se conduz na diferente mobilidade eletroforética das hemoglobinas carregadas eletricamente permitindo que ocorra a separação das bandas de migração de hemoglobinas. A hemoglobina é uma proteína carregada negativamente à eletroforese de Hb se baseia nesse princípio. Assim durante a corrida eletroforética, as proteínas migram para o polo positivo. As diversas hemoglobinas com defeitos estruturais causadas por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoelétricos resultam na ocorrência de diferentes mobilidades eletroforéticas (SILVA e GIOVELLI, 2010).

Tem como objetivo separar as frações de hemoglobinas de modo que seja possível sua identificação. Esta técnica qualitativa é utilizada para amostras de doadores de sangue que apresentaram testes de solubilidade para Hemoglobina S positiva.

### **Reagentes:**

Tampão Tris EDTA Borato Ph 8,6 Solução

Estoque (10x): Tris: 51 g

EDTA: 3 g

Ácido Bórico: 16 g

Água mili-Q: 500 ml

Solução uso (1x):

Solução estoque (10x): 100 ml

Água mili-Q: 1000 ml

- Saponina

Saponina: 1 g

Água mili-Q: 100 ml

### **Técnica:**

Colocar tampão TEB 1X no reservatório da cuba de eletroforese o mesmo volume de cada lado (aproximadamente 100 ml);

Retirar as fitas de acetato de celulose do tampão (TEB 1X), e retirar o excesso do mesmo colocando-as entre duas folhas de papel absorvente;

Posicionar as fitas de acetato de celulose devidamente esticadas sobre o suporte da cuba de eletroforese;

Em uma placa de floculação colocar 100 ul de saponina e 100 ul de sangue total, homogeneizar e deixar repousar por 10 minutos para que ocorra hemólise;

Com um aplicador de 1 ul, aplicar os hemolisados previamente preparados, respeitando os espaços de 0,5 cm entre bordas e até 0,5 cm entre amostras;

Conectar o fio preto correspondente a carga negativa do lado aonde as amostras são aplicadas, e o fio vermelho que corresponde a carga positiva no lado contrário que é pra onde as hemoglobinas irão migrar, aplicar uma corrente de 300 Volts por aproximadamente 15 a 20 minutos podendo se estender por até 30 minutos no máximo;

Analisar as frações de hemoglobinas presentes comparando-as com o auxílio de um mapa de migração de hemoglobinas.

## **OBJETIVOS**

O presente trabalho tem por objetivo, conhecer a prevalência de doadores de sangue heterozigotos para a hemoglobina AS no Hemocentro de Ribeirão Preto, núcleos e unidades, além de coletas externas realizadas periodicamente no período de 01/01/2013 a 31/12/2013.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se então de um trabalho de revisão bibliográfica, juntamente com um levantamento de dados. Utilizamos de artigos científicos, livros e manuais do Ministério da Saúde para elaborar os textos presentes nessa monografia.

Para o levantamento de dados, utilizamos do sistema SBS (Sistema Banco de Sangue) presente no Hemocentro de Ribeirão Preto para encontrarmos os indivíduos heterozigoto positivos para HbS presentes tanto no Hemocentro (matriz), quanto nas unidades, núcleos e coletas externas.

Os resultados foram analisados de forma quantitativa, onde utilizamos o programa do Excel, que tem como princípio a obtenção da quantidade de indivíduos com Hb AS positivo. Este estudo foi realizado no período de 01/01/2013 a 31/12/2013, totalizando assim 1 (um) ano.

## RESULTADOS

Estudos feitos por Naoum Paulo (2010) em relação à disposição Geográfica das cidades do Estado de São Paulo, condiz que em todas as cidades Paulista o gene para Hb AS está presente em suas populações.

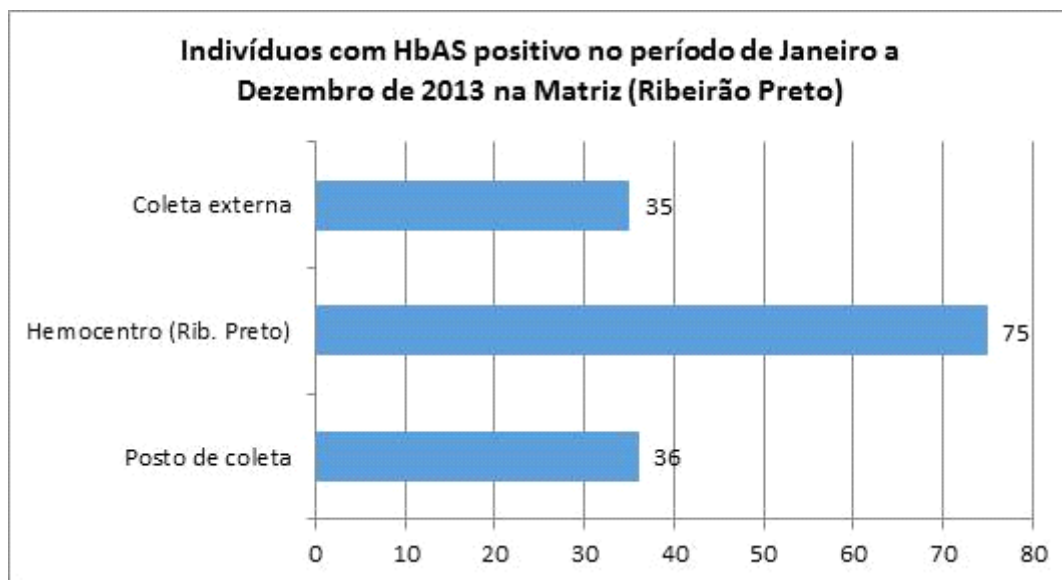
Levantamento de dados realizado com a ajuda do sistema SBS (Sistema Banco de Sangue) presente no Hemocentro de Ribeirão Preto no período estudado 01/01/2013 a 31/12/2013. Analisaram-se resultados de 94.527 doadores, sendo um total 399 amostras positivas durante esse período. Composto 75 doações positiva no Hemocentro de Ribeirão Preto, 28 casos confirmado para Hb AS nas unidades no qual são compostas pelas cidades de Batatais, Bebedouro, Olímpia e Serrana, 225 doações positivas para Hb AS nos núcleos formados pelas cidades de Araçatuba, Fernandópolis, Franca e Presidente Prudente. Ressaltando que durante esse período foram realizadas coletas externas no qual obtiveram 71 doadores heterozigoto positivo para Hb S

O resultado obtido no gráfico abaixo demonstra a prevalência de positividade de Hb AS em doadores presentes no conjunto Hemocentro de Ribeirão Preto, núcleos, unidades e coletas externas.

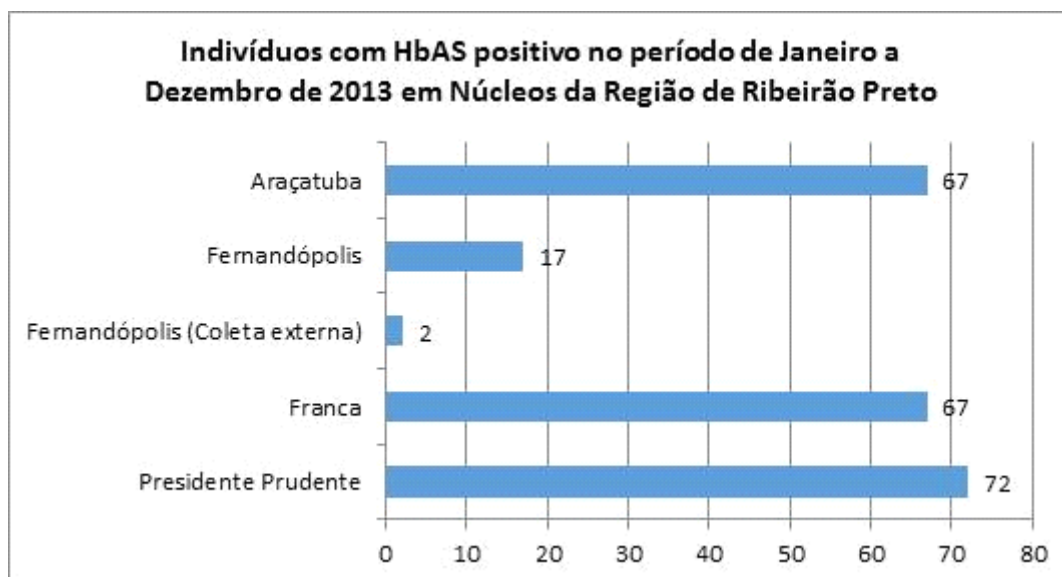


**Tabela 2:** Indivíduos com HbAS positivo no período de janeiro a dezembro de 2013 em Ribeirão Preto e Região( núcleos e unidades)

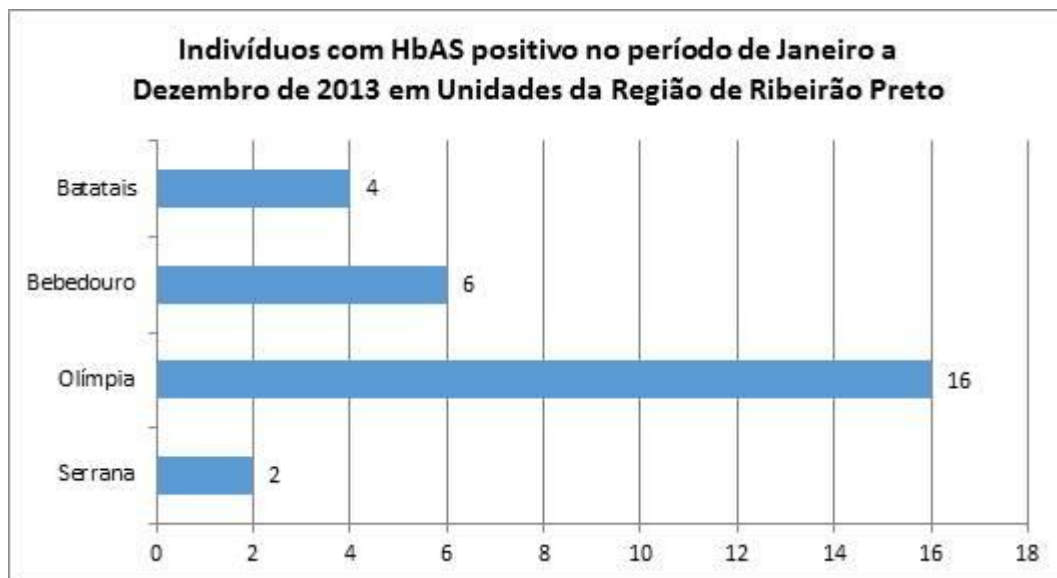




**Tabela 3:** Indivíduos com HbAS positivo no período de Janeiro a Dezembro de 2013 na Matriz( Ribeirão Preto)



**Tabela 4:** Indivíduos com HbAS positivo no período de Janeiro a Dezembro de 2013 em Núcleos da Região de Ribeirão Preto



**Tabela 5:** Indivíduos com HbAS positivo no período de Janeiro a Dezembro de 2013 em Unidades da Região de Ribeirão Preto.

Podemos observar que há positividade para Hb AS tanto no Hemocentro de Ribeirão Preto como nos núcleos e unidades. Isso fica claro que futuramente poderá haver um aumento no índice da doença AF assim como heterozigoto para anemia falciforme, tendo em vista a possibilidade da ocorrência de 25% de anemia falciforme nos filhos de casais com ambos os cônjuges apresentando traços falcêmicos e 50% de probabilidade caso um dos cônjuges possua a doença e o outro seja heterozigoto. Com isso é necessário levar em questão a necessidade da importância do aconselhamento genético, pois esse método, é o mais propício para redução de novos casos de portadores heterozigoto e homozigoto para HbS.

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos mostram a importância da investigação das hemoglobinas variantes na população de Ribeirão Preto e região permitindo a identificação de portadores homocigotos e heterocigotos. Foi observado que o número de casos indicativos aos heterocigotos para hemoglobina S apresentou presentes em todas as cidades envolvida no estudo, assim o risco do aumento de prevalência de novos casos de heterocigotos e homocigotos para hemoglobina S proporciona futuramente um nível superior de novos casos apresentado nos gráficos a cima, isso é devido pela possibilidade da união desses indivíduos e conseqüentemente o nascimento de crianças homocigota ou heterocigota para HbS.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BATISTA, A.; Andrade, T. C. **Anemia Falciforme: um problema de Saúde Pública no Brasil**. Universitas Ciências da Saúde, v. 3, n. 1, p. 83-99. 2002.

BELISÁRIO, A. R.; **Genótipos da Talassemia Alfa e haplótipos do agrupamento de genes da globina beta como moduladores da gravidade da doença falciforme em crianças do programa estadual de triagem neonatal de minas gerais matriculadas no hemocentro de Belo Horizonte na Fundação Hemoninas**. Dissertação( Mestrado) programa de pós graduação em Ciências Médicas.Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais. 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1376 de 19 de novembro de 1993. Diário Oficial do Brasil, Brasília 2 de dezembro 1993. Seção 1.

CORDERO, E. A. A. **Avaliação Imunogenética de Pacientes com anemia falciforme**.; Tese (Doutorado) Programa de Pós- Graduação em Medicina: Ciências Médica. Universidade Federal Rio Grande do Sul. Porto Alegre 2009.

DUARTE, W.V. **Análise de Metodologia laboratorial para diagnóstico de Anemia Falciforme**. Dissertação (Monografia) Programa de conclusão de curso de biomedicina.Universidade Católica de Brasília. Brasília 2012.

FERRAZ ,M.H; Murao; Mitiko. **Diagnóstico Laboratorial da doença falciforme em neonato e após o sexto mês de vida**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Rio de Janeiro. Vol 29. N 03. p 218-222. 2007.

GALARÇA ,Leandro L *et al.*; **Anemia falciforme: Alterações Moleculares e Celulares da Hemoglobina S**.; Laboratório de Hematologia e Citologia Clínica na UF Pampa.; edição 124. New Lab. 2014.

GALIZA, Neto G. C.; Pitombeira M. S. **Aspectos moleculares da anemia falciforme**. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Rio de Janeiro 2003.

GUIMÃRAES, Cíthia T. L.; Coelho Gabriela O. **A importância do aconselhamento genético na anemia falciforme**.; Ciência e Saúde Coletiva. Vol 15, p 1734. 2008.

[Http://www.todamateria.com.br/hemoglobina.](http://www.todamateria.com.br/hemoglobina.); acessado no dia 15/12/2014- 23:06 horas.

LISOT, Cristina L. A.; **Triagem de Hemoglobinopatias em Doadores de Sangue em área de Colonização Italiana do Rio Grande do Sul**.; Dissertação( Mestrado) Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas.Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul.;2003.

LORENZI, T. **Manual de Hematologia: propedêutica e clínica**. 4 edição. Rio Janeiro. Guanabara Koogan. 710 p. 2006.

MAFREDINI, Vanusa *et al.* **A fisiopatologia da Anemia Falciforme.**; vol 19, n 02, p 03. 2007.

MESIANO, Carlos A. M.; **Anemia Falciforme Fundamentos e Práticas.**;Dissertação( Monografia) programa de conclusão de curso ciências biológica.; .Centro Universitário de Brasília.Brasília. 2001.

MICHELLE, P O.; **Perfil epidemiológico dos pacientes com anemia falciforme e ocorrência familiar da doença no norte do estado de Minas Gerais.**Dissertação (Mestrado) Pós- Graduação em medicina clínica.Universidade Federal de Minas Gerais .2010.

NAOUM, P.C.; Naoum, F.A. **Doenças das células falciformes.** São Paulo, Sarvier. 2004.

NETO, A.C.; **Perfil Laboratorial de Pacientes de Hemoglobina Anormais Acompanhadas no Serviço de Hematologia do IIPPMG** Dissertação( Mestrado) programa de pós graduação. Universidade Federal do Rio de Janeiro.2008.

PENTEADO, Flora C.L; Leite. A Mauri A. **Padronização do método de Solubilidade de Hemoglobina S em microplaca.** Revista de Ciência Farmacêutica, v. 22. n. 2, p. 239-249, 2001.

Resolução RDC Nº 343 de 13 de dezembro de 2002.Disponível em :<<http://legis.bsv.br/leisref/public/show act.ph>> acessado em 15 de dezembro 2014.

SANTOS,M S.; **Anemia Falciforme: Da doença ao Tratamento.**;Dissertação( Monografia) Programa de Conclusão de curso de Farmácia.Universidade Estadual de Goiás. Anápolis. 2011.

SILVA Rezende M.; **Estudo de Hemoglobinas variantes com mobilidade eletroforética semelhantes a da hemoglobina S em crianças do programa de triagem Neonatal de Minas Gerais.**;Dissertação( Monografia) Programa de Conclusão de curso.Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2012.

SILVA Rodrigo *et al.*; **Estudos Genético Populacional da Doença falciforme a a partir de Doadores de Sangue em Primavera do leste – MT .;** Biodiversidade..vol 11. N 01.p 108. 2002.

SIQUEIRA Bruna *et al.*; **Incidência de Anemia Falciforme, Traço Falcêmico e Perfil Hemoglobinico dos casos diagnosticado na triagem neonatal no estado de Rondônia no ano 2003.**; Saber Científico. Vol 02. N 01. PP 43-53. 2009.

WATANABE A.M, **Prevalência da anemia falciforme no estado do Paraná.** Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

ZAGO, M.A. *et al.*; **Hematologia Fundamentos e prática.**; São Paulo. Atheneu, 2004.

ZANETTE A.M.D; **Gravidez e Contracepção na doença falciforme**. Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia.; vol 29. N 03. PP 309-312, 2007.