

Academia de Ciência e Tecnologia - AC&T

São José do Rio Preto - SP

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE COMO MÉTODO DE TRIAGEM DE DOADORES DE SANGUE

Fábio de França Martins

Orientador: PhD. Paulo César Naoum

Co-orientadora: Esp. Lorena Vieira S. Andrade

Curso de Pós-graduação *Lato sensu* em Hematologia e Banco de Sangue

Prof. PhD Paulo César Naoum

São José do Rio Preto, 2011

Resumo:

As hemoglobinopatias, distúrbios geneticamente determinados da hemoglobina (Hb) humana, estão presentes com frequência elevada em várias partes do mundo, sendo que no Brasil as Hb anormais S e C são as mais prevalentes (CIPOLLOTTI, et al 2006). Desta forma, a triagem de hemoglobinopatias possui grande relevância nos centros hemoterápicos, pois há restrições para transfusão, do uso de concentrados de hemácias, com hemoglobinas anormais. Existem alguns métodos para detecção de hemoglobinas variantes, sendo o teste da solubilidade o mais utilizado devido à praticidade, sensibilidade, especificidade e baixo custo, contudo este é específico para HgS. A Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), é uma opção rápida e sensível além de detectar outras variantes hemoglobínicas, mas possui um alto custo. Em nosso estudo analisamos 746 amostras de doadores de sangue utilizando as metodologias de solubilidade, HPLC e a eletroforese como método confirmatório. Foi detectado a presença de 2,14% (16 amostras) de hemoglobinas anômalas, sendo 1,47% (11 amostras) apresentando HbAS e 0,67% (5 amostras) com HbAC. Em 2010 na Fundação Hemocentro de Brasília 1,76% das amostras de doadores de sangue analisadas apresentaram positivas no teste de solubilidade e confirmada pela eletroforese. Nossos resultados apresentaram concordância com a bibliografia, mas questionamos: “O que fazer perante resultados com presença de HbAC, HbA1C, aumento de HbA₂ e HbF detectados pelo HPLC?” A RDC nº57 (ANVISA) regulamentada pela Portaria nº 1.353 (MS) não indicam qual (is) conduta (s) devemos tomar, quanto as indicações de uso deste hemocomponente e o encaminhamento dos doadores.

Palavras-chave: HPLC, hemoglobinopatias, Fundação Hemocentro de Brasília, imunohematologia.

Abstract

Hemoglobinopathies, genetically determined disorders of hemoglobin (Hb) human, are present with high frequency in various parts of the world, and in Brazil the abnormal Hb S and C are the most prevalent (CIPOLLOTTI, et al 2006). The screening for hemoglobinopathies has great relevance in haemotherapeutic centers because the restrictions for transfusion of packed red blood cells with abnormal hemoglobin. There are some methods for detection of hemoglobin variants and the solubility test is the most widely used due to practicality, sensitivity, specificity and low cost, still having specificity to HbS. The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is faster and more sensitive than other methods, and detect other variants hemoglobin, despite high cost. In our study we analyzed 746 samples of blood donors using the methodologies of solubility, electrophoresis and HPLC as a confirmation method. We detected the presence of 2.14% (16 samples) of abnormal hemoglobins, which are 1.47% (11 samples) presenting HbAS and 0.67% (5 samples) HbAC. 1.76% of donor blood samples analyzed by Fundação Hemocentro de Brasília in 2010 showed positive solubility test, confirmed by electrophoresis. Our results showed agreement with the literature, but we still have a question: "What to do after an outcome with the presence of HbAC, HbA1C, increased HbA2 and HbF detected by HPLC?" The RDC No. 57 (ANVISA) regulated by Ordinance No. 1353 (MS) do not show which way we should take as the indications for the use of donor blood components and routing.

Keywords: HPLC, hemoglobinopathies, Fundação Hemocentro de Brasília, immunohematology.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias são doenças hereditárias que tem como características o comprometimento de genes, localizados no braço curto dos cromossomos 16 e 11, responsáveis respectivamente, pela síntese das cadeias globínicas alfa e beta das moléculas de hemoglobina. As alterações na região controladora de genes podem causar modificações na estrutura da hemoglobina, deficiência parcial ou total na síntese de cadeias globínicas, motivando o surgimento de hemoglobinas anômalas e as talassemias (SILVA, 2001; GALIZA NETO & PITOMBEIRA, 2003).

As hemoglobinopatias correspondem a um grupo diversificado de alterações e são incluídas como as doenças hematológicas que possuem a maior prevalência no mundo, sendo considerado um problema de saúde pública universal, devido ao aumento da frequência e das gravidades de suas complicações (FATTOUM, 2006). O Brasil apresenta uma população com um alto grau de miscigenação, tornando essas doenças como um problema de saúde pública brasileira (RAMALHO, et al. 2003).

Segundo Naoum, a incidência de determinadas hemoglobinopatias podem variar de acordo com a colonização de determinados grupos raciais em cada região. Entre elas, a anemia falciforme, que tem como caracterizada a homozigose da globina “S” compondo a Hemoglobina (HbS), sendo assim considerada uma hemoglobinopatia muito comum, apresentando expressiva distribuição mundial, incluindo o Brasil (NAOUM 2000; GALIZA NETO & PITOMBEIRA, 2003).

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente cinco milhões de pessoas em todo o mundo possuem anemia falciforme, sendo que 70% delas se encontram na África (OMS/WHO, 2006).

As doenças falciformes abrangem um grupo de genótipos distintos caracterizados pela herança genética da hemoglobina S (HbS), compreendendo desde a homozigose da HbS, que define a anemia falciforme, até as co-heranças com outras hemoglobinas variantes e com a B-talassemia (B0 e B+) (NAOUM, 2000; STUART & NAGEL, 2004).

Nos casos de associação de HbS com a HbC o diagnóstico deve ser realizado mediante associação de técnicas de eletroforese alcalina e ácida, que possibilitam a visualização de bandas em diferentes posições, segundo suas respectivas cargas elétricas (NAOUM, et al. 1997). Nos casos em que o padrão eletroforético da anemia

falciforme é semelhante, HbS/ β -tal., HbS/ $\beta\delta$ tal. e HbS/PHHF (Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal), é indispensável o emprego de técnicas mais precisas como a reação em cadeia da polimerase (PCR). Podendo ser útil a análise quantitativa de HbA2 e de HbF. Normalmente a HbA2 encontra-se aumentada, acima de 3,5%, quando existe relação com β^0 tal. e reduzida em casos de Hb S/ $\beta\delta$ (ANVISA, 2002; SCHNOG, et al. 2004).

A heterozigose para hemoglobina S define uma situação relativamente comum, mas clinicamente benigna em que o indivíduo apresenta na eletroforese de hemoglobina (EFHb) as hemoglobinas A e S (indivíduo AS, heterozigoto) (ANVISA, 2002)

O nível de HbS também é variável nas diferentes populações e usualmente está abaixo de 45% (e sempre abaixo de 50%), com valores ainda menores quando há concomitância de alfa talassemia, condição genética também comum nas diferentes populações oriundas da África. Os níveis de Hb F estão geralmente dentro da faixa da normalidade (ANVISA, 2002).

No Brasil, mais de 8.000 pessoas apresentam anemia falciforme, e cerca de 2 milhões de pessoas são portadoras do traço falciforme. Estima-se, a cada ano, o nascimento de 700-1000 novos casos de portadores de doenças falciformes, incluindo as formas interativas com outras anormalidades hereditárias da Hb. Uma vez que esta alteração genética tem origem no continente africano, as diferenças regionais decorrentes do processo de miscigenação e migração da população brasileira, variando entre 1 e 2% na região sul e 6 a 10% entre negros e pardos na região nordeste (ANVISA, 2002).

Considerando-se a relação entre concentração de HbS, polimerização das moléculas de Hb e o comprometimento clínico nas síndromes falciformes mais graves, seria razoável admitir uma correlação entre o nível de Hb S e complicações no indivíduo AS. Entretanto a maioria dessas pessoas não apresenta consequências clínicas adversas, não existindo dados disponíveis para o estabelecimento de relação causal para determinada complicação rara que possa ocorrer. Em linhas gerais, a associação de determinada situação clínica com traço falciforme requer que a frequência dessa complicação seja significativamente maior no fenótipo AS em relação ao AA, ou ainda que num grupo de casos com uma complicação específica, a frequência de heterozigose para HbS seja significativamente maior do que ocorre na

população geral. Ainda assim pode não haver um papel causal daquele fenótipo na gênese da complicação (ANVISA, 2002).

Desde 2004 quando a Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA - RDC 153/04 foi publicada a triagem das hemoglobinopatias tornou-se obrigatória nos Hemocentros e Bancos de Sangue do Brasil, que visava uma melhor qualidade dos hemocomponentes a serem transfundidos. A RDC 57 de dezembro de 2010 e a Portaria do Ministério da Saúde nº 1.353 de junho de 2011 determinam a realização de investigação de Hemoglobina S em todos os doadores, pelo menos na primeira doação, além de proibir a filtração (desleucotização) das bolsas de concentrados de hemácias (CH) com heterozigose do “S” HbAS. Segundo as legislações vigentes todas os CH com HbAS devem conter a informação no rótulo, mas não precisam ser descartados. Mesmo com a obrigatoriedade da triagem pelas legislações essas não indicam qual (is) metodologia (s) deve (em) ser realizada (s) para o diagnóstico laboratorial (RDC 153/ANVISA-2004, RDC 57/ANVISA-2010; PORTARIA 1.353/MS-2011).

Por não apresentar evidências clínicas e possuir parâmetros hematológicos normais como hematócrito e hemoglobina, o portador do traço “S” é considerado um candidato a doação pela triagem clínica de um serviço de hemoterapia. Por não existir a obrigatoriedade de descartar os CH com HbAS a sua distribuição deve ser monitorada, pois é proibida a transfusão destes componentes em pacientes com hemoglobinopatias, recém-nascidos, pacientes com acidose grave e em transfusão intra-uterina (PRUDENCIO, et al. 2000; RAMALHO, et al. 2003).

O estudo laboratorial para detecção de HbAS pode ser realizado por várias metodologias como: teste de falcização com a utilização de metabissulfito de sódio que tem como princípio diminuir a concentração de oxigênio dos eritrócitos, sendo que através da microscopia as hemácias com HbSS ou HbAS apresentam no fim do teste o formato de foice. O método de gel-centrifugação, que possui o mesmo princípio do teste de falcização no qual o agente redutor encontra-se num cartão que retêm os eritrócitos falcizados, ficando na parte superior do microtubo após a centrifugação (OSHIRO, et al. 1999; ELGHETANY & DAVEY, 1999; LUKENS, 1998).

No teste de solubilidade, as hemácias são lisadas e as contendo Hb S quando reduzida pelo ditionito de sódio, por serem insolúvel, formam polímeros de deoxi-Hb

S com esse reagente, turvando a solução, enquanto as que não contêm HbS não há turvação, pois não são lisadas (NAOUM, 1997).

A eletroforese de hemoglobina em fita de acetato de celulose ou em filme de agarose se baseia na velocidade de corrida eletroforética das hemoglobinas carregadas eletricamente permitindo a separação das bandas de migração de hemoglobinas. Como a hemoglobina é uma proteína carregada negativamente, a eletroforese de Hb se baseia nesse princípio. Assim, durante a corrida, as proteínas migram para o pólo positivo. As hemoglobinas anômalas, com defeitos estruturais, causados por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoelétricos resultam na ocorrência de diferentes mobilidades eletroforéticas. Outras técnicas quantitativas têm sido utilizadas, como Eletroforese por Cromatografia Líquida de Baixa Pressão (LPLC), Focalização Isoelétrica (IEF), e Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) (NAOUM, 1997; LUKENS, 1998; ELGHETANY & DAVEY, 1999; OSHIRO, et al. 1999).

Um estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue realizado por um grupo de pesquisadores de Santa Maria (RS) comparou três métodos: eletroforese qualitativa, teste de solubilidade e gel centrifugação. Este trabalho concluiu que a eletroforese de hemoglobina foi considerada a melhor metodologia, por apresentar alta sensibilidade, sendo assim a mais indicada para uso em banco de sangue (SILVA, JEP, GIOVELLI, LL, 2010 ;GIOVELLI, et al. 2011).

Do ponto de vista hematológico, as contagens globais, morfologia e a sobrevivência do eritrócito são normais. Portanto os indivíduos não apresentam anemia ou hemólise. Alguns estudos populacionais e pelo menos um grande estudo controlado não revelaram mortalidade aumentada, nem causas específicas de mortalidade devidas a heterozigose AS. No entanto, esse aspecto é polêmico e a literatura contém numerosos relatos de casos de doenças, condições anormais ou riscos associados ao fenótipo AS, sem muitas vezes ficar clara uma associação causal, devendo as condições clínicas coexistentes ser analisadas com cautela. Além disso, pouco se sabe para cada uma das condições como: infarto esplênico associado à hipóxia em elevadas altitudes, morte súbita, complicações renais, anestesia e cirurgia, na qual o papel de medidas tidas como preventivas (ANVISA, 2002).

METODOLOGIA:

Amostra

No período de 25 de abril a 02 de maio de 2011, foram realizados dois métodos de detecção de HbS, teste de solubilidade e HPLC em 746 doadores de sangue aptos que se apresentaram na Fundação Hemocentro de Brasília - FHB. As amostras que apresentaram positivas para HbS em pelo menos uma das metodologias foram confirmadas pelo método de eletroforese em meio alcalino.

As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa durante o processo de doação, em tubos com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Essas amostras foram utilizadas no laboratório de sorologia da FHB para detecção de HbS.

O presente projeto sob nº 391/11 foi aprovado pelo CEP da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Por estar adequado ética e metodologicamente de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde).

MATERIAIS E MÉTODOS:

As amostras de sangue dos doadores colhidas com EDTA foram submetidas paralelamente aos seguintes testes de triagem para HbS: teste de solubilidade, para a confirmação da pesquisa da HbS, a eletroforese qualitativo em pH alcalino e HPLC através do equipamento VARIANT II TURBO Hemoglobin Testing System marca Bio Rad®.

Para o teste de solubilidade, 200 µl de tampão de fosfato (0,1g de diotônio de sódio para 10 mL de tampão fosfato) foram colocados em cada poço de uma microplaca adicionando-se em seguida 10 µl de concentrado de hemácias. Após homogeneização, 10 µl foram removidos e aplicados em uma placa numerada com papel de filtro. A leitura do teste foi feita a olho nu, um a dois minutos após a aplicação do hemolisado no papel de filtro, sendo que no caso positivo observou-se o centro escuro com um halo mais claro.

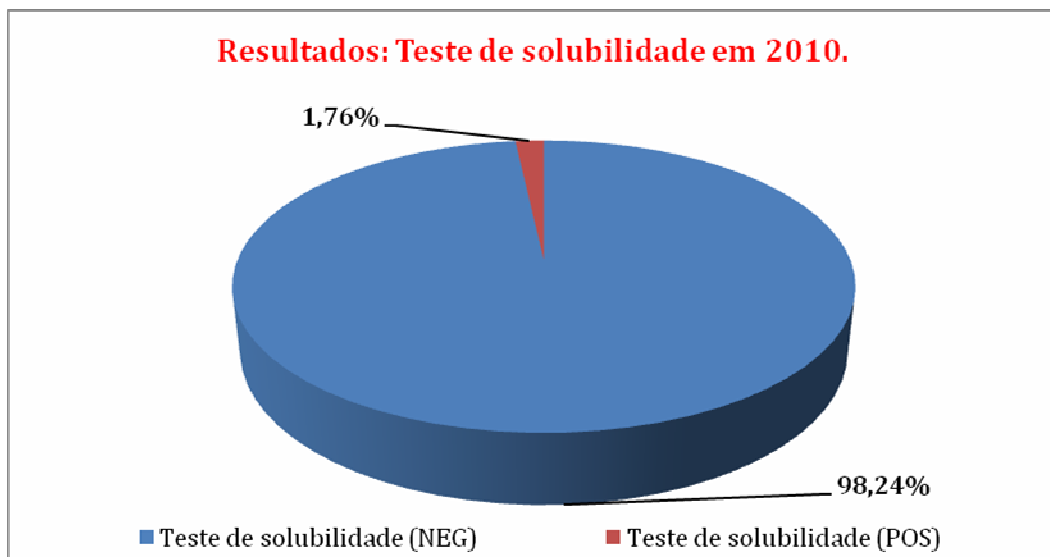
A eletroforese em pH alcalino foi realizada utilizando-se os seguintes materiais: Tampão TRIS, celogel e cuba eletroforética utilizando fonte com uma diferença de potencial de 200 volts e intensidade de 5mA.

Nas amostras que apresentaram teste de solubilidade positiva, 50 µl de hemácia foram colocados em 100 µl de saponina a 1% (hemolisado) retiraria este parêntese. Após 5 minutos o hemolisado foi aplicado no celogel. A eletroforese foi realizada à temperatura ambiente, com uma voltagem de 200 V até a separação das frações. A leitura do teste foi feita a olho nu após a corrida na fita, onde foram observadas as bandas protéicas e comparadas com os controles positivo (HBAS) e negativo (HB normal) , aplicado em todas as corridas eletroforéticas.

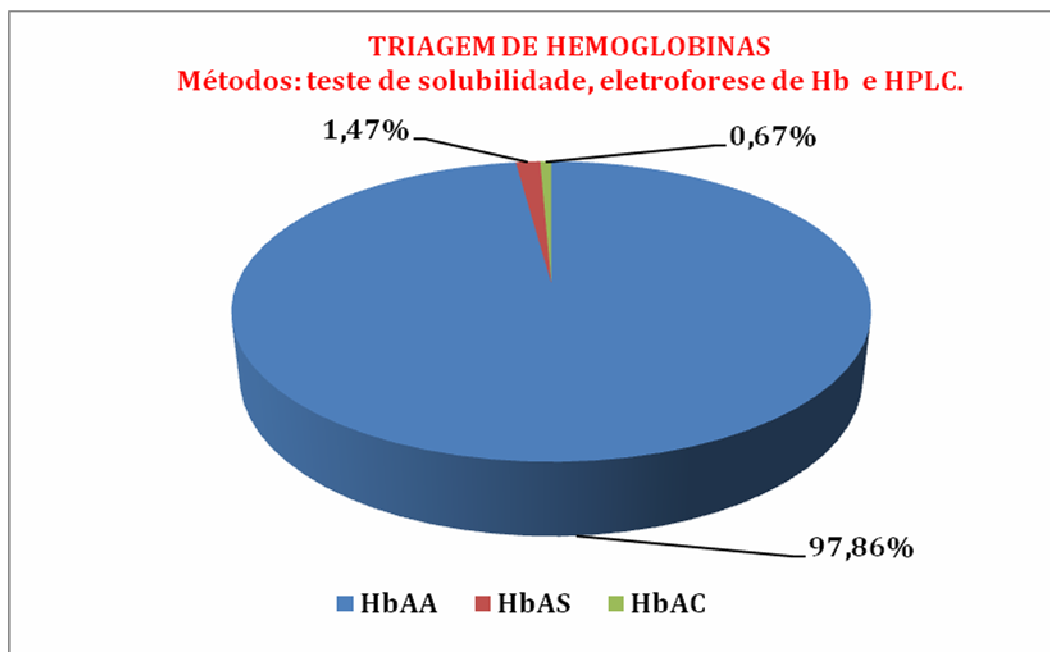
As amostras foram passadas no equipamento VARIANT II TURBO Hemoglobin Testing System marca Bio Rad[®], que possui como método a HPLC utilizando coluna de troca iônica, após a realização do checklist do equipamento. A corrida das amostras sempre acontecia em paralelo com os controles baixo e alto do Kit e controles de qualidade interno, preparados pelo próprio laboratório de imunohematologia de doador (HbAA, HbAS e HbAC). Após a validação da corrida com avaliação dos controles os resultados foram analisados.

RESULTADO:

Em 2010 das 53.153 amostras de doadores de sangue, 1,76% (934 amostras) foram bloqueadas pelo laboratório de imunohematologia da Fundação Hemocentro de Brasília, por apresentar teste de solubilidade positiva. Ao analisarmos 746 amostras de doadores de 2011, foram detectadas 2,14% (16 amostras) de hemoglobinas anômalas, sendo 1,47% (11 amostras) apresentando HbAS e 0,67% (5 amostras) com HbAC.



Fonte: Fundação Hemocentro de Brasília



Fonte: Fundação Hemocentro de Brasília

DISCUSSÃO

A Fundação Hemocentro de Brasília em 2010 obteve **53.153** doações de sangue total, considerados aptos pela triagem clínica e sem intercorrências durante a coleta. Destes **934** foram considerados inaptos pelo laboratório de Imunohematologia por apresentar teste de solubilidade positiva, presença de HbAS. As amostras que apresentaram teste de solubilidade positivo foram submetidas à eletroforese de hemoglobina, como teste confirmatório.

O teste de solubilidade é um teste que tem como características alta especificidade, sensibilidade e baixo custo, mas é uma técnica manual tornando-a passível de erros inerentes a execução analítica.

A RDC nº153 diz: “É obrigatória a investigação de hemoglobina S e de outras hemoglobinas anormais nos doadores de sangue. Os componentes eritrocitários de doadores com pesquisa de hemoglobina S positiva devem conter esta informação no seu rótulo, mas não precisam ser descartados. Esses componentes não devem ser desleucocitados e nem utilizados em pacientes com hemoglobinopatias, em pacientes com acidose grave, em recém-nascidos, ou para a transfusão intra-uterina”. Esta RDC estava em vigor até 16 de dezembro de 2010. A RDC nº 57 no seu Art. 87 e a Portaria do MS 1.353 no seu Art. 73 dizem: “A investigação de hemoglobina S deve ser realizada em todos os doadores de sangue pelo menos na primeira doação”. Entretanto, as legislações vigentes não obrigam a triagem de outras hemoglobinas anômalas com exceção da HbS.

Contudo a evolução de novos métodos com tecnologias mais avançadas, que possibilitam menor probabilidade de erros analíticos, sensibilidade e especificidade bastante satisfatórias e capazes de identificar outras hemoglobinas anômalas, tornou-se a opção para atender a RDC nº 153 que ficou em vigor até dezembro de 2010. A Cromatografia Líquida de Alta Performance por apresentar todas as características descritas acima foi instituída em vários centros hemoterápicos para realização desta triagem, mesmo apresentando custo elevado.

Pesquisas desenvolvidas comparam métodos de triagem de hemoglobinopatias, permitindo uma análise dos métodos, preconizando uma padronização de técnica para a triagem nos doadores de sangue, pois nos serviços hemoterápicos do Brasil são executadas várias técnicas. (GIOVELLI, LL ET AL, 2011).

Em 1970, Ballard e colaboradores compararam o teste de solubilidade e a eletroforese de hemoglobina, observando 99,5% de concordância, sendo que 0,05% das amostras apresentaram resultados falsos negativos pelo teste de solubilidade, que por sinal eram amostras de recém-nascidos.

Matusik e colaboradores em 1971 compararam quatro métodos de detecção da Hb S, eletroforese de hemoglobina, teste de falcização com metabissulfito de sódio e dois teste de solubilidade com tampão fosfato e “Sicklelex reagent”. Eles observaram 100% de concordância. No mesmo ano, Clark comparou o teste de solubilidade com tampão fosfato com o teste de falcização com metabissulfito de sódio e confirmou o resultado com eletroforese de hemoglobina.

Em 1979, Del Guidice e colaboradores relatam compatibilidade total entre os testes de solubilidade e eletroforese de hemoglobinas, com apenas um caso falso-positivo em paciente no teste de solubilidade em amostra de um indivíduo com Policitemia.

Oshiro e colaboradores em 1999 compararam o teste de solubilidade, o de falcização e o de gel-centrifugação mostrando não haver discordância entre os métodos. O estudo realizado por Prudêncio e colaboradores em 2000 apresentou 100% de compatibilidade entre as técnicas de solubilidade e de Gel centrifugação.

Entretanto, neste mesmo ano, o estudo realizado por Surve e colaboradores com 3.246 indivíduos detectou que o teste de solubilidade apresentou sensibilidade total de 93,8%, especificidade de 100%. Este estudo contesta o uso do método da solubilidade para a detecção da Hb S nos serviços de hemoterapia, devido ao grande número de doadores, pois o método por ser de fácil execução e baixo custo é amplamente utilizado como método de triagem de hemoglobinopatias nos Hemocentros e Bancos de Sangue do Brasil (SILVA & RAMALHO, 1997; GIOVELLI, et al. 2011).

Com a publicação da RDC nº 57 e Portaria ministerial nº 1.353 que não exige a obrigatoriedade da identificação de outras hemoglobinas variantes com a exceção da HbS, levantamos a questão da viabilidade econômica, pois o teste de solubilidade em nosso estudo apresentou 100% de concordância para HbAS quando comparado ao HPLC, sendo o teste da mancha é 500 % mais barata em relação ao HPLC.

Nosso estudo apresentou resultados de acordo com as publicações científicas, demonstrando também que o teste de solubilidade possui uma excelente

especificidade e sensibilidade para a triagem dos doadores de sangue, sendo que no Brasil a população candidata a doação encontra-se na faixa etária de 16 a 65 anos, portanto possui viabilidade técnica, científica e econômica.

Mas e os doadores que apresentam outras hemoglobinas anormais? Em nosso estudo dos 746 doadores avaliados, aptos pela triagem clínica, 5 (0,67%) apresentaram HbAC. Melo e colaboradores em 2000, avaliaram 23.981 amostra de doadores de sangue de Minas Gerais, sendo que 820 (3,42%) apresentaram hemoglobinas variantes dos tipos: Hb AS (2,48%), Hb AC (0,73%), beta talassemia menor (0,13%), Hb AD (0,05%) e outros tipos (0,03%). No Rio Grande do Norte, (BEZERRA, TM e ANDRADE SW) estudaram 630 encontrando 15 (2,38%) indivíduos com hemoglobinas anormais, sendo 2,22% HbAS e 0,16% de HbAC. Em São José do Rio Preto, São Paulo, Orlando e colaboradores analisaram no ano de 2000, 262 amostras testadas em doadores de sangue, encontrando 13 (4,96%) de hemoglobinas anormais, dentre os quais 2 (0,76%) com HbAS, 3 (1,14%) com HbAC, 5 (1,90%) com suspeita de alfa talassemia, 1 (0,38%) com suspeita de beta talassemia e 2 (0,76%) com outros tipos de hemoglobinas.

Em 2004, Lisot & Silla estudaram 864 doadores de sangue do Rio Grande do Sul encontrando 71 (11,68%) indivíduos com hemoglobinas alteradas, desses, 1 (0,16%) tinha Hb AC, 4 (0,66%) com possível alfa talassemia por apresentarem padrão eletroforético Hb AH, 6 (0,99%) com Hb AS e 60 (9,87%) que sugeriam beta talassemia por apresentarem HbA2 acima do valor de referência para a técnica utilizada.

Essas alterações hemoglobínicas em doadores potenciais trariam prejuízos a algum tipo de paciente receptor de concentrados de hemácias? Apesar de não apresentarem manifestações clínicas os doadores portadores de HbAC, HbAD, alguns beta e alfa talassêmicos continuariam sendo candidatos a doação? Esses doadores deveriam ser encaminhados para acompanhamento médico após o diagnóstico realizado por um centro hemoterápico, para aconselhamento genético, por exemplo?

Na FHB através da triagem para hemoglobinas, por HPLC, nos meses de maio a agosto encontramos 0,16% dos doadores com HbA1C elevada, portando doadores sem diagnóstico prévio de diabetes, como um centro hemoterápico deverá agir?

Com a introdução da HPLC para triagem de hemoglobinas na hemoterapia brasileira, várias questões foram levantadas quanto ao procedimento a serem tomados

a partir de situações que não estão esclarecidas em nossas legislações.

CONCLUSÃO

A sensibilidade da metodologia da HPLC a torna, mesmo ainda apresentando um custo elevado, um grande avanço para o diagnóstico, sendo útil tanto para o receptor quanto para o doador que com certeza é um cidadão, que simplesmente por exercer o ato altruísta da doação, tem o direito de receber as informações dos seus exames e possíveis encaminhamentos.

Este estudo indica a necessidade da identificação de hemoglobinas anormais nos doadores de sangue da FHB, objetivando a melhor qualidade do produto para o receptor e a orientação em saúde para o doador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. **Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes.** Brasília; 2002.

BALLARD MS, RADEL E, SAKHADEO S, SCHORR JB. **A new diagnostic test for hemoglobin S.** J Pediat. 76:117-19, 1970.

BEZERRA TM, ANDRADE SR. **Investigação sobre a prevalência de hemoglobinas anormais entre doadores de sangue.** Rev Bras Anal Clin; 23:117-8, 1991

Clark KGA. **An improved solubility test for haemoglobin S.** J Clin Pathol. 25(8):730-1, 1972

DEL GUIDICE RE, DOARING RM, TERAN A. **Evaluation of sicklequick a differential solubility test for hemoglobin S.** Am J Med Technol. 45(4):287-9, 1979.

ELGHETANY MT, DAVEY FR. **Doenças eritrocitárias. In: Henry, J.B. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais.** São Paulo: Manole; p. 617-63, 1999.

FATTOUM, S. **Hemoglobinopathies in Tunisia. An updated review of the epidemiologic and molecular data.** Tunis Med. 84(11): 687-96, 2006.

GALIZA NETO, GCD & PITOMBEIRA, MDS. **Aspectos moleculares da anemia falciforme.** J Bras Patol Med Lab. 39(1): 51-56, 2003.

GIOVELLI, LL ET AL. **Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue.** J Bras Patol Med Lab. 47(2):137-40, 2011.

LISOT CLA, SILLA LMR. **Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalencia em área de colonização italiana.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 20(6):1595-1601, 2004.

LUKENS JN. **Hemoglobinopatias S, C, D, E & O e doenças associadas.** In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Wintrobe hematologia clínica. São Paulo: Manole; p. 1161-205, 1998.

MATUSIK JE, POWELL JB, GREGORY DM. **Rapid solubility test for detection of hemoglobin S.** Clin Chem. 17(11):1081-2, 1971.

MELO SMA, ARANTES SCF, BOTELHO FILHO A, ROCHA AFS. **Prevalência de Hemoglobinopatias em Doadores de Sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia – MG.** Rev Bras Hematol Hemoter. 22(51), 2000.

NAOUM, PC; DOMINGOS, CRB. **Doença falciforme no Brasil. Origem, genótipos, haplótipos e distribuição geográfica.** J Bras Patol. 33(3):145-53, 1997.

NAOUM PC. **Hemoglobinopatias e talassemias.** São Paulo: Sarvier; 1997.

NAOUM PC. **Prevalência e controle da hemoglobina S.** Rev Bras Hematol Hemoter. 22(2):142-8, 2000.

OMS/WHO. **Sickle cell anemia. Report by the secretariat provisional agenda (item 11.4).** 2006.

ORLANDO GM, NAOUM PC, SIQUEIRA FAM, BONINI DOMINGOS CR. **Diagnóstico diferencial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas.** Rev Bras Hematol Hemoter 22:111-21, 2000.

OSHIRO M, POLI NETO A, MIGHITA K, WATANABE CI, PALHARINI DLB. **Estudo comparativo entre os testes de solubilidade, falcização e gel-centrifugação para a detecção populacional da hemoglobina S.** Rev Inst Adolfo

Lutz. 58:53-6, 1999.

PORTARIA Nº 1.353. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.353 de 13 de junho de 2011. **Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos.** Brasília (DF); 2011.

PRUDENCIO BCAB, COVAS DT, BONINI-DOMINGOS CR. **Comparação de metodologia utilizada para a detecção de Hemoglobina S (HbS) em doadores de sangue.** Rev Bras Hematol Hemoter. 22:99-109, 2000.

RAMALHO AS, MAGNA LA, PAIVA-E-SILVA RB. **A Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil.** Cad Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2003;19(4):1.195-1.199.

RDC 153. Brasil. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 153 de 14 de junho de 2004. **Aprova as normas técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados e dá outras providências.** Brasília (DF); 2004.

RDC 57. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 57 de 16 de dezembro de 2010. **Determina o Regulamento Sanitário para Serviços que desenvolvem atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue humano e componentes e procedimentos transfusionais.** Brasília (DF); 2011.

SCHNOG, JB, DUIITS, AJ, ET AL. **Sickle cell disease; a general overview.** Neth J Med 62(10): 364-74, 2004.

SILVA, JEP, GIOVELLI, LL. **Traço falciforme: uma visão para os centros de hemoterapia.** Revista Saúde (Santa Maria). 36(1): 2328, 2010.

SILVA, NMD. **Influência da talassemia $\alpha+$ nos índices hematimétricos VCM e HCM e nos percentuais de Hb anômala em portadores da HbC Campinas, SP, Universidade estadual de Campinas: 71.** 2001.

SILVA RBP, RAMALHO AS. **Riscos e benefícios da triagem genética: o traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira.** Cad Saude Publica. 13:285-94, 1997.

STUART, MJ & NAGEL, RL. **Sickle-cell disease.** Lancet 364(9442): 1343-60, 2004.

SURVE RR, MURKHERJEE MB, KATE SL, NAGTILAK SB, WADIAM, TAMANKARAA, ET AL. **Deteccion of the S gene: anevaluation of the solubility test against automated chromatography and haemoglobin electrophoresis.** Br J Biomed Sci. 57: 292-4, 2000.