



**FUNDAÇÃO
UNIVERSIDADE
FEDERAL DE
MATO GROSSO DO SUL**



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
(UFMS) CÂMPUS TRÊS LAGOAS (CPTL)
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU-ENFERMAGEM**

PATRICIA MEDEIROS SILVA GRILO

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS EM RECÉM-NASCIDOS
DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL**

**TRÊS LAGOAS
2021**

PATRICIA MEDEIROS SILVA GRILO

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS EM RECÉM-
NASCIDOS DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Enfermagem do Campus Três Lagoas (CPTL) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Área de concentração: Cuidar em enfermagem, saúde e sociedade.

Linha de Pesquisa: Saúde Coletiva: Saberes, Políticas e Práticas na Enfermagem e Saúde

Orientador: Prof.º Dr. Édís Belini Júnior

**TRÊS LAGOAS
2021**

PATRICIA MEDEIROS SILVA GRILO

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS EM RECÉM-
NASCIDOS DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Enfermagem do Campus Três Lagoas (CPTL) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Édis Belini Júnior

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus Três Lagoas
(Presidente e Orientador)

Profa. Dra Tatiana Carvalho Reis Martins

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus Três Lagoas
(Membro Titular)

Profa. Dra. Maria Lúcia Ivo

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus Campo Grande
(Membro Titular)

Prof. Dr. Lucas Gazarini

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus Três Lagoas
(Membro Suplente)

Profa. Dra. Lidiane de Souza Torres

Universidade Yeshiva, Colégio de Medicina Albert Einstein, Nova Iorque, EUA.
(Membro Suplente)

Dedico este trabalho à minha amada e respeitosa família.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Jeová Deus por me permitir a vida, me amparar e sempre ouvir as minhas orações.

Aos meus pais José de Oliveira Silva (*in memorian*) e Damiana de Fátima Medeiros Silva, meus exemplos de vida, amor, honestidade e os meus maiores incentivadores.

Ao meu esposo Milson Grilo, pela companhia, paciência, cumplicidade, ajuda e incentivo.

Aos meus colegas e amigos de turma pelo incentivo, companheirismo e troca de experiências.

A equipe do APAE/IPED, pela contribuição no compartilhamento dos dados para esse trabalho.

Aos professores do PPG/UFMS pelos ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL pela parceria, artigos e pelos momentos de trocas e apontamentos neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Lucas Gazarini e a Dra. Tatiana Carvalho Reis Martins pela colaboração e apontamentos valiosos no exame de qualificação.

Aos membros da banca avaliadora, Profa. Dra. Tatiana Carvalho Reis Martins, a Profa. Dra. Maria Lúcia Ivo, a Profa. Dra. Lidiane de Souza Torres e ao Prof. Dr. Lucas Gazarini que gentilmente aceitaram avaliar o meu trabalho e pelas contribuições oferecidas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Édis Belini Júnior, pelas valiosas e sábias contribuições para o desenvolvimento deste trabalho, pela confiança, paciência, compreensão, incentivo e parceria. Agradeço por compartilhar não só sabedoria profissional, mas também seus conselhos. A você meu carinho, admiração como pessoa e pesquisador maravilhoso que é. Minha eterna gratidão!

RESUMO

As hemoglobinopatias são consideradas as doenças genéticas mais comuns no mundo e o diagnóstico precoce é realizado por meio da Triagem Neonatal Biológica ou Teste do Pezinho. Estudos de frequências das hemoglobinas anormais permitem avaliar o comportamento dos genes alterados em uma determinada população e traçar estratégias de gestão em saúde. O objetivo do estudo foi avaliar a incidência do perfil das hemoglobinopatias de recém-nascidos do estado de Mato Grosso do Sul triados pela Associação de Pais e Amigos Excepcionais e o Instituto de Pesquisas Ensino e Diagnóstico, centro responsável pela Triagem Neonatal Biológica do estado. Estudo observacional, transversal, descritivo e quantitativo. foi realizado durante 16 meses entre abril de 2019 e julho de 2020 e avaliou-se todos os recém-nascidos com hemoglobinas anormais. Análises eletroforéticas, cromatográficas e moleculares foram utilizadas para o rastreamento e conclusão de diagnóstico com apoio do Laboratório de Genética da Universidade Federal de Três Lagoas. No período estudado, nasceram 56.998 crianças no estado do MS e 47.879 foram triadas (cobertura de 84%). Dos recém-nascidos triados, 1254 (2,6%), apresentaram perfil hemoglobínico anormal resultando na incidência de 1:45. Dentre as Hb variantes em heterozigose, foram encontrados os perfis FAS (73,2%), FAC (22,4%), FAD-Los Angeles (0,4%), FAE (0,2%), FAB₂ (0,2%), FA/Korle Bu (0,1%), FA/Osu-Christiansborg (0,1%), FA/Etobicoke (0,1%) e FA/Hasharon (0,1%). A alfa talassemia foi encontrada em associação com os perfis FAS e FAC com a incidência de 1:2.478 nascidos vivos e a beta talassemia nos casos de C/Beta+ talassemia com 1:14.249 nascidos vivos. Na macrorregião de saúde de Três Lagoas a incidência de hemoglobinas anormais foi de 33 casos/1000 nascidos vivos, na macrorregião de Corumbá com 28 casos/1000 nascidos vivos, Campo Grande com 20 casos/1000 nascidos vivos e Dourados com 19,7/1000 nascidos vivos triados. Sobre a incidência da Hb S, o traço falciforme foi de 1:62 nascidos vivos e a Doença Falciforme 1:4.749 nascidos vivos. Sobre a média de dias entre a Data de Nascimento (DN) e a Data de Coleta (DC), verificou-se que 57% das amostras foram coletadas entre o 3º e 5º de vida e 6,6% das amostras coletadas fora do período preconizado pelo PNTN. Entre a DC e a Data de análise, a média foi de 12,2 dias. Por fim, a média de dias entre a data de nascimento até a data de análise foi de 21,6 dias (mínimo 4 e máximo 451 dias) e não obteve diferença entre as macrorregiões de saúde. Os resultados obtidos neste estudo asseguram a construção de dados epidemiológicos das hemoglobinopatias no Mato Grosso do Sul permitindo a avaliação da distribuição das hemoglobinas anormais, o diagnóstico de heterozigotos e possibilidade de aconselhamento genético. Recomenda-se que, na formação do enfermeiro, sejam enfatizadas as doenças detectadas pela Triagem Neonatal Biológica, especificamente hemoglobinopatias, pois são os profissionais que estão presentes desde o pré-natal até o nascimento.

Palavras chaves: Diagnóstico precoce, Talassemia, Doença Falciforme, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are considered the most common genetic diseases in the world and early diagnosis is made through the Biological Neonatal Sorting or Foot Test. Studies of abnormal hemoglobin frequencies allow evaluating the behavior of altered genes in each population and defining health management strategies. The aim of this study was to evaluate the incidence of the hemoglobinopathies in newborns from the Mato Grosso do Sul state screened by The Association of Parents and Friends of the Exceptional and the Institute of Research Teaching and Diagnosis, center responsible for biological neonatal sorting of the state. Observational, cross-sectional, descriptive and quantitative study was performed for 16 months between April 2019 and July 2020 and all newborns with abnormal hemoglobins were worth it. Electrophoretic, chromatographic and molecular analyses were used for sorting and completion of diagnosis with the support of the Genetics Laboratory of the Federal University of Tres Lagoas. In the period studied, 56,998 children were born in the state of MS and 47,879 were screened (coverage of 84%). Of the newborns screened, 1,254 (2.6%) had an abnormal hemoglobin profile resulting in an incidence of 1 in 45 alive neonates. Among the Hb variants in heterozygosis were found the profiles FAS (73.2%), FAC (22.4%), FAD-Los Angeles (0.4%), FAE (0.2%), FAB₂ (0.2%), FA/Korle Bu (0.1%), FA/Osu-Christiansborg (0.1%), FA/Etobicoke (0.1%), and FA/Hasharon (0.1%). Alpha thalassemia was found in association with the FAS and FAC profiles with the incidence of 1:2.478 neonates and beta thalassemia in C/Beta+ thalassemia cases with 1:14,249 neonates. In the Tres Lagoas health macro-region, the incidence of abnormal hemoglobins was 33 cases/1000 neonates, in the Corumba with 28 cases/1000 neonates, Campo Grande with 20 cases/1000 neonates and Dourados with 19.7/1000 neonates. On the incidence of Hb S, the sickle cell trait was 1:62 neonates and Sickle Cell Disease 1:4.749 neonates. Regarding the average of days between the Birth Date (DN) and the Collection Date (DC), it was found that 57% of the samples were collected between the 3rd and 5th of life and 6.6% of the collections outside the period recommended by the PNTN. Between DC and Analysis Date, the average was 12.2 days. Finally, the average of days between the date of birth and the date of analysis was 21.6 days (minimum 4 and maximum 451 days) and no difference was obtained between the health macro-regions. The results obtained in this study ensure the construction of epidemiological data of hemoglobinopathies in Mato Grosso do Sul allowing the evaluation of the distribution of abnormal hemoglobins, the diagnosis of heterozygotes and the possibility of genetic counseling. It is recommended that, in the education of nurses, the diseases detected by biological neonatal sorting, specifically hemoglobinopathies, be emphasized, because it is the professionals who are present from prenatal care to birth.

Keywords: Early diagnosis, Thalassemia, Sickle Cell Disease, High Efficiency Liquid Chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Concentrações de Hb de acordo com as diferentes fases do desenvolvimento humano15

FIGURAS

Figura 1 - Percentual de cobertura do PNTN no Brasil de 2004 – 2017 23

Figura 2 - Mapa temático das regiões de saúde de Mato Grosso do Sul..... 29

Figura 3 - Fluxograma de procedimento metodológico da avaliação das hemoglobinas anormais no estado de Mato Grosso do Sul. 30

TABELAS

Tabela 1 - Macrorregiões de saúde e municípios do estado de Mato Grosso do Sul que apresentaram Hb variantes e suas interações, segundo dados do APAE/IPED.....	28
Tabela 2 - Nascidos vivos por mês de nascimento segundo as macrorregiões de saúde do estado de Mato Grosso do Sul.	35
Tabela 3 - Perfil das hemoglobinas anormais identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, 2019 – 2020.....	36
Tabela 4 - Frequência e distribuição das hemoglobinas variantes e suas interações, por recém-nascidos, identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos 10 municípios que mais apresentaram casos, 2019 – 2020. ..	38
Tabela 5 - Frequência e distribuição das talassemias e interações com hemoglobinas variantes, por recém-nascidos identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, por município e macrorregião de saúde, 2019 – 2020.	39
Tabela 6 - Incidência por NV dos perfis hemoglobínicos mais detectados, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul por macrorregião, 2019 – 2020.....	40
Tabela 7 - Data de Coleta (DC) das amostras biológicas para a realização do Teste do Pezinho (TP) segundo a idade em dias no momento da coleta e ocorrência de casos de hemoglobinopatias detectadas pela triagem neonatal no estado de Mato Grosso do Sul, 2019 – 2020.	41
Tabela 8 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Três Lagoas, 2019 – 2020.	42
Tabela 9 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Dourados, 2019 – 2020..	44
Tabela 10 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Campo Grande, 2019 – 2020.	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF - Anemia Falciforme

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CEP/UFMS - Comitê de ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

CGSH - Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados

CREBIO - Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica

DF - Doença Falciforme

DAET - Departamento de Atenção Especializada e Temática

DNA - Ácido desoxirribonucléico

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético

Hb - hemoglobina

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPED/APAE - Instituto de Pesquisas Ensino e Diagnósticos da Associação de Pais e Amigos Excepcionais

MS - Mato Grosso do Sul

MT - Mato Grosso

NaCl - Cloreto de sódio

NIH - Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos

NV - Nascidos Vivos

Nº - número

PCR-RFLP - Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (*Restriction fragment length polymorphism*) - Reação em Cadeia da Polimerase

PCR-AE - Reação em Cadeia da Polimerase- Alelo Específico (*Alelle – specific*)

pH - Potencial Hidrogeniônico

PHHF - Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal PHHF

PNTN - Programa Nacional de Triagem Neonatal

RN - Recém - Nascidos

SAS - Secretaria de Assistência à Saúde

SES/MS - Secretaria do Estado da Saúde de Mato Grosso do Sul

SINASC - Sistema de Informação de Nascidos Vivos

SPSS - Statistical Pacckage for the Social Sciences

SRTN - Serviço de Referência em Triagem Neonatal

SUS - Sistema Único de Saúde

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TP - Teste do Pezinho

TN - Triagem Neonatal

UBS - Unidade Básica de Saúde

UFMS/CPTL - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul no Câmpus de Três Lagoas

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1.1 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
1.1.1 Hemoglobinas Humanas	15
1.1.2 Hemoglobinopatias	16
1.1.3 Epidemiologia das hemoglobinopatias	20
1.1.4 Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN).....	22
1.1.5 Conhecimento do enfermeiro sobre às hemoglobinopatias	24
OBJETIVOS	26
Objetivo geral	26
Objetivos específicos	26
1.1 Tipo de Estudo	27
Estudo observacional, transversal, descritivo e quantitativo.	27
1.1.2 Casuística	27
1.1.3 Locais	29
1.1.4 Critérios de Inclusão	29
1.1.5 Coleta de Dados	30
1.1.6 Metodologia para o diagnóstico de hemoglobinopatias.....	30
1.1.8 Plano de Análises dos dados	33
Aspectos Éticos.....	33
RESULTADOS	35
DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE	67
Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE	67
ANEXO.....	69
Anexo 1 - Parecer Consubstanciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP	69

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias são consideradas as doenças genéticas mais comuns no mundo, atingem cerca de 71% dos países caracterizando 7% da população mundial (ECHEVERRY- CORAL *et al.*, 2016). As alterações de hemoglobinas que acarretam nas doenças e/ou no traço podem ser detectadas no período neonatal e na infância pela Triagem Neonatal Biológica (TNB) (ROSENFELD *et al.*, 2019).

O diagnóstico precoce das hemoglobinopatias é fundamental na primeira semana de vida, o que garante o tratamento e o acompanhamento contínuo para os casos sintomáticos. O diagnóstico é realizado nos centros credenciados no Sistema Único de Saúde (SUS), sendo regulamentado pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) que, por meio da TNB sanguínea ou o Teste do Pezinho (TP) como é conhecido, identifica as crianças com hemoglobinopatias (BRASIL, 2016; LACERDA *et al.*, 2017; MARQUI, 2016; ROSENFELD *et al.*, 2019; SALES *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015;).

A TNB para hemoglobinopatias proporciona analisar as informações e gerar indicadores de saúde que poderão servir de embasamento para ações preventivas e assistenciais às pessoas bem como aconselhamento genético para as famílias (BALLISTA, 2017).

A implantação do PNTN nos estados brasileiros é configurada e ordenada em fases. O estado habilitado deve disponibilizar ao menos um serviço de referência, e o mesmo deve comprometer-se em relação à coleta, cobertura, serviço de referência, acompanhamento e tratamento. Contudo, apesar dos avanços do PNTN, sua cobertura não é de 100% em todos os estados brasileiros que tem como causa principal a heterogeneidade na distribuição da cobertura do PNTN e a desigualdade social em acesso ao teste (ARAÚJO, 2015; TRINDADE *et al.*, 2019; SOUZA).

No estado de Mato Grosso do Sul – MS, o Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da Associação de Pais e Amigos Excepcionais (IPED/APAE), é referência na TNB e recebe as amostras de sangue de 79 municípios do estado, garantindo assim a triagem, diagnóstico, tratamento e acompanhamento gratuito no ambulatório do serviço através de uma equipe multiprofissional.

A distribuição geográfica tem sido utilizada para estudar doenças em análises epidemiológicas e conhecer a incidência de pessoas saudáveis do gene que causa a condição de doenças genéticas. Tal conhecimento é extremamente necessário, uma vez que poderá proporcionar a possibilidade de intervenções, ações de saúde e orientação genética às famílias (LEITE *et al.*, 2020; ROSENFELD *et al.*, 2019).

A pesquisa justifica-se pelos dados epidemiológicos referentes às hemoglobinopatias no país carecem de refino de diagnósticos, principalmente, com metodologias mais sensíveis, para que sejam atribuídas frequências exatas dos genes anormais responsáveis pelas hemoglobinopatias. Os dados demonstrados pelos diferentes centros, credenciados pelo Ministério da Saúde para a TNB, em sua maioria, disponibilizam somente os casos mais comuns de hemoglobinopatias como as Hb S, Hb C e beta talassemia maior, mas não relatam as suas interações e nem outras hemoglobinopatias novas e raras no Brasil que podem gerar fenótipos clinicamente graves e que não entram na estatística das Hb anormais. Diante dos dados epidemiológicos, os gestores de saúde podem traçar estratégias de políticas públicas para atender as demandas da população.

Assim, com o presente estudo pretende-se responder a seguinte questão: qual é o perfil das hemoglobinas (Hb) anormais triadas pelo PNTN em recém-nascidos (RN) do estado de Mato Grosso do Sul (MS), de abril/2019 a julho/2020, de acordo com a frequência e distribuição por cidade e região.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Hemoglobinas Humanas

A Hb é uma proteína tetramérica, formada por dois pares de cadeias globínicas do tipo alfa e não alfa, ou do tipo beta, cada uma associada a um grupo heme (anel tetrapirrólico com um átomo de ferro, responsável pela ligação ao oxigênio), o que permite a ligação do oxigênio em células sanguíneas (SCHECHTER, 2008; NAOUM; NAOUM, 2004; FERREIRA; BACH, 2018).

As Hb humanas são um grupo de moléculas com funcionalidade similares, com função de transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos periféricos, facilitando seu acesso às células do organismo, e exerce também funções importantes como transportar o dióxido de carbono e regular o equilíbrio ácido-base (SCHECHTER, 2008; CHIAPPE, 2017; ROSENFELD *et al.*, 2019).

No processo da ontogênese ocorrem alterações fisiológicas que são acompanhadas por expressões reguladas de genes das globinas em diferentes fases: fase embrionária, fetal e pós nascimento, o que permite a formação de diferentes tipos de Hb. Genes de globinas são expressos para que a hemoglobina predominante esteja presente. Essa expressão favorece um sentido lógico que relaciona o desenvolvimento morfológico do indivíduo com a síntese específica de globinas nas fases já citadas (COSTA *et al.*, 2002). Estas fases, as Hb de cada período e as concentrações esperadas, estão apresentadas no quadro 1.

Quadro 1 – Concentrações de Hb de acordo com as diferentes fases do desenvolvimento humano.

Período	Hemoglobina	Concentração
Embrionário	Gower - 1	20 - 40%
	Portland	5 - 20%
	Gower - 2	10 - 20%
Fetal	Fetal	90 - 100%
	A	5 - 10%
	A ₂	<1
Pós nascimento (acima de seis meses de idade)	A	96 – 98%
	A ₂	2 – 4%
	Fetal	0 – 1%

Fonte: NAOUM, 2014.

A Hb Gower-1 é produzida na fase embrionária e prevalece nas quatro primeiras semanas de gestação. A Hb Portland e Hb Gower-2, são as Hb presentes até a 12ª semana do desenvolvimento embrionário, essas três Hb embrionárias são essenciais para o desenvolvimento funcional do embrião. Ao passar para a fase fetal outra Hb é sintetizada, a Hb Fetal (Hb F) onde ocorre a substituição gradativa das Hb embrionárias. A Hb F possui maior afinidade com o oxigênio e se eleva progressivamente até o nascimento. A partir da 10ª semana ocorre a síntese da Hb A que permanece até o nascimento, e a Hb A₂ que é sintetizada a partir da 25ª semana em concentrações reduzidas até o nascimento (NAOUM, 2014).

1.1.2 Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias são definidas como afecções genéticas e hereditárias caracterizadas por alterações nos genes da hemoglobina, ou seja, um grupo de doenças autossômicas, maioria recessiva que compreendem as Hb variantes, Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal (PHHF), e talassemias (NAOUM; BONINI DOMINGOS, 2007; ERRAMOUSPE; EBERLE, 2017; NUNES *et al.*, 2017; ROSENFELD *et al.*, 2019; SONATI; COSTA, 2008).

As Hb variantes são resultantes de alterações estruturais da hemoglobina que formam moléculas bioquimicamente diferentes das hemoglobinas normais (BONINI-DOMINGOS, 2004). Em sua maioria, não são associadas a manifestações clínicas e

alterações hematológicas, e as variantes estruturais mais frequentes são Hb S, Hb C, Hb D e Hb E (CARDOSO *et al.*, 2017; CHIAPPE, 2017; SOARES *et al.*, 2017; SOLÍS-SOLÍS, 2019).

As hemoglobinopatias representam mais de 1800 Hb anormais caracterizadas molecularmente. A maioria delas não altera significativamente as funções das hemoglobinas ao ponto de gerar quadros clínicos complicadores. Por outro lado, há alterações com efeitos clínicos diversos que dependem do tipo de herança e também das interações genéticas ou ambientais, com consequências fenotípicas moderadas à letais (BELINI-JUNIOR *et al.*, 2015).

A Hb S é das variantes com maior frequência em toda a América e no Brasil, sua distribuição é heterogênea e depende da composição negroide ou caucasóide da população, para tanto, a prevalência de heterozigotos para a Hb S é maior nas regiões em que há a predominância da população negroide, nas regiões Norte e Nordeste (6% a 10%) e nas regiões Sul e Sudeste é menor (2% a 3%) (CANÇADO; JESUS, 2007; FREITAS *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2015; TORRES *et al.*, 2015).

A Hb S se origina de mutação pontual, resultando na substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia de β -globina. Em condição de hipóxia, ocorre polimerização da hemoglobina e o resultado é a deformação dos eritrócitos em forma de foice e, conseqüentemente, vaso-oclusão e insuficiência de oxigênio entregue aos tecidos (ARAÚJO, 2007). A Anemia Falciforme (AF) é a forma mais prevalente entre as doenças falciformes e a que apresenta maior gravidade clínica e hematológica. Caracteriza-se por complicações que podem afetar quase todos os órgãos e sistemas do organismo, causando significativas complicações clínicas e respiratórias, danos aos órgãos e dor. (BRASIL, 2013; FREITAS *et al.*, 2018; SANKARAN; ORKIN, 2013).

As pessoas com AF, distinguida pela forma homozigótica (Hb SS), recebem um gene da Hb anormal S do pai e outro da mãe. Em outros casos quando apenas um dos pais possui o gene da Hb S, o indivíduo recebe um gene da Hb normal e outro da Hb anormal S, portanto são pessoas com traço falciforme (HbAS). O traço falciforme não é doença, portanto não necessita de tratamento (BRASIL, 2013; CARDOSO *et al.*, 2017; RAMOS *et al.*, 2015).

As hemoglobinopatias S e C são originários do continente africano, e na população brasileira são as Hb variantes com maior frequência (BONINI-DOMINGOS, 2004). Um exemplo é a África Equatorial, onde 40% da população possui o gene da Hb S e esta ocorrência fenotípica nas Américas é decorrente de processos imigratórios que incluem migração forçada e escravidão (DAUTH et al, 2002; DI NUZZO; FONSECA, 2004; SILVA; YAMAGUCHI, 2007).

Torna-se importante ressaltar que o problema da Hb S é extremamente dinâmico já que vários fatores, como a imigração; a diminuição da taxa de casamentos consanguíneos, a dissolução das comunidades rurais e dos isolados, em decorrência do processo de urbanização, o aumento da miscigenação, pelas facilidades de locomoção e comunicação, propiciaram maior contato entre pessoas de origem diversas (CANÇADO; JESUS, 2007; NAOUM, 2000).

A Doença Falciforme (DF) é um conjunto de alterações genéticas que engloba um grupo de anemias hemolíticas hereditárias que tem em comum a presença da Hb S. Em homozigose (SS), evidencia a AF uma condição clínica grave, pode ocorrer interações como por exemplo S/Beta talassemia e associações com outras Hb variantes que formam os duplos heterozigotos, por exemplo, Hb SC (DI NUZZO; FONSECA, 2004; SOARES *et al.*, 2017). Os sinais e sintomas que as pessoas com a DF apresentam incluem anemia hemolítica, crises vaso-oclusivas, infecções, síndrome torácica aguda, sequestro esplênico, acidente vascular cerebral, priapismo e úlceras de pernas (ARDUÍNI; RODRIGUES; MARQUI, 2017; POMPEO *et al.*, 2020).

A proporção de nascidos vivos com DF varia nos estados brasileiros, porém é mais frequente onde a constituição da população é majoritariamente formada por afrodescendentes. O estado da Bahia tem a maior população negra do país, e como esperado é o estado que apresenta maior prevalência da DF (RAMOS *et al.*, 2015; SILVA-PINTO *et al.*, 2019;).

A atenção padronizada às pessoas com DF contempla desde o diagnóstico precoce até o transplante de medula óssea. Após o diagnóstico no PNTN, a criança afetada recebe os cuidados básicos em uma Unidade Básica de Saúde (UBS), como a profilaxia com penicilina no primeiro mês de vida onde é encaminhada ao Serviço de Atendimento Especializado regional com atendimento a outras necessidades de saúde, como uso de

hidroxiureia, realização do doppler transcraniano e outros procedimentos com maior complexidade (SILVA-PINTO *et al.*, 2019).

As talassemias fazem parte de um grupo de doenças hematológicas que resultam em anemia de grau variável, caracterizadas pela redução ou ausência de síntese de uma ou mais cadeias da globina (BONINI-DOMINGOS, 2006; OLIVEIRA; MENDIBURU). A hemoglobinizacão deficiente dos eritrócitos resulta em hipocromia e microcitose, anormalidades características deste grupo de doenças. As talassemias são classificadas em: alfa, beta, delta, delta-beta e gama-delta-beta, conforme o(s) tipo(s) de cadeia onde a produçãõ está reduzida (CHIAPPE, 2017).

As formas mais frequentes das talassemias são as do tipo alfa e beta. As formas sintomáticas se apresentam como anemia hemolítica intensa e na infância, na maioria das vezes, são fatais (ROSENFELD *et al.*, 2019).

Embora as síndromes talassêmicas predominem na bacia do Mediterrâneo, Sudeste Asiático e África, também podem ser encontradas em diferentes grupos populacionais, na Argentina por exemplo, são as formas mais frequentes de hemoglobinopatias, o que é explicado pela imigração constante de povos oriundos de países da bacia do Mediterrâneo (ERRAMOUSPE; EBERLE, 2017; BRASIL, 2016).

No Brasil, devido a miscigenaçãõ, a talassemia alfa e beta tem alta incidência e são as mais conhecidas devido a frequência e manifestações clínicas importantes que os portadores apresentam. As mutações genéticas para talassemia beta chegaram ao Brasil por meio da imigração de povos oriundos da região Mediterrânea, incluindo italianos, espanhóis e portugueses, e são encontradas em alta frequência na população da região Sudeste do Brasil. Já a talassemia alfa é encontrada com alta frequência na região Nordeste e afeta principalmente descendentes de asiáticos e alguns grupos africanos (BONINI-DOMINGOS, 2004; CALVO-GONZALES, 2017).

O tratamento da talassemia pode variar de acordo com a gravidade, em casos mais leves o indivíduo pode não precisar de tratamento, em casos mais graves pode ser necessário transfusão de sangue e em alguns casos é necessário o uso de quelantes de ferro para evitar hemocromatose, pois com o excesso de ferro em órgãos como o fígado, coração, baço, rins, dentre outros ocasiona lesãõ (BRASIL, 2016).

Alguns fatores genéticos podem impedir que a Hb F, seja expressa e não ocorra a substituição pela a Hb A, o que acarreta a síntese contínua dessa Hb na vida adulta, isso ocorre na PHHF que é uma condição clinicamente benigna e um modulador de gravidade em outras hemoglobinopatias. A Hb F aumentada no adulto pode estar presente também nas talassemias beta (MOUSINHO-RIBEIRO *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2002; ROSENFELD *et al.*, 2019).

Para Steinberg *et al* (2003), na talassemia menor ou traço talassêmico, o indivíduo não apresenta alterações significativas nos valores da hemoglobina e geralmente os indivíduos são assintomáticos.

Destaca-se como um problema de saúde pública, as doenças falciformes e as talassemias em virtude da prevalência e por terem significativa importância epidemiológica em relação a morbidade e mortalidade. Estima-se que no Brasil mais de sete milhões de indivíduos possuam o traço falciforme e 25.000 a 30.000 apresentam a AF (ANVISA, 2002; CANÇADO; JESUS, 2007).

1.1.3 Epidemiologia das hemoglobinopatias

O risco estimado para os casais no mundo gerarem crianças com alguma hemoglobinopatia é de 1,1% e 2,7 por 1000 nascidos são afetados. No mundo inteiro, as crianças que apresentam essas doenças contribuem com 3,4% na mortalidade com menos de 5 anos de idade e na África esse número chega a 6,4% (WHO, 2008).

Na Colômbia, devido a presença da população afrodescendente, a prevalência geral de RN com hemoglobinopatias foi de 1,3%, o que está de acordo com dados encontrados em outros países que existem programas globais de rastreamento para hemoglobinopatias (ECHEVERRY-CORAL *et al.*, 2016).

No Uruguai, os resultados apresentados em um estudo piloto da pesquisa de hemoglobinopatias neonatais permitiram estabelecer dados sobre a incidência de hemoglobinopatias em RN. O país segue a tendência esperada, uma vez que as variantes mais frequentes no mundo são Hb S e Hb C, sendo a incidência de RN portadores de alguma hemoglobina variante de 1: 180 (AUDICIO *et al.*, 2017).

No estado do Piauí, estudos demonstram alta incidência da variante S com destaque para a AF, com 67 casos (0,1% do total de amostras analisadas). Analisando os

perfis hemoglobínicos anormais, o de maior ocorrência foi o traço falciforme (FAS) com 4,1% do total de amostras, seguido do traço de Hb C (FAC), presente em 0,9% (REIS *et al.*, 2018; SOARES, 2015).

Das regiões brasileiras, o Sul e Norte apresentam menor taxa de mortalidade para a DF, 0,5 e 0,19 respectivamente. A região Centro-Oeste apresenta maior taxa, com concentração alta no estado de Goiás, que foi semelhante ao da região Nordeste, sendo reportado no estado da Bahia 0,48 mortes por 100.000 habitantes de pessoas com DF (BRASIL, 2016; POMPEO *et al.*, 2020).

A prevalência alta da DF nos estados da Bahia, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais se dá pelo fenômeno migratório forçado de escravos que, no período colonial, vieram da África para trabalhar nessas regiões. No estado da Bahia há uma criança com DF para cada 650 nascimentos, o Rio de Janeiro 1:1200, Pernambuco, Maranhão e Minas Gerais com 1:1400 (ARDUÍNI, RODRIGUES, MARQUI, 2017; LEITE *et al.*, 2020; SILVA-PINTO *et al.*, 2019).

Estudo realizado por Nogueira *et al.* (2017) relatou o primeiro caso raro de uma associação de variante de Hb no estado da Bahia, o heterozigoto composto Hb SD-Punjab ou SD-Los Angeles, que também é muito comum em países como Itália, Bélgica, Turquia e Áustria. Os pacientes que apresentam essa associação podem apresentar sintomas semelhantes aos homozigotos SS, como observado em outras coortes brasileiras (FIGUEIREDO, 2016; REZENDE *et al.*, 2018; TORRES *et al.*, 2016).

Em Minas Gerais, especificamente na região do Triângulo Mineiro, houve predomínio da alfa talassemia com 10,46% casos, e a frequência de Hb S 5,87%, fato explicado pela influência grande da etnia afrodescendente na população dessa região. Além disso, 0,9% dos RN eram heterozigotos para Hb C, onde apenas 7,5% das mães não relataram ascendência negra nas duas gerações anteriores (CARLOS *et al.*, 2015).

Entre as hemoglobinas alteradas no estado do Rio Grande do Sul, Kopacek *et al.* (2015) relataram que além da HbS, C e D, foram identificados heterozigotos para variantes hemoglobínicas raras em 439 RNs. Os efeitos clínicos na maioria dessas hemoglobinas variantes não são significativos, mas podem acarretar patologias. O estado encontra-se na fase IV da TNB e o PNTN tem apresentado avanços ao longo dos 14 anos de implantação no estado (CARDOSO *et al.*, 2017).

Estudo realizado por Ballista *et al.* (2017) no estado do MS apontou que a variante S em diferentes associações genóticas foi a mais frequente e verificou o aumento no número de casos (1,86%) quando comparado a estudo anterior, entre 2006 a 2010 (1,67%).

1.1.4 Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN)

Os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos (NIH) recomendaram, em 1987, a TN universal para hemoglobinopatias, independente de origem étnica. Em consideração ao impacto negativo para a saúde pública devido a essas alterações de Hb, alguns países possuem programas nacionais de TN, por exemplo, Brasil, Cuba, Costa Rica, Espanha, Itália e 43 estados dos Estados Unidos sendo que dentre os países citados, o Brasil e a Costa Rica realizam a triagem obrigatória em neonatos (ECHEVERRY-CORAL *et al.*, 2016).

Com o intuito de minimizar os riscos na vida das pessoas com hemoglobinopatias e pensando no diagnóstico precoce, no ano de 2001, o Ministério da Saúde, reconhecendo sua relevância na saúde pública do país, no âmbito do SUS, empenhou-se na reavaliação da TNB, o que culminou na publicação da portaria ministerial (Portaria GM/MS n.º 822, de 6 de junho de 2001) que criou o PNTN, considerado um marco importante no reconhecimento da fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, DF e outras hemoglobinopatias e a fibrose cística na saúde pública no Brasil (BRASIL, 2001; MENDES *et al.*, 2017).

Os serviços ofertados pela TNB envolvem etapas essenciais como a realização do exame laboratorial, busca ativa dos casos suspeitos, confirmação diagnóstica, tratamento e o acompanhamento multiprofissional dos pacientes. Além disso os estados habilitados deverão possuir laboratório especializado em TNB com biologia molecular própria ou contratado/conveniado, ambulatório multidisciplinar especializado, sistemas de registros e informações automatizados e rede assistencial complementar (BRASIL, 2002; BRASIL 2016).

O PNTN deve ser articulado pelo Ministério da Saúde, Secretarias Estaduais e Municipais, Distrito Federal e distritos Sanitários Especiais Indígenas em consequência dos diversos níveis de organização das redes assistenciais, variação da cobertura e

diversidade das características da população no Brasil (BRASIL, 2001). O objetivo do Programa é buscar a cobertura de 100% dos nascidos vivos e destaca - se pela gama de doenças triadas. Na fase I as doenças triadas são a Fenilcetonúria e Hipotireoidismo Congênito, na fase II, as doenças da fase I mais Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias, na fase III, as doenças contempladas na fase II mais fibrose cística.

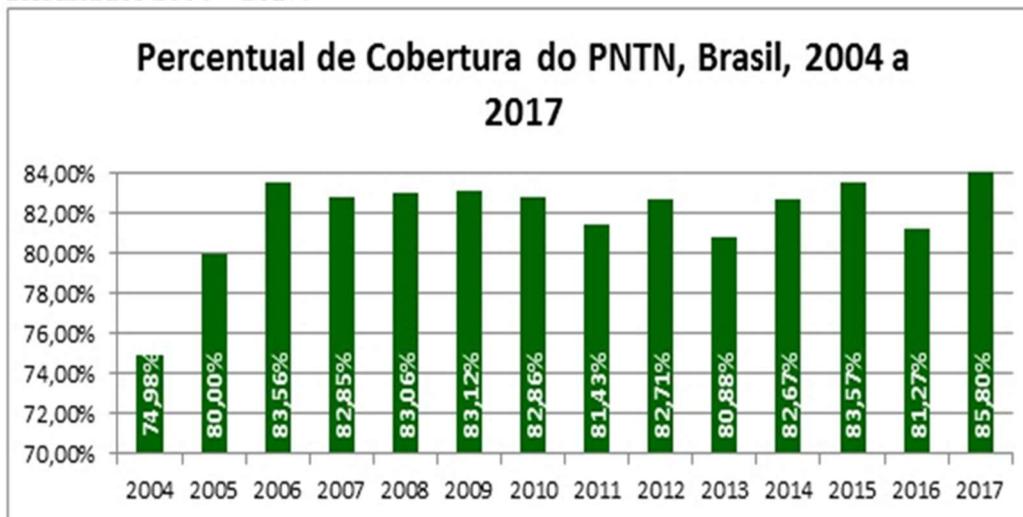
Em 14 de dezembro de 2012 com a portaria 2829/2012, foi incluída a fase IV que estabelece o rastreio das doenças da fase III mais hiperplasia adrenal congênita e a deficiência de biotinidase.

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, o indicador cobertura no PNTN refere-se ao número de RN triados, assim após a criação do programa a cobertura dos estados brasileiros aumentaram de 74,98% em 2004 para 85,80% em 2017 (BRASIL, 2018).

A figura 1 refere-se ao percentual de cobertura do PNTN no Brasil de 2004 – 2017.

Figura 1 - Percentual de cobertura do PNTN no Brasil de 2004 – 2017.

Resultados 2004 – 2017:



Fonte: Programa Nacional de Triagem Neonatal – CGSH/DAET/SAS/MS, Brasil, 2018.

O Brasil, alcançou em 2014, a cobertura do PNTN aproximada de 83% e no mesmo ano a Costa Rica (98%) e o Panamá (85%) apresentaram coberturas maiores (THERRELL *et al.*, 2015).

Cada estado tem um centro credenciado pelo Ministério da Saúde para realizar um sistema de cinco etapas, são elas; diagnóstico, busca ativa, confirmação, tratamento e acompanhamento (LACERDA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2015).

A coleta, para o TP, é realizada nas Unidades Básicas de Saúde (UBS), as amostras são coletadas da região do calcânhar do RN, região essa que apresenta maior vascularização e menor sensibilidade a dor, compreende o rastreamento da população de 0º a 28º dias de vida e recomenda-se que seja realizada a coleta entre o 3º e 5º dia de vida (BRASIL, 2016; MARQUI, 2016; OLIVEIRA; SOUZA, 2017).

1.1.5 Conhecimento do enfermeiro sobre às hemoglobinopatias

Um profissional que desempenha papel importante na TNB é o enfermeiro, pois é o líder da equipe de enfermagem e, com os avanços que o PNTN tem apresentado, são atribuídos novos desafios aos profissionais envolvidos (HOLANDA *et al.*, 2016; MENEZES *et al.*, 2016). Assim a enfermagem tem papel fundamental nas orientações e esclarecimentos acerca da educação em saúde, empoderando - se do conhecimento científico adquirido ao longo da graduação e exercício da profissão (MESQUITA *et al.*, 2017).

Algumas pesquisas mostraram que é o enfermeiro que repassa as informações ainda durante o pré-natal e que é visto como educador/multiplicador ofertando uma assistência humanizada (SILVA, 2015; MARQUI, 2016). Deve orientar e esclarecer as gestantes e as mães sobre as doenças triadas e a importância da realização da TN no período preconizado (OLIVEIRA, SOUZA, 2017).

O conhecimento/compreensão dos danos causados pelas doenças e o tratamento precoce influenciam na realização do exame no período preconizado e na importância da busca pelo resultado. Assim a orientação deve estar presente desde o pré-natal até o pós-parto pois algumas mães confundem o TP com a marca da impressão plantar realizada na maternidade (SANTOS *et al.*, 2011). Neste contexto, sobre a percepção das gestantes nas orientações no pré-natal, estudo de Silva *et al* (2017), mostrou que a maioria delas não conheciam as patologias triadas através do TP, 60% afirmaram que acham necessária a transmissão de mais informações sobre as doenças diagnosticadas e uma pequena parcela, 16,6% relatou que o TP permite o diagnóstico de doenças de etiologia genética.

Batistti *et al.*, (2018) em pesquisa realizada com enfermeiros da Estratégia de Saúde da Família (ESF), em Tangará da Serra – MT, demonstrou fragilidade e carência de embasamento teórico quando questionados sobre as doenças rastreadas. Observa-se nas narrativas desse estudo que nenhum dos entrevistados citou a palavra hemoglobinopatias, o que permeia a afirmação de que o enfermeiro necessita de mais conhecimentos relativos às mesmas.

Sobre a hemoglobinopatia mais conhecida, a DF, Kikuchi (2007), salienta que a equipe de enfermagem deve ter conhecimento sobre a mesma, deve orientar e acolher principalmente a mãe no que diz respeito ao impacto sobre o diagnóstico e o tratamento.

Outro estudo ressalta que é necessário a inclusão da temática ainda na graduação em enfermagem para que esse profissional compreenda a fisiopatologia da doença (LOIOLA *et al.*,2017). O enfermeiro detém relevante conhecimento sobre como a DF é adquirida, mas não há relatos sobre como a doença ocorre no organismo, o que evidencia um déficit no conhecimento sobre isso.

Estudo realizado com profissionais de saúde em Uberaba indicou uma quantidade considerável de profissionais que não tem conhecimento sobre as doenças detectáveis com a TNB (MESQUITA *et al*, 2017). Assim, apesar da relevância do assunto, há escassez de produção científica acerca do conhecimento do enfermeiro sobre as doenças triadas, principalmente no que diz respeito às hemoglobinopatias.

Considerando o que já foi mencionado sobre a importância do enfermeiro como agente multiplicador e ter maior contato com as gestantes durante o pré-natal e com as famílias após o nascimento, se esse profissional desconhecer o que são as hemoglobinopatias e que estão entre as doenças triadas, conseqüentemente as orientações repassadas serão superficiais.

Assim, é necessário a promoção continuada através de cursos de capacitação a esses profissionais para que os mesmos possam ter segurança na orientação quanto as hemoglobinopatias e na execução do TP.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a incidência do perfil das hemoglobinas anormais de RN do estado do MS triados pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal.

Objetivos específicos

- Verificar a frequência e distribuição das hemoglobinas variantes e suas interações no estado do MS por município e macrorregião de saúde;

- Estimar a frequência das talassemias no estado do MS;

- Estimar a frequência dos genes anormais para as hemoglobinopatias no estado do MS;

- Quantificar a presença de hemoglobinopatias novas e raras no estado do MS por município e macrorregião de saúde;

- Verificar o tempo decorrido desde o nascimento até a análise das amostras para o diagnóstico das hemoglobinopatias por macrorregião de saúde e município, segundo a distância de condução em quilômetro (km) do laboratório de referência.

MATERIAIS E MÉTODOS

1.1 Tipo de Estudo

Estudo observacional, transversal, descritivo e quantitativo.

1.1.2 Casuística

Foram avaliadas todas as amostras dos RN do estado de Mato Grosso do Sul nascidos entre abril de 2019 a julho de 2020 que foram triados pela APAE/IPED. Segundo dados do Sistema de Informações de Nascidos Vivos (SINASC), fornecido pela Secretaria do Estado da Saúde (SES/MS), por meio dos dados disponíveis no TabNet, nesse período, nasceram 56.998 RN e destes, 47.879 RN participaram do estudo.

Segundo o relatório detalhado do primeiro quadrimestre de 2019 da SES/MS, o estado do MS tem 79 municípios divididos em 04 macrorregiões de saúde (Corumbá com 02 municípios, Três Lagoas com 10 municípios, Dourados com 33 municípios e Campo Grande com 34 municípios). A macrorregião de saúde de Corumbá possui a população de 133.744 pessoas, a macrorregião de saúde de Três Lagoas 280.588, macrorregião de Dourados 831.310 e Campo Grande 1.502.351 pessoas, totalizando 2.747.993 pessoas em todo o estado do MS.

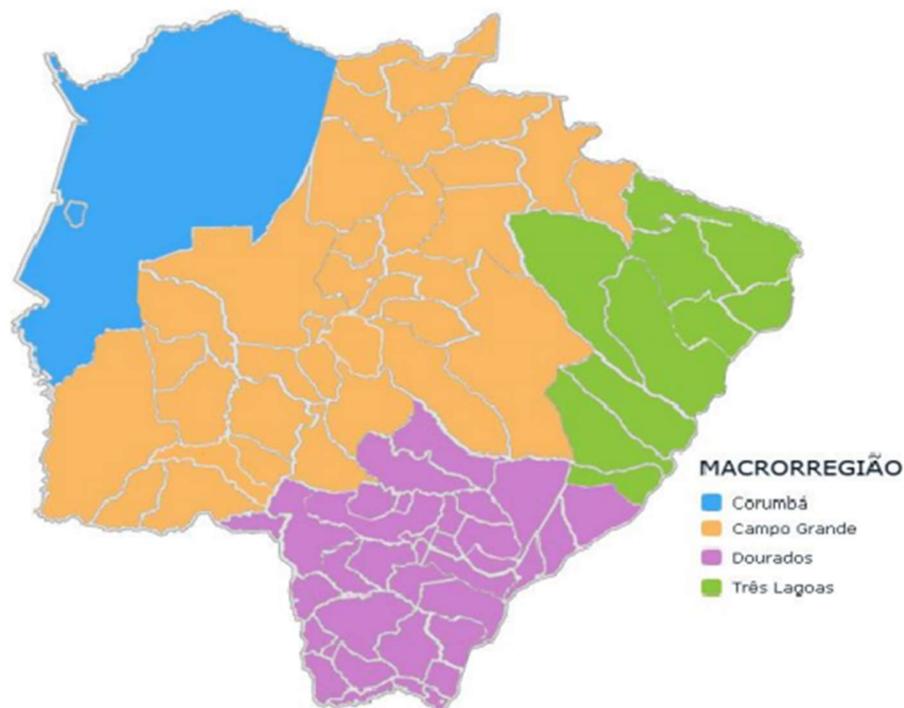
Para esse estudo os dados foram agrupados segundo as macrorregiões de saúde e segundo os municípios (79), que apresentaram hemoglobinopatias, descritos a seguir na tabela 1 e a figura 3 que mostra o mapa temático das macrorregiões de saúde do MS.

Tabela 1 - Macrorregiões de saúde e municípios do estado de Mato Grosso do Sul que apresentaram Hb variantes e suas interações, segundo dados do APAE/IPED.

Macrorregião de Saúde	Município
Corumbá	Corumbá, Ladário.
Três Lagoas	Água Clara, Aparecida do Taboado, Bataguassu, Brasilândia, Cassilândia, Inocência, Paranaíba, Santa Rita do Rio Pardo, Selvíria, Três Lagoas
Dourados	Amanbai, Anaurilândia, Angélica, Antônio João, Aral Moreira, Batayporã, Caarapó, Coronel Sapucaia, Deodápolis, Dourados, Douradina, Eldorado, Fátima do Sul, Glória de Dourados, Iguatemi, Itaporã, Itaquiraí, Ivinhema, Japorã, Jateí, Juti, Laguna Caarapã, Mundo Novo, Naviraí, Nova Andradina, Paranhos, Ponta Porã, Rio Brilhante, Sete Quedas, Tacuru, Taquarussu, Vicentina.
Campo Grande	Anastácio, Anhanduí, Aquidauana, Bela Vista, Bodoquena, Bonito, Camapuã, Campo Grande, Caracol, Chapadão do Sul, Corguinho, Costa Rica, Coxim, Dois Irmãos do Buriti, Figueirão, Guia Lopes da Laguna, Jaraguari, Jardim, Maracaju, Miranda, Nioaque, Nova Alvorada do Sul, Paraíso das Águas, Pedro Gomes, Porto Murtinho, Ribas do Rio Pardo, Rio Verde de Mato Grosso, Rochedo, São José, São Gabriel do Oeste, Sidrolândia, Sonora, Terenos.

Fonte: Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul – SES/MS; APAE/IPED.

Figura 2 - Mapa temático das regiões de saúde de Mato Grosso do Sul.



Fonte: Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul – SES/MS.

As amostras de sangue total de RN com Hb anormais inconclusivas, coletadas em tubos pediátricos ou em papel filtro, foram enviadas ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul no Câmpus de Três Lagoas (UFMS/CPTL) para a realização das análises laboratoriais citadas adiante.

1.1.3 Locais

As amostras com alterações de hemoglobinas anormais identificadas foram provenientes APAE/IPED. As amostras com Hb anormais inconclusivas, foram enviadas ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul no Câmpus de Três Lagoas (UFMS/CPTL), para a realização das análises laboratoriais.

1.1.4 Critérios de Inclusão

Foram incluídas todas as amostras de RN triados pela APAE/IPED com hemoglobinopatias. Segundo dados do Sistema de Informações de Nascidos Vivos (SINASC), fornecido pela Secretaria do Estado da Saúde (SES/MS), por meio dos dados disponíveis no TabNet nesse período.

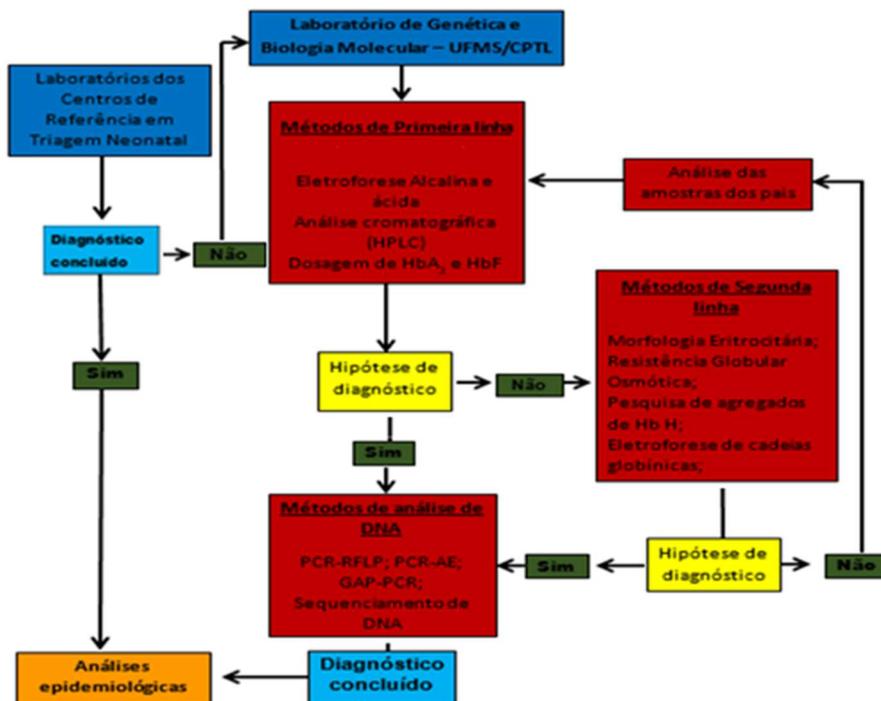
1.1.5 Coleta de Dados

A coleta de dados foi realizada durante 16 meses de abril de 2019 a julho de 2020. Para avaliar a incidência do perfil das Hb anormais de recém-nascidos (RN) do estado de Mato Grosso do Sul (MS) triados pelo PNTN, ano 2019 -2020, foram pesquisadas as seguintes variáveis: nascidos vivos por mês, ano e macrorregião de saúde; frequência e distribuição das Hb variantes e suas interações por município e ano; data de nascimento; data da coleta da amostra; data da análise da amostra; frequência e distribuição das talassemias e interações com Hb variantes, por nascidos vivos nos municípios e macrorregiões de saúde; incidência de perfis hemoglobínicos para hemoglobinopatias por macrorregião, ano e por fim o resultado confirmado.

1.1.6 Metodologia para o diagnóstico de hemoglobinopatias

O fluxograma de procedimento metodológico para o diagnóstico das hemoglobinopatias anormais no estado do MS está apresentado na figura 2:

Figura 3 - Fluxograma de procedimento metodológico da avaliação das hemoglobinas anormais no estado de Mato Grosso do Sul.



Métodos de Primeira Linha

Eletroforese pH alcalino

Técnica utilizada para qualificação de Hb normais e grande parte das Hb anormais com mobilidades eletroforéticas diferentes das Hb normais. Os padrões de migração eletroforéticas foram comparadas com os perfis esperados e aos existentes na literatura (BONINI-DOMINGOS, 2006).

Eletroforese em pH ácido

Técnica utilizada para diferenciar alguns tipos de Hb que migram em posições semelhantes na eletroforese em pH alcalino e caracterização semi-quantitativa de Hb Fetal (VELLA, 1968).

Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC)

A quantificação das frações globínicas foi realizada por meio de HPLC, com utilização do equipamento automatizado Ultra 2 (Trinity Biotech) e kit de análise *Resolution*. Foram realizadas quantificações das frações de Hb por cromatografia de troca iônica em um sistema fechado, no qual as mudanças na absorbância versus tempo. O tempo de retenção é característico para cada Hb normal e anormal. Ao final da análise de cada amostra, foi observado: o tempo de retenção, concentração da hemoglobina, no perfil dos picos do cromatograma com os da biblioteca de variantes fornecida pelo fabricante.

Métodos de Segunda Linha

Pesquisa de agregados de HB H

Os corpúsculos de inclusão de Hb H são formados por cadeias beta provenientes da desnaturação do tetrâmero. Após coloração com azul cresil brilhante esses corpúsculos apresentam-se dispostos homogeneamente no interior dos eritrócitos como pequenos pontos azulados sendo observados por microscopia óptica (PAPAYANNOPOULUS; STAMATOYANNOPOULOS, 1974).

Avaliação da resistência dos eritrócitos à hemólise

Teste seletivo realizado em solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,36% que facilita o processo de hemólise dos eritrócitos. Resultados positivos foram encontrados, principalmente, em casos de beta talassemia heterozigota, em que os eritrócitos microcíticos hipocrômicos são mais resistentes a esse processo (SILVESTRONI; BIANCO, 1975).

Morfologia eritrocitária à fresco

Os esfregaços sanguíneos, fresco, foram analisados ao microscópio óptico, quanto ao tamanho (microcíticas, normocítica) forma (poiquilocitose e as formas encontradas – células em alvo, drepanócitos, dacrióticos, esferócitos, etc.) e quantidade de Hb nos eritrócitos (hipocrômica, normocrômica, hiperocrômica). Os resultados foram descritos conforme as alterações observadas: alterações discretas (+); alterações moderadas (++); alterações acentuadas (+++); células normais (N) (BONINI-DOMINGOS, 1993).

1.1.7 Análises moleculares

Análises moleculares para Hemoglobinas anormais

Extração do DNA por precipitação salina

Metodologia por meio da qual foi extraído o DNA genômico de leucócitos de sangue periférico, e será subdividida em três processos: lise das células sanguíneas; desproteinização; precipitação do DNA e ressuspensão, por meio de soluções salinas de diferentes concentrações (LAHIRI; NURNBERGER, 1991)

Análise molecular para Hb S por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os primers utilizados para a amplificação que envolve o códon 6 serão: o primer P 277: 5' GGC AGA GCC ATC TAT TGC TTA 3' e o primer P 278: 5' ACC TTA GGG TTG CCC ATA AC 3'. Após a amplificação, o fragmento será digerido pela endonuclease DdeI e analisada em gel de agarose (SAIKI *et al.*, 1985).

Análise molecular para Hb C por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os primers utilizados para a amplificação que envolve o códon 6 serão: o primer P 277: 5' GGC AGA GCC ATC TAT TGC TTA 3' e o primer P 278: 5' ACC TTA GGG TTG CCC ATA AC 3'. Após a amplificação, o fragmento será digerido pela endonuclease BseRI e analisada em gel de agarose (CHINELATO-FERNANDES, 2003).

Análise molecular para Hb D por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os primers utilizados para a amplificação da mutação para HbD serão: CD1: 5' TGCCCTCTTTGCACCATTCTA 3' e o primer CD2: 5'

TAGAATGGTGCAAAGAGGCA 3'. Após a amplificação, o fragmento será digerido pela endonuclease *EcoRI* e analisada em gel de agarose (LEONELI, 2001)

Reação em Cadeia da Polimerase- Alelo Específico para Beta talassemia (PCR-AE)

Detecção direta dos alelos normais e mutantes por meio de reação em cadeia da polimerase. Foram analisadas as mutações: CD39 (C→T), IVS-I-1 (G→T), IVS-I-6 (T→C) e IVS-I-110 (G→A), algumas das mais frequentes (GALANELLO; ORIGA, 2010; BERTHOLO; MORERIA, 2006).

Sequenciamento dos genes da globina para Hb anormais raras

As amostras que não foram detectadas por PCR-RFPL, PCR-AE e GAP-PCR, foram submetidas ao PCR-*Touchdown* para amplificar os genes de interesse. Os produtos de PCR, após purificação, foram enviados para o Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica-CREBIO da Universidade Estadual Paulista, campus de Jaboticabal-SP que utilizam o sequenciador automático *3730 xl DNA Analyzer*. Após sequenciamento, as sequências foram alinhadas e avaliadas no Laboratório de Genética da UFMS/CPTL com o uso dos softwares *BioEdit Sequence Aligment Editor e Phred/Phrap/Consed*.

1.1.8 Plano de Análises dos dados

Para análise dos dados, inicialmente foi realizada a estatística descritiva, para caracterizar a frequência do evento estudado (Hb anormais isoladas ou em interação com outras hemoglobinopatias). Os dados foram armazenados em planilha do programa Microsoft Excel para Windows, em seguida transferidos para o programa *Statistical Pacckage for the Social Sciences* (SPSS) versão 22.0, onde foram analisados.

Aspectos Éticos

Para a presente pesquisa, foi aplicado aos responsáveis legais o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), para que os mesmos fossem orientados a participarem ou não da pesquisa. Nos centros de referência, o pesquisador responsável pela aplicação do TCLE, abordou as pessoas num momento e local adequado, com linguagem clara e acessível, explicou os objetivos do projeto, bem como, sanar quaisquer dúvidas, demonstrar os benefícios e riscos da pesquisa e, por fim, convidar a pessoa para

participar do projeto. Após o seu tempo de reflexão sobre o assunto, o convidado tomou sua decisão livre e esclarecida.

Os participantes da pesquisa foram expostos ao risco caracterizado pela possibilidade de hematoma no local da punção de sangue, ficando garantido a indicação de medicamento em gel para diminuir o hematoma e vermelhidão. Não foram gerados desconfortos psíquico, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual aos participantes.

Os benefícios da pesquisa estão relacionados ao diagnóstico preciso das hemoglobinopatias com o propósito de, para caso clinicamente significativo, receber orientação de conduta e tratamento adequado por meio dos profissionais de saúde do próprio centro de referência; para caso assintomático, receber orientação genético-educacional da sua afecção genética.

O projeto foi aprovado com o Parecer nº 2.740.602 pelo Comitê de ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - CEP/UFMS.

RESULTADOS

No período estudado de abril/2019 a julho/2020, nasceram 56.998 crianças no estado do MS. Conforme as macrorregiões de saúde no estado pode-se observar a quantidade de RN distribuídos por mês que nasceram no período de estudo (Tabela 2).

Tabela 2 - Nascidos vivos por mês de nascimento segundo as macrorregiões de saúde do estado de Mato Grosso do Sul.

Mês/Ano	Macrorregiões				Total
	Campo Grande	Dourados	Três Lagoas	Corumbá	
Abr/19	2.135	1.219	394	202	3.950
Mai/19	2.140	1.220	369	178	3.907
Jun/19	1.913	1.175	310	183	3.581
Jul/19	1.941	1.150	315	138	3.544
Ago/19	1.862	1.146	325	163	3.496
Set/19	1.913	1.094	302	152	3.461
Out/19	1.717	1.036	300	159	3.212
Nov/19	1.680	1.061	326	162	3.229
Dez/19	1.831	1.123	310	175	3.439
Jan/20	1.895	1.177	365	177	3.614
Fev/20	1.828	1.034	303	183	3.348
Mar/20	2.110	1.132	354	196	3.792
Abr/20	2.043	1.223	338	195	3.799
Mai/20	2.044	1.190	326	184	3.744
Jun/20	1.826	1.116	310	173	3.425
Jul/20	1.854	1.097	330	176	3.457
Total	30.732	18.193	5.277	2.796	56.998

Fonte: SINASC. Disponível em <http://tabnet.saude.ms.gov.br>

No período do estudo foram triados no APAE/IPED 47.879 amostras de RN, dessas 1.254 (2,6%) apresentaram perfil hemoglobínico anormal, ou seja, 1:45 NV no estado do MS apresentou algum gene alterado para as hemoglobinopatias. O índice de cobertura nesse período foi de 84%.

De acordo com os perfis Hb anormais dos RN avaliados, no grupo das Hb variantes de cadeia beta e, heterozigose encontramos 07 diferentes perfis: FAS (Hb S), FAC (Hb C), FA/D-Los Angeles (Hb D-Los Angeles), FAE (Hb E), FA/Korle-Bu (Hb Korle-Bu), FA/Osu- Christianborg (Hb Osu-Christianborg) e FA/Beta variante não identificada. Em relação as Hb variantes de cadeia alfa em heterozigose foram encontrados 02 diferentes perfis: FA/Etobicoke (Hb Etobicoke) e FA/Hashron (Hb Hashron). No caso dos heterozigotos para Hb delta variante foi encontrado 01 único perfil de FA/B₂ ou A₂ (FA/B₂ ou A₂’).

Nos casos de interação de Hb variante com alfa talassemia encontramos 02 perfis diferentes, um associado a Hb S (FAS + alfa talassemia) e outro com Hb C (Hb FAC + alfa talassemia). Em relação a interação de Hb variante com beta talassemia, 01 único perfil foi encontrado entre a Hb C e Beta⁺ talassemia. Os perfis homocigotos para Hb S de cadeia beta foram encontrados em duas situações, casos de homocigotos para Hb S e de homocigotos para Hb C. Os heterocigotos compostos foram encontrados envolvendo a Hb S e a Hb C e, por fim um caso de Hb FS foi demonstrado por análises moleculares perfil S/PHHF-2 (Persistência Hereditária de Hb F do tipo 2- Ganense) (Tabela 3).

Tabela 3 - Perfil das hemoglobinas anormais identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, 2019 – 2020.

Perfil de Hemoglobinas	n	%	Perfil de Hb na fase adulta
Hb variantes cadeia beta em heterocigose			
Hb FAS	918	73,21	Hb AS
Hb FAC	281	22,41	Hb AC
Hb FA/D-Los Angeles	05	0,40	Hb A/D-Los Angeles
Hb FAE	02	0,15	Hb AE
Hb FA/Korle Bu	01	0,08	Hb A/Korle Bu
Hb FA/Osu-Christiansborg	01	0,08	Hb A/ Osu-Christiansborg
Hb FA/Beta variante não identificado	01	0,08	Hb A/Beta variante
Hb variantes cadeia alfa em heterocigose			
Hb FA/Etobicoke	01	0,08	Hb A/Etobicoke
Hb FA/Hasharon	01	0,08	Hb A/Hashron
Hb variantes cadeia delta em heterocigose			
Hb FA/B ₂ ou A ₂ '	02	0,16	Hb AA + B ₂ ou A ₂ '
Hb variante de cadeia beta com Alfa talassemia			
Hb FAS + alfa talassemia	21	1,67	Hb AS + alfa talassemia
Hb FAC + alfa talassemia	02	0,16	Hb AC + alfa talassemia
Hb variantes de cadeia beta com Beta talassemia			
Hb FCA (C/Beta ⁺ talassemia)	04	0,32	Hb C/Beta ⁺ talassemia
Hb variante de cadeia beta em homocigose			
Hb FS	06	0,48	Hb SS
Hb FC	01	0,08	Hb CC
Hb Heterocigoto composto			
Hb FSC	06	0,48	Hb SC
Hb variante de cadeia beta com Persistência Hereditária de Hb F			
Hb FS (S/PHHF-2)	01	0,08	HB SF (PHHF-2)
Total	1254	100	

Legenda: Hb hemoglobina. PHHF Persistência Hereditária de Hb Fetal.

Pensando em antever os perfis de Hb anormais que desencadeia complicações aos RN, mesmo que ainda em fase pré-sintomática, e até mesmo os perfis assintomáticos, elencamos os diferentes perfis de Hb e a sua relação com sintomas/clínica.

Os perfis Hb FAS, Hb FAC, Hb FA/D-Los Angeles (mais frequentes) e os perfis raros Hb FA/Osu-Christianborg, Hb FA/Korle-Bu, Hb FA/Etobicoke, Hb FA/Hashron, Hb FA/B₂ e Hb FA/Beta variante (não identificado) e Hb FS (S/PHHF-2), correspondem a 96,7% dos casos estudados e estes são considerados assintomáticos.

Por outro lado, os perfis Hb FAS+Alfa talassemia, Hb FAC+Alfa talassemia, Hb FAE, Hb FCA (C/Beta+ talassemia) e Hb FC representaram 2,4% dos casos e esses perfis, na fase adulta, podem apresentar grau variado de anemia com microcitose e hipocromia. Por fim, os perfis de Hb FS e Hb FSC, correspondentes a DF e de fenótipo grave, representaram 1% dos RN triados, estes necessitarão de atenção e acompanhamento clínico adequado.

Ao observar a incidência de Hb anormais distribuídas por macrorregiões de saúde, obteve-se maior incidência de Hb anormais por nascidos vivos (NV) na macrorregião de Três Lagoas (33 casos por 1000), seguido pela macrorregião de Corumbá (28 casos por 1000), Campo Grande (20 casos por 1000) e Dourados (19,7 por 1000).

Na tabela 4, separado por cada macrorregião de saúde, foi possível observar os municípios com as maiores frequências de RN com hemoglobinopatias. O cálculo foi baseado a partir do número absoluto de RN com Hb anormais e com a quantidade de RN nascidos vivos no período de estudo. Destacamos que foram compilados os 10 municípios por macrorregião de saúde com maiores frequências, com exceção da macrorregião de saúde de Corumbá, que possui somente dois municípios.

Independente da macrorregião, os 10 municípios que apresentaram maiores incidências de NV com hemoglobinopatias foram: Selvíria 102:1.000/NV; Brasilândia 68:1.000; Anaurilândia 59:1.000/NV; Santa Rita do Pardo 59:1.000/NV; Nioaque 57:1.000/NV; sonora 53:1.000/NV, Corguinho 50:1.000/NV; Sete Quedas 47:1.000/NV; Figueirão 46:1.000/NV e Angélica 45:1.000/NV. A seguir os municípios foram dispostos em ordem decrescente de número de casos, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Frequência e distribuição das hemoglobinas variantes e suas interações, por recém-nascidos, identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos 10 municípios que mais apresentaram casos, 2019 – 2020.

Macrorregião de Saúde	Município	Nº absoluto de Hb anormais	Nascidos vivos (abril/2019 a julho/2020)	Incidência de RN com Hb anormal por 1000 NV
Corumbá	Corumbá	68	2.326	29,2
	Ladário	09	470	19,1
Três Lagoas	Selvéria	05	49	102,0
	Brasilândia	14	206	6,80
	Santa Rita do Pardo	01	17	59,0
	Água Clara	14	374	37,4
	Aparecida do Taboado	14	376	37,2
	Paranaíba	25	718	35,0
	Três Lagoas	75	2.544	29,4
	Cassilândia	09	319	28,2
	Inocência	04	150	27,0
	Dourados	Anaurilândia	05	85
Sete Quedas		08	170	47,0
Angélica		09	201	45,0
Fátima do Sul		14	391	36,0
Deodópolis		07	225	31,0
Mundo Novo		10	331	30,2
Iguatemi		09	308	29,2
Ivinhema		16	568	28,1
Jateí		02	71	28,1
Caarapó		21	749	28,3
Campo Grande	Nioaque	14	247	57,0
	Sonora	14	266	53,0
	Corguinho	03	60	50,0
	Figueirão	02	43	46,5
	Coxim	24	647	37,0
	Bodoquena	6	176	34,0
	Pedro Gomes	4	119	34,0
	Terenos	8	244	33,0
	Dois Irmãos do Buriti	6	186	32,2
	Chapadão do Sul	20	663	30,1

Legenda: Hb hemoglobina, NV nascidos vivos

Sobre as formas talassêmicas encontradas no estudo, só foram encontradas as talassemias associadas com Hb variantes (Hb FAS + alfa talassemia, Hb FAC + alfa talassemia e Hb FCA (C/Beta⁺ talassemia), esses perfis foram encontrados nos seguintes

municípios e respectivas macrorregiões de saúde, conforme tabela 5. A alfa talassemia teve uma incidência de 1:2.478 NV e a beta talassemia 1:14.249 NV.

Tabela 5 - Frequência e distribuição das talassemias e interações com hemoglobinas variantes, por recém-nascidos identificadas pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, por município e macrorregião de saúde, 2019 – 2020.

Perfil das talassemias	Município	Nº absoluto de talassemias e interações com Hb variantes	NV (abril/2019 a julho/2020)	Incidência de RN com talassemias e interações de Hb variantes por 1000 NV
Hb FAS + alfa talassemia				
Macrorregião de saúde				
Corumbá	Corumbá	2	2.326	0,85
Três Lagoas	Paranaíba	1	718	1,39
	Três Lagoas	3	2.544	1,17
Dourados	Batayporã	1	173	5,80
	Dourados	4	5.345	0,74
	Naviraí	1	1077	0,92
Campo Grande	Campo Grande	7	18.450	0,40
	Chapadão do Sul	1	663	1,50
Hb FAC + alfa talassemia				
Dourados	Dourados	1	5.345	0,18
	Mundo Novo	1	331	3,02
Hb FCA (C/Beta + talassemia)				
Três Lagoas	Bataguassu	1	524	2,00
	Eldorado	1	230	4,34
Dourados	Naviraí	1	1.077	0,92
	Nova Alvorada do Sul	1	455	2,19

Legenda: Nº número, Hb hemoglobina, NV nascidos vivos

Quanto a frequência e a distribuição dos perfis de Hb raras, os mesmos estão distribuídos na macrorregião de saúde de Três Lagoas: município de Paranaíba e Três Lagoas ambos com 01 caso de perfil Hb FA/B₂; na macrorregião de saúde de Dourados: município de Dourados com 01 caso de perfil Hb FA/Etobicoke e 01 de Hb FA/Osu-Christiansborg; e na macrorregião de Campo Grande: município de Campo Grande com 01 caso de perfil Hb FA/Beta variante (não identificado), e 01 caso de Hb FA/Hashron; Miranda 01 caso de perfil Hb FS (S/PHHF-2) e São Gabriel do Oeste com 01 caso de perfil Hb FA/Korle-Bu.

Dentre os perfis mais frequentes e considerados assintomáticos, de acordo com o número destes encontrados no estado, o perfil Hb FAS ou traço falciforme, está distribuído na macrorregião de saúde de Campo Grande com 458 (50%) RN, Dourados com 283 (31,5%) casos, na macrorregião de saúde de Três Lagoas com 115 (12,5%) RN, seguida da macrorregião de Corumbá com 62 casos (7,0%). Já o perfil Hb FAC está distribuído nas macrorregiões de saúde de Campo Grande com 148 (52,7%) Dourados com 78 (27,8%) Três Lagoas com 43 (15,3%) e Corumbá com 12 (4,2%). As incidências do traço S e do traço C por NV no estado do MS, podem ser observadas na Tabela 6.

Os perfis de Hb FS e Hb FSC, correspondentes a DF, encontrados no estudo, estão distribuídos nas macrorregiões de saúde da seguinte forma: 04 perfis FS e 03 FSC na macrorregião de saúde de Campo Grande; 01 perfil FS e 01 perfil FSC na macrorregião de saúde de Corumbá; 01 perfil FS e 02 perfis FSC na macrorregião de Dourados. A incidência da DF por NV no estado de MS, pode ser observada na Tabela 6.

Tabela 6 - Incidência por NV dos perfis hemoglobínicos mais detectados, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul por macrorregião, 2019 – 2020.

Perfil hemoglobínico	nº absoluto	Incidência
Hb FAC	281	1:202
Hb FAS	918	1:62
DF	12	1:4.749

Legenda: NV nascidos vivos, nº número

Na possibilidade de observar o engajamento dos gestores e dos profissionais de saúde dos municípios na etapa de coleta com a orientação do período ideal, bem como o procedimento de coleta em si, foi calculado o tempo decorrido entre a Data de Nascimento (DN) do RN e a Data de Coleta (DC) das amostras biológicas para a realização dos exames. Do total de 1254 Hb anormais, verificou-se que antes do 3º dia de vida 77 RN (6,1%) foram coletadas; 381 (30,4%) amostras de RN encontravam-se entre o 3º e 5º de vida; 715 (57%) de amostras entre o 6º e o 28º; 81 (6,5%) amostras entre o 29º e 365º dias de vida. Os dados detalhados por alteração de Hb em faixa de dias podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Data de Coleta (DC) das amostras biológicas para a realização do Teste do Pezinho (TP) segundo a idade em dias no momento da coleta e ocorrência de casos de hemoglobinopatias detectadas pela triagem neonatal no estado de Mato Grosso do Sul, 2019 – 2020.

Perfil hemoglobínico	Idade em dias			
	0 a 2	3 a 5	6 a 28	29 a 365
Hb variantes cadeia beta em heterozigose				
Hb FAS	46	294	528	50
Hb FAC	25	74	161	21
Hb FA/D-Los Angeles		1	3	1
Hb FAE				2
Hb FA/Korle Bu	1			
Hb FA/Osu/Christianborg		1		
Hb FA/Beta variante não identificado			1	
Hb variantes cadeia alfa em heterozigose				
Hb FA/Etobicoke				1
Hb FA/Hasharon			1	
Hb variantes cadeia delta em heterozigose				
Hb FA/B ₂ ou A ₂ '				2
Hb variante de cadeia beta com Alfa talassemia				
Hb FAS + alfa talassemia		8	13	
Hb FAC + alfa talassemia			1	1
Hb variante de cadeia beta com Beta talassemia				
Hb FCA (C/Beta+talassemia)	4	1	1	2
Hb variante de cadeia beta em homozigose				
Hb FS		1	5	
Hb FC			1	
Hb Heterozigoto composto				
Hb FSC	3	1	1	1
Hb variante de cadeia beta com Persistência Hereditária de Hb F				
Hb FS (S/PHHF-2)				1
Total	77	381	715	81

Legenda: DC Data de Coleta, TP Teste do Pezinho

Ainda sobre intervalo de tempo, analisamos a quantidade de dias entre Data de Coleta (DC) do TP nas UBS e a Data da Análise (DA) das amostras no laboratório de referência em TNB. Das 1.254 amostras alteradas apenas 802 (63,95%), apresentam os dados completos para este tipo de análise. A seguir, apresentamos a média de dias decorridos entre a Data de Coleta e a Data da Análise (DC x DA), por macrorregiões de saúde e seus respectivos municípios, segundo a distância de condução em quilômetro (km) do laboratório de referência.

Dentre os municípios que tiveram menor média de dias no intervalo entre a DC na UBS e a DA das amostras pelo laboratório de referência, o município de Corumbá na macrorregião de saúde de Corumbá, apresentou média de 11 dias no intervalo entre DC x DA e está a 428 quilômetros (km), de onde o laboratório de referência está localizado, conforme disponível no domínio <https://www.google.com.br/maps>. Nessa mesma macrorregião de saúde, o município de Ladário apresentou maior média de dias entre o intervalo de DC x DA, a média foi de 17 dias e este município está localizado a 428 km do laboratório de referência.

Na macrorregião de saúde de Três Lagoas, o município de Arapuá apresentou média de 4,5 dias, sendo a menor em intervalo de dias entre a DC x DA, e está localizado a 292 km do laboratório de referência. Já o município de Aparecida do Taboado foi o que apresentou maior média entre a DC x DA, 16 dias, conforme mostra a tabela 8.

Tabela 8 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Três Lagoas, 2019 – 2020.

Macrorregião de Saúde	Município	Média de dias intervalo entre DC x DA	Número de amostras no período	Distância em km do laboratório de referência
Três Lagoas	Aparecida do Taboado	16	9	458
	Cassilândia	12	7	437
	Paranaíba	9	13	407
	Selvíria	15	3	399
	Inocência	10,5	2	331
	Três Lagoas	10	49	326
	Bataguassu	12	8	309
	Brasilândia	8	4	261
	Arapuá	4,5	2	292
	Água Clara	8,5	10	192

Legenda: DN Data de Nascimento. DA Data de Análise. Km quilômetros

Fonte: Distância em Km disponível em <https://www.google.com.br/maps>

Os municípios de Deodápolis e Paranhos, na macrorregião de saúde de Dourados apresentaram menor média de dias no intervalo entre a DC x DA, sendo 6 dias de intervalo e está localizado a 261 km do laboratório. O município de Eldorado obteve média de 26 dias de intervalo entre a DC x DA, sendo a maior média e está a 438 km de distância do laboratório. A seguir, na tabela 9 mostramos os demais municípios da macrorregião de

saúde de Dourados, a média de dias no intervalo entre DC x DA e a distância em km do laboratório de referência.

Tabela 9 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Dourados, 2019 – 2020.

Macrorregião de Saúde	Município	Média de dias intervalo entre DC x DA	Número de amostras no período	Distância em km do laboratório de referência
Dourados	Sete Quedas	14,5	4	466
	Mundo Novo	17	6	461
	Paranhos	6	3	460
	Tacuru	12	2	420
	Eldorado	26	4	438
	Iguatemi	12	7	466
	Itaquiraí	15	4	402
	Coronel Sapucaia	9	1	393
	Antônio João	15	4	392
	Anaurilândia	14	2	365
	Amanbai	11	6	348
	Naviraí	13	15	355
	Amandina	1	1	313
	Ponta Porã	14	17	313
	Juti	13	1	308
	Batayporã	20	3	306
	Nova Andradina	13,5	17	295
	Ivinhema	10	8	286
	Glória de Dourados	7	1	278
	Laguna Caarapã	18	1	277
	Caarapó	12	12	270
	Angélica	11	7	269
	Jateí	17	1	262
	Deodápolis	6	3	261
	Vicentina	27	1	245
	Fátima do Sul	12	7	237
	Itaporã	19	2	233
	Dourados	12	65	223
	Guaçu	15	1	200
	Vila Formosa	8	1	197
Rio Brillhante	16	14	159	
Nova Alvorada do Sul	12	12	113	

Legenda: DN Data de Nascimento. DA Data de Análise. Km quilômetros

Fonte: Distância em Km disponível em <https://www.google.com.br/maps>

Na macrorregião de saúde de Campo Grande, o município de Anastácio teve a menor média de dias no intervalo entre a DC x DA, está a 141 km do laboratório de referência e o município de Bonito apresentou maior média e está a 296 km de distância

do laboratório. A tabela 10 mostra a média do intervalo de dias entre DC x DA dos demais municípios da macrorregião de saúde de Campo Grande.

Tabela 10 – Intervalo de tempo entre a DC x DA das amostras pelo laboratório de referência, identificados pela triagem neonatal para hemoglobinopatias no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios da macrorregião de saúde de Campo Grande, 2019 – 2020.

Macrorregião de Saúde	Município	Média de dias intervalo entre DC x DA	Número de amostras no período	Distância em km do laboratório de referência
Campo Grande	Porto Murtinho	7	6	438
	Caracol	14	1	375
	Sonora	13	8	367
	Costa Rica	14	9	331
	Bela Vista	9	4	323
	Pedro Gomes	10	3	310
	Chapadão do Sul	11	13	337
	Bonito	20,5	7	296
	Paraíso das Águas	12	1	282
	Bodoquena	7	1	267
	Coxim	8	19	258
	Figueirão	12	2	263
	Jardim	11	6	235
	São José	15	1	231
	Miranda	12	7	209
	Rio Verde de Mato Grosso	13	3	208
	Nioaque	7	11	183
	São Gabriel do Oeste	11	12	145
	Maracaju	12	14	157
	Camapuã	17,5	4	145
	Aquidauana	12	20	142
	Anastácio	5	3	141
	Piraputanga	15	1	121
	Dois Irmãos do Buriti	10	5	118
	Corguinho	8	1	102
	Ribas do Rio Pardo	8	4	97,5
	Rochedo	15,5	2	85,8
	Sidrolândia	9	14	70,3
	Anhanduí	6	2	57,7
	Terenos	7	6	33,4
	Campo Grande	8	221	3

Legenda: DN Data de Nascimento. DA Data de Análise. Km quilômetros

Fonte: Distância em Km disponível em <https://www.google.com.br/maps>

Por fim, para verificar o tempo desde o nascimento até a liberação do diagnóstico para as hemoglobinopatias, nós calculamos os dias decorridos entre a DN e DA dos RN dispostos por macrorregião de saúde e município. No cenário estadual, os RNs obtiveram os resultados dos diagnósticos para hemoglobinopatias com média de 21,6 dias de vida (mínimo 4 e máximo 451 dias).

Separado por macrorregião de saúde, apresentado por média em dias (mínimo e máximo), os RNs da macrorregião de Campo Grande obtiveram seus resultados com média de 21,6 dias (4 e 451 dias), Dourados com 22,5 dias (5 e 219 dias), Três Lagoas com 21,2 dias (6 e 81 dias) e Corumbá 21,6 dias (6 e 42 dias). Quando avaliado pelo teste de Kruskal-Wallis não houve diferença estatística entre as macrorregiões em relação à média de dias ($p=0,853$; $H=48,65$).

Na macrorregião de Campo Grande, as médias de dias entre a DN e DA não apresentaram diferença estatística entre os municípios quando avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p=0,743$; $H=17,36$). Na macrorregião de saúde de Dourados, as médias de dias entre a DN e DA também não apresentaram diferença significativa entre os municípios ($p=0,865$; $H=17,45$). Na macrorregião de Três Lagoas, calculado pelo teste de ANOVA uma via, seguindo os pressupostos para uso de testes paramétricos, também não apresentaram diferença significativa entre a média de dias da DN e DA entre os municípios ($p=0,625$; $F=0,790$). Por fim, na macrorregião de Corumbá, o teste t de Student para amostras independentes, também não demonstraram diferenças estatísticas entre a média de dias entre Corumbá e Ladário entre a DN e DA ($p=0,581$; $t=0,55$).

DISCUSSÃO

Em 11 de outubro de 1977 com o processo de divisão do estado de Mato Grosso em duas unidades federativas, ocorreu a fundação do estado de Mato Grosso do Sul, localizado ao Sul da região Centro-Oeste é uma das 27 unidades federativas do Brasil. A capital do estado é Campo Grande, o estado tem como limites os estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraná e São Paulo, além da Bolívia e o Paraguai. Sua população estimada em 2020 é de 2.809.394 (SES/MS, 2019; IBGE, 2010).

O processo de formação do estado possibilitou a migração de cuiabanos, goianos, mineiros, paulistas e gaúchos para o estado. Além da população do estado também contar com povos indígenas, sendo a segunda maior do país. A cidade de Campo Grande, capital do estado, é a cidade mais populosa (IBGE, 2010; SES/MS, 2019).

Os resultados desse estudo mostram que o índice de cobertura da TN, no estado de Mato Grosso do Sul, no período de abril/2019 a março/2020 foi de 84%. O objetivo do PNTN é buscar a cobertura de 100% dos nascidos vivos, e em nível nacional, o indicador cobertura em 2017 no Brasil alcançou 86% (BRASIL, 2002).

Em pesquisa prévia, com 543.690 triados em um total de 612.909 nascidos vivos, o Índice de Cobertura foi de 88,71% (KIKUCHI *et al.*, 2018). Em outra pesquisa, realizada no MS, com RN triados pelo APAE/IPED, de 2011 a 2015, foi observado que o Índice médio de Cobertura foi de 85,34 % (BALLISTA *et al.*, 2017). Isso representou uma queda em relação aos 91,97% de Araújo *et al.* (2014). Com base no objetivo do PNTN – de buscar a cobertura de 100% (BRASIL, 2002) – e no índice de cobertura que, em 2017, no Brasil, alcançou 86% (BRASIL, 2018), haveria a necessidade de novas pesquisas para esclarecer os reais motivos e poder atendê-los em tempo.

Com relação aos motivos a serem esclarecidos pela variação da cobertura do PNTN, têm-se algumas suposições devido a peculiaridades do estado do MS: I) Alguns RN tem a triagem realizada na rede privada, fora da APAE/APAE; II) devido ao tamanho do estado e dificuldade de acesso de algumas famílias ao teste do pezinho por residirem em áreas urbanas distantes, pode resultar em alguns RN sem a realização do teste; III) posição geográfica do MS, RN que nasceram no estado de MS, mas as famílias são provenientes de outros estados e até mesmo de outros países e; IV) os dados de RN vivos

disponíveis nos bancos de dados governamentais sofrem atrasos na atualização e pode gerar equívocos nos cálculos de cobertura.

Apesar do índice médio no estado do MS ter mostrado redução, está semelhante a outros estados, Santa Catarina em 2012 alcançou 78% (ELLER; SILVA, 2016), em 2011 no estado de Tocantins a cobertura foi de 84,2% (MENDES; SANTOS; BRINGEL, 2013) e o Rio Grande do Sul em 2014 foi 83% (KOPACEK *et al.*, 2015, em 2020 a cobertura em Sergipe foi de 80% (LEITE *et al.*, 2020).

Os perfis considerados mais frequentes e raros perfazem um total de 96,7% neste estudo. Sobre os heterozigotos para variantes hemoglobínicas raras Cardoso *et al.*, (2017), dizem que a maioria não produz efeitos clínicos significativos, mas algumas hemoglobinas variantes podem ocasionar patologias quando associadas a esses perfis.

Conforme Kimura *et al.* (2008), em relação ao diagnóstico clínico das hemoglobinas raras, o diagnóstico correto pode prevenir terapêuticas inadequadas, e do ponto de vista da genética das populações as investigações das hemoglobinas raras contribui para conhecer a composição étnica e os diferentes graus de miscigenação nos grupos populacionais. A macrorregião de saúde de Três Lagoas apresentou maior incidência de hemoglobinopatias por RN no estado do MS.

Dos resultados referentes a frequência de hemoglobinopatias nos municípios, os municípios de Selvíria, Brasilândia, Santa Rita do Rio Pardo, Anaurilândia e Nioaque são os que apresentaram maior frequência quando comparadas ao número de NV no período, com destaque ao município de Selvíria (102/1.000 NV). Este município faz parte da macrorregião de saúde de Três Lagoas, e tem como limite o estado do de São Paulo, além da capital do estado, Campo Grande, e por esses fatores, o que pode apresentar várias combinações entre povos oriundos desses locais, e pode contribuir para a dispersão dos genes anormais de Hb existente no município.

Referente aos perfis que os RN podem apresentar grau variado de anemia com microcitose e hipocromia na fase adulta, a alfa talassemia com heterozigose para a Hb S e Hb C teve incidência de 1:2.748 NV e destacou-se nos municípios de Corumbá (na macrorregião de Corumbá), no município de Paranaíba (na macrorregião de Três Lagoas), em Batayporã (na macrorregião de Dourados) e no município de Chapadão do Sul (na macrorregião de saúde de Campo Grande). O perfil Hb C (Hb FAC + alfa talassemia), no município de Mundo Novo, na macrorregião de Dourados.

Estudo de Melo-Reis *et al.* (2006) no estado de Goiás (GO) mostrou que a talassemia alfa teve alta frequência e que a sua presença na população se deve às diferenças na composição étnica das diferentes regiões e à intensa miscigenação entre as etnias. Esse fato pode justificar a frequência da talassemia alfa nas macrorregiões de saúde do estado de MS. Os autores ressaltam ainda que a talassemia alfa com heterozigoto para a Hb S e heterozigoto para Hb C, também foram as mais frequentes em seu estudo e que através do reconhecimento das mesmas pode-se entender movimentos migratórios das populações e contribuir com a saúde pública para a implantação de projetos preventivos (MELO-REIS *et al.*; 2006).

O perfil Hb FCA (C/Beta⁺ talassemia), com incidência no estado de 1:14.249/NV, obteve maior frequência no município de Bataguassu (macrorregião de Três Lagoas) e nos municípios de Eldorado e Nova Alvorada do Sul que pertencem a macrorregião de saúde de Dourados. Sobre a talassemia beta Ângulo; Picado (2009), enfatizam que a interação da Hb C com outras hemoglobinopatias é frequente, mas a interação com a Beta⁺ talassemia ocorre raramente, esse estudo foi realizado no município de Ribeirão Preto – SP e envolveu 480 pessoas com hemoglobinopatias e os autores encontraram apenas 02 casos com o perfil Hb FCA (C/Beta⁺ talassemia).

Referente a forma homozigota da Hb C (FC), dado semelhante ao nosso foi relatado por Cardoso *et al.* (2017), em que os autores afirmam que apenas os indivíduos homozigotos para essa condição demonstram sintomas significativos, que podem ser ocasionados pela formação de cristais intracelulares e desidratação dos eritrócitos o que geram anemia hemolítica que pode variar entre leve e moderada.

Ainda relacionado aos perfis (que podem apresentar grau variado de anemia com microcitose e hipocromia na fase adulta), Ferraz; Murao (2007), afirmam que para obter um resultado confirmado do perfil Hb FAE é necessário a realização de testes como o HPLC, estudo do sangue dos pais e quando possível o uso de técnicas de biologia molecular, destacando assim, o papel importante de laboratório apoio com tecnologias molecular como apresentado em nosso estudo.

Em relação aos perfis heterozigotos mais frequentes no estado, o traço falciforme, de acordo com os RN no período, é o perfil que apresenta incidência considerável em todo o estado do MS com destaque nas macrorregiões de saúde de Campo Grande e

Dourados. O perfil Hb FAC foi o segundo mais encontrado, e também teve presença acentuada nessas duas macrorregiões de saúde. A incidência desses perfis nessas macrorregiões de saúde também pode ocorrer por conta da população oriunda de municípios populosos e estados vizinhos e principalmente o traço falciforme, que apresenta reflexo da composição étnica e fluxos migratórios na composição do estado de MS.

Dados semelhantes foram observados no estudo de Reis *et al.* (2018), onde a região que se destacou por números de casos com traço falciforme e Hb FAC, é a região vizinha do município mais populoso do estado. Os dados desse estudo não dispõem de informação referente à etnia do RN, o que dificulta investigar e comparar com outros estudos sobre relação entre as hemoglobinopatias e a cor da pele.

Os indivíduos com traço falciforme e traço C, apresentam-se assintomáticos (REIS *et al.*, 2018). Esse resultado também foi observado em outros estudos e mostra que esses não são achados inesperados, mas que necessitam de apoio dos serviços de saúde na orientação de heterozigotos e suas famílias sobre ser portador (BALENSIEFER; YAMAGUCHI, 2018; NICOLATO *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2015; LEITE *et al.*, 2020).

A incidência do traço C no estado foi de 1:202 e do traço falciforme foi de 1:62. Estudo realizado por Silva-Pinto *et al.* (2019), apontou que a incidência do traço falciforme foi de 1:70, isso mostra que esses casos aumentaram no estado do MS. Resultado semelhante ao dessa pesquisa foi observado nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul que apresentaram incidência de 1:65 (SILVA-PINTO *et al.* 2019).

A informação referente a incidência do traço falciforme é extremamente importante pois possibilita identificar casais capazes de gerar indivíduos com a forma grave da DF. Nesses casos faz-se importante realizar o aconselhamento genético para que esses casais de maneira equilibrada e consciente tomem a decisão a respeito de ter filhos ou não (BALENSIEFER; YAMAGUCHI, 2018; CARDOSO *et al.*, 2017; LEITE *et al.*, 2020; BRASIL, 2015; TRINDADE *et al.*, 2019).

A TNB tem como benefícios adicionais proporcionar a possibilidade de testar, investigar e aconselhar geneticamente outros membros da família de crianças que são

identificadas heterozigotas e que, secundariamente do ponto de vista sanitário, podem causar efeitos preventivos na sociedade. No Brasil, adicionalmente, o intuito é identificar as pessoas antes que iniciem o processo de reprodução para informar as mesmas que elas podem gerar filhos que possuam a DF (SILVA *et al.*, 2015; BRASIL, 2015).

Contudo, os benefícios adicionais citados não ocorrem ou ocorrem raramente, o que pode evidenciar falhas nesse processo. Para Naik, Haywood (2015), Silva *et al.* (2015) e Mendes *et al.* (2017), os pais não recebem orientação e notificação direta a respeito dos seus filhos serem portadores do traço falciforme e esses portadores também não são devidamente orientados ou cientes da situação sobre transmitir o alelo mutante a seus descendentes.

Desde a inclusão das hemoglobinopatias no PNTN em 2001 e em sua reformulação em 2012, ampliou-se o acesso e o diagnóstico expandiu-se para 79 municípios do estado de Mato Grosso do Sul, a rede de saúde do estado tem demonstrado empenho no desenvolvimento do programa de atenção às pessoas com HbS (KIKUCHI *et al.*, 2018).

No que concerne a DF, os fenótipos Hb FS e Hb FSC, com 06 casos cada foram encontrados neste estudo. A AF é a forma mais conhecida das hemoglobinopatias e de grande importância epidemiológica, o que destaca a importância da identificação precoce para que o tratamento seja iniciado o mais rápido possível (ARDUINI *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2015).

Estudo de Kikuchi *et al.* (2018) realizado entre 2001 e 2015, apontou 67 RN com anemia falciforme no estado de Mato Grosso do Sul, o que equivale à média de 4 casos ao ano, isso mostra que os casos no estado estão aumentando. De acordo com Barbosa *et al.* (2018), a hemoglobinopatia Hb FSC, tem curso clínico de intensidade menos grave e as crises hemolíticas são amenas, comparados com a AF, mas algumas características são comuns, por exemplo a anemia hemolítica crônica e a presença de fenômenos vaso-oclusivos.

As manifestações no quadro clínico de pessoas com AF, são caracterizadas pela inflamação crônica que a doença apresentando assim elevadas taxas de morbimortalidade, também é um fator importante na qualidade de vida que têm repercussão no trabalho, lazer, estudo e autoestima (RAMOS *et al.*, 2015; CARDOSO *et al.*, 2017; RAMOS *et al.*,

2017; GLADWIN, 2017). Estudo recente afirma que apesar dos avanços na realização do diagnóstico da DF, a média de sobrevivência dos doentes não supera a quinta década de vida, com maior notoriedade nas regiões onde a profilaxia, imunização, tratamento com medicamentos mais utilizados e diagnóstico precoce são mais difíceis (PIEL; STEINBERG; REES, 2017).

Neste estudo, a incidência da DF foi de 1:4.749, ou seja, para cada 4.749 nascidos vivos, uma criança tem DF. Essa incidência quando comparada à realizada por Silva-Pinto *et al.* (2019) que apontaram 1: 8.300, mostra que os casos de DF aumentaram no estado. A incidência aqui apresentada é menor do que a encontrada na Bahia com 1:650, onde há maior imigração africana (ARDUÍNI, RODRIGUES, MARQUI, 2017; LEITE *et al.*, 2020; SILVA-PINTO *et al.*, 2019).

Essa incidência da DF no estado também pode se dar pela miscigenação decorrente de processos migratórios de povos vizinhos do estado. Assim, 07 dos casos de DF do presente estudo ocorreram em municípios da macrorregião de saúde de Campo Grande, o que pode ser justificado pela presença do alto número de heterozigotos também nessa doença nessa macrorregião.

Os resultados referentes ao traço falciforme e a DF, chamam a atenção para a necessidade da eficácia de programas preventivos à DF existentes nessa macrorregião de saúde, uma vez que o aconselhamento genético e a investigação de membros da família são necessários para o planejamento de políticas públicas de saúde efetivas. Para Reis *et al.* (2018), regiões que apresentam maiores números do traço falciforme e da DF, devem receber prioridade em medidas de promoção da saúde aos pacientes com DF.

Em 2005, o Ministério da Saúde instituiu a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com DF e outras hemoglobinopatias e tem o objetivo de promover a longevidade, a qualidade de vida das pessoas diagnosticadas através do PNTN e instituir ações de educação permanente para os trabalhadores de saúde. Essas pessoas podem ter garantia de acompanhamento por equipe multidisciplinar na rede pública de saúde, assistência às diagnosticadas tardiamente, além disso, inclusão em um cadastro nacional de pessoas com tais doenças (Brasil, 2005).

Quanto a ocorrência de casos de hemoglobinopatias segundo a idade em dias no tempo decorrido entre a data de nascimento do RN e a data da coleta das amostras biológicas, tiveram as amostras coletadas no período considerado neonatal (0 – 28 dias

de vida) 93,5% dos RN detectados com hemoglobinopatias no estado. Desses entre o 3º e o 5º dia de vida, que é o período recomendado para a realização da TNB no Manual Técnico da TNB 30,3% dos RN tiveram as amostras coletadas (BRASIL, 2016).

É importante destacar que o município deve estar comprometido com a gestão do PNTN, uma vez que desse modo contribui para o registro do RN, a coleta no período recomendado e o envio ao serviço de referência (COSTA *et al.*, 2012). No período considerado pós-natal (acima do 28º dia) 6,3% dos RN foram detectados com hemoglobinopatias. A coleta em período superior ao 28º dia de vida pode ocorrer por dificuldades de acesso ao serviço de triagem, por morar em aldeias indígenas, negligência, além do diagnóstico ser realizado tardiamente, deve ser considerada como exceção (BRASIL, 2016).

Para Cardoso *et al* (2017), o propósito primário da TN das hemoglobinopatias é identificar RN com a DF e outras hemoglobinopatias, onde serão identificados também portadores assintomáticos (traço). Neste sentido o diagnóstico neonatal é fundamental para que sejam realizados o registro e o acompanhamento desses casos, o que proporciona a atenção integral à DF, uma melhor qualidade de vida e tratamento adequado (CANÇADO, JESUS, 2007; BRASIL, 2014).

Há menos de uma década a maior parte dos diagnósticos de hemoglobinopatias ocorriam tardiamente, se o RN fosse identificado como portador de hemoglobinopatia no período neonatal, o recomendado era que o mesmo deveria ser reavaliado laboratorialmente após o 6º mês de vida, assim as frações anômalas que aparecem em pouca quantidade, poderiam ser melhor avaliadas nesse período, (SIQUEIRA, *et al.*, 2002). Atualmente, com as técnicas de biologia molecular disponíveis em laboratórios, como os apresentados em nosso estudo, a reavaliação laboratorial não é necessária e a confirmação molecular pode ser realizada até o 5º dia de vida.

Ao discorrer sobre a realização da TNB em período não recomendado Carvalho *et al.* (2020) levantam a hipótese de que os pais podem não ter entendido as orientações sobre a importância da triagem neonatal, uma vez que recebem as informações em um momento de fragilidade que é o momento do nascimento do RN e pode gerar a incompreensão do período recomendado da coleta.

Os resultados sobre a ocorrência de hemoglobinopatias, segundo a idade em dias no momento da coleta, apontam que os municípios devem voltar a atenção para a realização da TN para hemoglobinopatias em período considerado oportuno, pois as coletas tardias comprometem a confirmação diagnóstica e conseqüentemente o início do tratamento. Para que haja o diagnóstico em tempo oportuno é essencial que as instituições de saúde, possuam logística adequada ou agenda com dias específicos após a coleta do TP para que o envio da amostra ao laboratório de referência ocorra o mais rápido possível.

Comparando os municípios que obtiveram menor e maior média de intervalo de dias entre DC e DA das amostras pelo laboratório de referência, podemos afirmar que a distância entre o município e o laboratório de referência não tem relação com a média de dias entre a coleta e a análise das amostras, uma vez que houve municípios distantes em km que realizaram o envio mais rápido as amostras. Os municípios de Arapuá e Anastácio são exemplo, pois obtiveram média de 4,5 a 5 dias e estão distantes do laboratório 313 – 292 km, e os municípios de Bonito e Eldorado com média de 20,5 a 26 dias, distantes 245 - 296 km.

O envio rápido das amostras para o laboratório de referência é extremamente importante, pois a demora compromete nas demais etapas, como uma possível coleta por falhas, resultado confiável, busca ativa dos suspeitos, confirmação diagnóstica e até no acompanhamento e tratamento adequado.

Faz parte da rotina dos profissionais de enfermagem a coleta do exame, a reconvocação quando necessário, o acondicionamento e o envio das amostras para o laboratório de referência. O Ministério da Saúde ressalta que o intervalo médio de tempo entre a coleta e o envio das amostras ao laboratório de referência é parte importante na gestão da atividade que envolve a TN (BRASIL, 2016).

Neste estudo não houve amostras com média de dias no intervalo entre a DC e DA maior que 28 dias, mas os municípios de Vicentina e Eldorado apresentaram média de dias de 27 e 26 dias, o que também indica falhas nas etapas já citadas, além do baixo comprometimento do município e dos profissionais envolvidos na coleta e envio das amostras.

Os autores Ferraz; Murão (2007), afirmam que a idade da criança no momento da coleta, o tempo de estocagem e o armazenamento da amostra, pode causar desnaturação da hemoglobina, pode interferir no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias.

Contudo, conhecer o cenário epidemiológico e monitorar indicadores de saúde no município se faz necessário para o enfermeiro, pois a partir disso esse profissional poderá traçar estratégias juntamente com a equipe e o gestor de saúde municipal para melhorar/facilitar o acesso da população a TN. Os autores Mendes, Santos, Bringel (2013), enfatizam que ocorre a redução da taxa da mortalidade infantil quando o cenário epidemiológico dos agravos que se sobressaem na fase neonatal é conhecido.

Assim, o enfermeiro é peça chave e fundamental quanto ao desenvolvimento de ações e implementação de medidas, para que às famílias recebam orientações e informações sobre as hemoglobinopatias, sobre os heterozigotos, às formas graves, a possibilidade de gerar filhos que tenham a DF e o período recomendado para a realização da TNB, uma vez que com a identificação precoce o tratamento também ocorrerá em período oportuno.

Ademais para Kikuchi *et al.* (2018), enfatizam que algumas medidas devem ser implementadas para garantir a eficácia da TNB como a divulgação de informações sobre as doenças, material informativo de linguagem fácil para os leigos e a qualificação dos profissionais de saúde com relação às coletas realizadas em período precoce, pois fatores como esses podem comprometer o tratamento, a adesão ao TP e o acompanhamento do RN e família.

Portanto é imprescindível com os resultados aqui apontados, pontuar a importância e a necessidade de investimentos e estudos como este. Os autores Rosenfeld *et al* (2019) afirmam que estudos assim são necessários para melhor caracterizar e identificar as hemoglobinopatias, impactando dessa forma na redução da morbimortalidade.

Essa pesquisa apresentou como limitações o acesso aos registros relacionados ao sexo e principalmente a raça/cor dos RN triados que como já mencionado, não nos possibilitou comparar com outros estudos, sugere-se a inclusão dessas variáveis no banco de dados do APAE/ IPED para estudos futuros.

A inexistência de banco de dados privado integrado ao sistema estadual da TNB, não nos possibilitou acesso ao número de RN triados na rede privada de saúde fora da APAE/IPED. A falta desse dado pode influenciar diretamente na baixa taxa de cobertura de triagem, dos RN.

Os diagnósticos confirmatórios fidedigno, de todos os RN com hemoglobinopatias foi possível por meio do trabalho do nosso grupo de pesquisa do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL, que apresenta tecnologias de diagnóstico, principalmente moleculares, e permite a confirmação antes do 6º mês de vida.

As contribuições dessa pesquisa para o enfermeiro e os gestores de saúde concentram-se nos seguintes pontos: 1) agrega conhecimento aos enfermeiros e gestores sobre as hemoglobinopatias; 2) evidencia a necessidade de capacitação para o enfermeiro e equipe que realizam a TNB; 3) afirma que o enfermeiro é o profissional mais importante na orientação e acolhimento das famílias e 4) aponta aos gestores quais são as macrorregiões de saúde e os municípios prioritários para o desenvolvimento de ações municipal, estadual e nacional referente às hemoglobinopatias.

CONCLUSÃO

Neste estudo, 1:45 NV apresentaram algum gene alterado para hemoglobinopatias e a macrorregião de saúde de Três Lagoas apresentou maior incidência de hemoglobinopatias por RN no estado do MS. O índice de cobertura no período do estudo (abril/2019 a julho/ 2020 foi de 84%).

O traço falciforme e o traço da Hb C apresentaram maior incidência por NV no estado, e foram os mais frequentes, esses não são achados inesperados pois esses perfis também são os mais frequentes em outras regiões do país. A incidência da DF foi de 1:4.749 NV e aumentou quando comparada a estudo anterior no estado do MS.

Os RN identificados com formas graves de hemoglobinopatias, servem de base para os gestores de saúde traçar estratégias de políticas públicas para atender as demandas desse grupo de pessoas que necessitam de apoio, tratamento constante além do planejamento e organização dos serviços de saúde e fluxo assistencial para a saúde neonatal.

A talassemia alfa com heterozigoto para a Hb S e Hb C seguida da Hb FCA (C/Beta talassemia) foram as mais frequentes o que pode ser justificado pela composição étnica das diferentes regiões do estado do MS.

Os resultados relacionados a DC das amostras segundo a idade em dias e a ocorrência de casos de hemoglobinopatias, mostrou que em relação às coletas acima de 28 dias são necessárias adequações dos municípios para que a realização da TN para hemoglobinopatias seja realizada em período preconizado pelo PNTN, pois as coletas tardias comprometem a confirmação diagnóstica e conseqüentemente o início do tratamento.

Atualmente, com as técnicas de biologia molecular disponíveis em laboratórios, como os apresentados em nosso estudo, a reavaliação laboratorial não é necessária e a confirmação molecular pode ser realizada até o 5º dia de vida, diferente do que ocorria há menos de uma década, onde o RN deveria ser reavaliado laboratorialmente após o 6º mês de vida.

Os resultados, contribuições científicas e tecnológicas obtidas com a realização desse estudo asseguram a construção de dados epidemiológicos das hemoglobinopatias

no estado do MS, permitindo a avaliação da distribuição das hemoglobinas anormais, o diagnóstico de heterozigotos e a possibilidade de aconselhamento genético.

Cabe destacar o importante papel do profissional enfermeiro na equipe multiprofissional, assim como da equipe de enfermagem, estes devem ser detentores do conhecimento a respeito das hemoglobinopatias e da TNB, então recomenda-se que, na formação do enfermeiro, sejam enfatizadas as doenças detectadas pela TNB, especificamente sobre as hemoglobinopatias, pois são os profissionais que estão presentes do pré-natal ao nascimento.

REFERÊNCIAS

- ÂNGULO, I.L.; PICADO, S.B.R. **Hemoglobina C em homozigose e interação com talassemia beta.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.31 no.6 São Paulo 2009 Epub Nov 27, 2009.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de diagnóstico e tratamento de doença falciforme.** Brasília, 2002. 142p.
- ARAÚJO, P.I.C. **O autocuidado na doença falciforme.** Revista brasileira de hematologia e hemoterapia, v.29, p.239-246, 2007.
- ARDUINI, G.A.; RODRIGUES, L.P.; MARQUI, A.B.T. **Mortality by sickle cell disease in Brazil.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2017; 39:52-6.
- AUDICIO, P. *et al.* **Primeros resultados del Plan Piloto de Pesquisa Neonatal de Hemoglobinopatías en Uruguay: first results in Uruguay.** Acta bioquím. clín. latinoam. La Plata, v. 51, n. 2, p. 243-248, jun. 2017.
- BALENSIEFER, T.K.; YAMAGUCHI, M.U. **Triagem neonatal de hemoglobinopatias em Maringá – PR.** RBAC.2018; 50(2 supl.2):S8-13.
- BALISTTA, N.T. **Doença Falciforme em Mato Grosso do Sul: uma análise epidemiológica.** 2017, 64f (Mestrado acadêmico em enfermagem) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, Campo Grande, 2017.
- BATISTTI, A.C. *et al.* **Conhecimento do enfermeiro sobre a importância e operacionalização do programa nacional de triagem neonatal.** Rev Enferm UFMS 2018 Abr/Jun;8(2): 288-303.
- BARBOSA, A.N.R. *et al.* **Prevalência de hemoglobinopatias em gestantes assistidas por um laboratório de saúde pública no Piauí.** JCS HU-UFPI. 2018 maio-ago.;1(2):73-84.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/ MS nº 1391, de 16 de agosto de 2005. **Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde as diretrizes para a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e Outras Hemoglobinopatias.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 ago. 2005. Seção 1, p. 40.
- BRASIL, Portaria nº 500, de 06 de maio de 2013. **Habilita o Estado de Mato Grosso do Sul na fase IV de Implantação do Programa Nacional de Triagem Neonatal.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 de maio de 2013. Seção 1, p. 70.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Doença Falciforme: condutas básicas para o tratamento.** Brasília, 2012. (Série B. Textos Básicos de Saúde).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Doença falciforme: condutas básicas para tratamento.** Brasília: Ministério da Saúde, 2013a.
- BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Coordenação-Geral de Atenção Especializada. **Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal / Ministério da Saúde,** Secretaria de

Assistência à Saúde, Coordenação Geral de Atenção Especializada. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações para diagnóstico e tratamento das Talassemias Beta.** Brasília: Ministério da Saúde; 2016a.

BRASIL, Ministério da saúde. **Triagem Neonatal Biológica: Manual Técnico.** Brasília, 2016b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Triagem Neonatal – CGSH/DAET/SAS/MS; Indicadores da Triagem Neonatal no Brasil, 2018.** Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/indicadores-da-triagem-neonatal-no-brasil>

BRASIL. Ministério da Saúde. PORTARIA GM/MS Nº 822, DE 6 DE JUNHO DE 2001. **Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde o Programa Nacional de Triagem Neonatal/PNTN.** Diário Oficial da União. Poder executivo Brasília, DF, 7 jun. 2001b. Seção 1, p. 33.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Assistência Hospitalar e de Urgência. **Doença Falciforme o que se deve saber sobre herança genética.** Brasília – DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Doença Falciforme diretrizes básicas da linha de cuidado.** Brasília – DF, 2015.

BELINI JUNIOR, Édis *et al.* **Severity of Brazilian sickle cell disease patients: severity scores and feasibility of the bayesian network model use.** Blood Cells, Molecules & Diseases, v. 54, p. 321-327, 2015.

BERTHOLO, L.C.; MOREIRA, H.W. **Focalização isoeétrica na identificação das hemoglobinas.** J Bras Patol Med Lab. v. 42. n. 3. p. 163-168. junho 2006.

BONINI-DOMINGOS, C.R. **Hemoglobinopatias no Brasil: variabilidade genética e metodologia laboratorial.** 1993. 232 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 1993.

BONINI-DOMINGOS, C.R. **Metodologias Laboratoriais para o diagnóstico de Hemoglobinopatias e Talassemias.** São José do Rio Preto – SP: HN Editora, 2006.

BONINI-DOMINGOS, C.R. **Thalassemia screening in Brazil – Results for 20 years.** Rev. bras. hematol. hemoter. 2004;26(4):288-289.

CALVO-GONZALEZ E. **Hemoglobinas variantes na área médica e no discurso cotidiano: um olhar sobre raça, nação e genética no Brasil contemporâneo.** Saúde Soc 2017; 26(1): 75-87.

CANÇADO, R.D.; JESUS, JA. **A doença falciforme no Brasil.** Rev. Bras, Hematol, Hemoter. São José do Rio Preto, v. 29, n. 3, 2007.

CARDOSO, C.S. *et al.* **Triagem neonatal de hemoglobinopatias no estado do Rio Grande do Sul no período de 2004 a 2017.** Bol Cient Pediatr. 2017;06(3):77-84.

CARLOS, A.M. *et al.* **Hemoglobinopathies in newborns in the southern region of the Triângulo Mineiro, Brazil. Cross-sectional study.** Sao Paulo Med. J. [online]. 2015, vol.133, n.5.

CARVALHO, B.M. *et al.* **Acesso precoce à triagem neonatal biológica: articulação entre ações de programas de atenção à criança.** Rev. Latino-Am. Enfermagem vol.28 Ribeirão Preto 2020 Epub May 11, 2020.

CHIAPPE, G. **Talassemias: Aspectos clínicos.** Acta bioquím. clín. latinoam., La Plata, v. 51, n. 3, p. 281-289, sept. 2017.

CHINELATO-FERNANDES, A.R. **Diferenciação molecular de mutantes de hemoglobinas humanas na população brasileira.** 2003. 239 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2003.

COSTA, V.A. *et al.* **Estimation of the frequency of Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin in Brazil.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 18(5):1469-1471, set-out, 2002.

COSTA, S.N. *et al.* **Triagem neonatal para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e hemoglobinopatias no recôncavo baiano: avaliação da cobertura em Cruz das Almas e Valença, Bahia, Brasil.** Rev. baiana saúde pública ; 36(3)jul.-set. 2012.

DAUTH, L.E. *et al.* **Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** Cad Saude Publica. 2002;18(3):833-41. Portugueses.

DI NUZZO, D.V. P; FONSECA, S.F; **Anemia falciforme e infecções.** J Pediatria. 2004; 80(5):347-54.

ECHEVERRY-CORAL, S.J. *et al.* **Hemoglobinopathy detection through an institutional neonatal screening program in Colombia.** J. Bras. Patol. Med. Lab. vol.52 no.5 Rio de Janeiro set./ out. 2016.

ELLER, R.; SILVA, D.B. **Evaluation of a neonatal screening program for sickle-cell disease.** J. Pediatr. (Rio J.) vol.92 no.4 Porto Alegre July/Aug. 2016.

ERRAMOUSPE, B.; EBERLE, S.J.E. **Técnicas convencionais aplicadas ao diagnóstico de hemoglobinopatias.** Registro bioquímico. clin. latinoam. vol.51 no.3 Conjunto La Plata. 2017.

FERRAZ, M.H.C.; MURAO, M. **Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.29 no.3 São José do Rio Preto July/Sept. 2007.

FERREIRA, L.S.; BACH, S.L. **Hemoglobinopatias: distúrbios da hemoglobina no Brasil e diagnósticos laboratoriais.** Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde, Curitiba, n. 20, maio-ago. 2018.

- FIGUEIREDO, M.S. **Comments on: “Clinical, hematological and genetic data of a cohort of children with hemoglobin SD”**. Rev Bras Hematol Hemoter. 2016;38(3):190–192.
- FREITAS, S.L.F. *et al.* **Qualidade de vida em adultos com doença falciforme: revisão integrativa da literatura**. Rev Bras Enferm [Internet]. 2018;71(1):207-17.
- GALANELLO, R.; ORIGA, R. **Beta-thalassemia**. Orphanet J Rare Dis, v. 5, p. 112010.
- GLADWIN, M.T. **Cardiovascular complications in patients with sickle cell disease**. *Hematology*. 2017;2017(1):423-30.
- GOVERNO DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL - Secretaria de estado de saúde de mato grosso do sul. **Relatório detalhado do primeiro quadrimestre de 2019**. Disponível em: www.saude.ms.gov.br. Acesso em: 25/07/2021.
- HOLANDA, M.F.L. *et al.* **A enfermagem e a educação no teste do pezinho**. Ciências Biológicas e da Saúde, Maceió v. 3 n.2 p. 81-94 abril 2016 periodicos.set.edu.br
- HOLSBACH, D.R. *et al.* **Ocorrência de hemoglobina S no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. J Bras Patol Med Lab. v. 44 n. 4 p. 277-282, agosto 2008.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico, 2010**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ms/panorama>. Acesso em: 25/07/2021.
- KIKUCHI, B.A. *et al.* **Evaluation of the implantation of the national neonatal screening program regarding coverage index, disease prevalence and sickle cell trait in Mato Grosso do Sul - Brazil: 2001 – 2015**. International Journal of Development Research, Vol. 08, Issue, 03, pp.19279-19283, March, 2018.
- KIMURA, E.M. *et al.* **Identificação e caracterização de variantes novas e raras da hemoglobina humana** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.30 no.4 São José do Rio Preto July/Aug. 2008.
- KOPACEK, C. *et al.* **Evolução e funcionamento do Programa Nacional de Triagem Neonatal no Rio Grande do Sul de 2001 a 2015**. Boletim Científico de Pediatria - Vol. 4, N° 3, 2015.
- LACERDA, G.S.L. *et al.* **Triagem neonatal: o panorama atual no estado do Amapá**. Vigil. sanit. debate 2017;5(2):89-96.
- LAHIRI, D.K.; NURNBERGER, J.I. **A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies**. Nucleic acids research, v. 19, n. 19, p. 5444, 1991.
- LEITE, D.C.F. *et al.* **Distribuição espacial de recém-nascidos com traço falciforme em Sergipe**. Rev Paul Pediatr. 2020;38: e2018229.
- LEONELI, G.G. **Hemoglobina D – Caracterização eletroforética e molecular**. São José do Rio Preto, 2001. Dissertação (Mestrado em Genética) - Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista.
- LOIOLA, K.J. *et al.* **Anemia Falciforme: conhecimento do enfermeiro sobre o desenvolvimento da doença**. Cadernos ESP, Ceará 11(1): 18-28, jan./jul. 2017.
- MARQUI, A.B.T. **Teste do pezinho e o papel da enfermagem: uma reflexão**. Rev Enferm Atenção Saúde 5(2):96-103 ago-dez, 2016.

- MELO-REIS, P.R. *et al.* **Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil.** J Bras Patol Med Lab. v. 42. n. 6. p. 425-430. dezembro 2006.
- MENDES, C.A. *et al.* **Conhecimento de pais quanto a triagem neonatal, contribuição do website Portal dos Bebês - Teste do pezinho.** Rev. CEFAC. 2017 Jul-Ago; 19(4):475-483.
- MENDES, L.C.; SANTOS, T.T.; BRINGEL, F.A. **Evolução do Programa de Triagem Neonatal no Estado do Tocantins.** Arq Bras Endocrinol Metab. 2013;57/2.
- MENEZES, F.L. *et al.* **Conhecimento das mães acerca do teste do pezinho.** Revista de Saúde Pública do Paraná, Londrina, v. 17, n. 2, p. 220-228, dez/ 2016.
- MESQUITA, A.P.H.R. *et al.* **Profissionais de Unidades Básicas de Saúde sobre a triagem neonatal.** Rev. Ciênc. Méd., Campinas, 26(1):1-7, jan/abr., 2017.
- MOUSINHO-RIBEIRO, R.C. *et al.* **Importância da avaliação da hemoglobina fetal na clínica da anemia falciforme.** Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(2):136-141.
- NAIK, R.P; J.R HAWOOD, C. **Sickle cell trait diagnosis: clinical and social implications.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015;2015(1):160-7.
- NAOUM, P.C. **Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme.** Rev. Bras. Hemotol. Hemoter. 2000: 22(1):05-22.
- NAOUM, P.C; BONINI-DOMINGOS, C.R. **Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.29 n.3 São José do Rio Preto July/Sept. 2007.
- NAOUM, P.C. **Doenças dos eritrócitos.** São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia, 2014.
- NAOUM, P.C.; NAOUM, F.A. **Biologia social da doença falciforme.** In: Naoum P.C, Naoum F.A. Doença das células falciformes. São Paulo: Sarvier, 2004, p.188-90.
- NICOLATO, R.L.C. *et al.* **Prevalência de hemoglobinopatias nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia – UFOP.** RBAC.2018;50(2 supl.2):S25-9.
- NUNES, A.K.C. *et al.* **Prevalence of disorders detected by newborn screening in Santa Catarina.** Arq Bras Endocrinol Metabol. 2013;57(5):360-7.
- NUNES, D. *et al.* **Prevalência e aspectos epidemiológicos de pacientes com hemoglobinopatias em um ambulatório de aconselhamento genético.** CuidArte Enfermagem, 2017 jan.-jun.; 11(1): 100-103.
- OLIVEIRA, E.F.; SOUZA, A.P. **A Importância da Realização Precoce do Teste do Pezinho: O Papel do Enfermeiro na Orientação da Triagem Neonatal.** Id on Line Rev. Psic. V.11, N. 35. maio/2017.
- OLIVEIRA, G.L.V.; MENDIBURU, C.F.; BONINI-DOMINGOS, C.R. **Avaliação do perfil hematológico de portadores de talassemia alfa provenientes das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. São José do Rio Preto, v. 28, n. 2, p. 105-109, June 2006.

PAPAYANNOPOULOS, R.; STAMATOYANNOPOULOS, G. **Stains for inclusions bodies. Standardization of laboratory reagents and methods for detection of haemoglobinopathies.** Atlanta: Hew publications, 1974.

PIEL, F.B.; STEINBERG, M.H.; REES, D.C. **Sickle cell disease.** N Engl J Med. 2017;376(16):1561-73.

POMPEO, C.M. *et al.* **Fatores de risco para mortalidade em pacientes com doença falciforme: uma revisão integrativa.** Escola Anna Nery 24(2)2020.

RAMOS, J.T. *et al.* **Mortalidade por doença falciforme em estado do nordeste brasileiro.** R. Enferm. Cent. O. Min. 2015 mai/ago; 5(2):1604-1612.

REIS, E.F.S.; PARTELLI, Adriana Nunes Moraes. **Teste do pezinho: conhecimento e atitudes dos profissionais de enfermagem.** Rev. Bras. Pesq. Saúde, Vitória, 16(1): 25-33, jan-mar, 2014.

REIS, F.M.S. *et al.* **Incidência de hemoglobinas variantes em recém-nascidos atendidos em laboratório de saúde pública.** Einstein (São Paulo) vol.16 no.2 São Paulo 2018 Epub 07-Jun-2018.

REZENDE, P.V. *et al.* **Clinical and hematological profile in a newborn cohort with hemoglobin SC.** J Pediatr (Rio J). 2018;94(6):666-672.

RODRIGUES, H.A. *et al.* **Prevalência de hemoglobinopatias em neonatos no estado do PI.** REAS/EJCH | Vol.11(4), 2019.

ROSENFELD, L.G. *et al.* **Prevalência de hemoglobinopatias na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde 2014–2015.** Rev bras epidemiol 2019; 22 (SUPPL 2): E190007. SUPPL.2.

SAIKI, R.K. *et al.* **Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.** Science, v. 230, n. 4732, p. 1350-1354, 1985.

SALES, R.L.U.B. *et al.* **Analysis of blood quality screening in neonatal.** J Nurs UFPE on line. 2015; 9(2):677-82.

SANKARAN, V.G; ORKIN, S.H. **The switch from fetal to adult hemoglobin.** Cold Spring Harb Perspect Med. 2013 Jan; 3(1): a011643.

SANTOS, E.C. *et al.* **O conhecimento de puérperas sobre a triagem neonatal.** Cogitare Enferm. 2011 Abr/Jun; 16(2):282-8.

SCHECHTER, A.N. **Hemoglobin research and the origins of molecular medicine.** BLOOD, 15 november 2008. Volume 112, number 10.

SILVA, C.A. *et al.* **Triagem neonatal de hemoglobinopatias no município de São Carlos, São Paulo, Brasil: análise de uma série de casos.** Rev Paul Pediatr 2015; 33(1): 19-27.

SILVA-PINTO, A.C. *et al.* **The Neonatal Screening Program in Brazil, Focus on Sickle Cell Disease (SCD).** Neonatal Screen. 2019 Jan 26;5(1):11.

SILVA, K.R.; YAMAGUCHI, M.U. **Os benefícios da inclusão das hemoglobinopatias na triagem neonatal.** Arq Cienc Saude Unipar (Umuarama). 2007;11(1):67-73.

SILVA, M.P.C. *et al.* **Teste do pezinho: percepção das gestantes nas orientações no pré-natal.** Rev. Bras. Saude Mater. Infant. [online]. 2017, vol.17, n.2.

SIQUEIRA, F.A.M. *et al.* **Diagnóstico de hemoglobinopatias em recém-nascidos do Hospital de Base de São José do Rio Preto-SP.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.24 no.04 São José do Rio Preto Oct/Dec. 2002.

SILVESTRONI, E.; BIANCO, I. **Screening for microcytemia in Italy: analyses of data collected in the past 30 years.** American Journal of Human Genetics, v. 27, n. 2, p. 198-212, 1975.

SOARES L.F. *et al.* **Prevalência de hemoglobinas S e C em heterozigose em duas comunidades de terreiros na cidade de Teresina, Piauí.** Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2015; 36 (1): 91-5.

SOARES, L.F. *et al.* **Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas no estado do Piauí, Brasil.** Ciência & Saúde Coletiva, 22(11):3773-3780, 2017.

SOLÍS-SOLÍS, M. **Detección de variantes de hemoglobina en pacientes examinados por hemoglobina A1c.** Acta med. costarric vol.61 n.4 San José out./ dez. 2019.

SONATI, M.F.; COSTA, F.F. **The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies.** The Journal of Pediatrics, Rio de Janeiro, v. 84 n. 4, suppl., p. S40-S51, 2008.

SOUZA, I.M.; ARAÚJO, E.M. **Doença Falciforme e triagem neonatal: Um debate necessário.** RSC UEFS. 2015; 5: 51–58. doi: 10.13102 / rscdauefs. v5 1.1011.

STEINBERG, M.H. *et al.* **Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment.** JAMA. 2003; 289(13):1645-51.

THERRELL, B.L. *et al.* **Current status of newborn screening worldwide: 2015.** Seminars in Perinatology, v. 39, p. 171-187, 2015.

TORRES, L.S. *et al.* **Hemoglobina D-Punjab: origem, distribuição e diagnóstico laboratorial.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2015; 37 (2): 120-6.

TORRES, L.S. *et al.* **Phenotypic Diversity of Sickle Cell Disease in Patients with a Double Heterozygosity for Hb S and Hb D-Punjab.** Hemoglobin, v. 1, p. 1-7, 2016.

TRINDADE, E.L. *et al.* **Distribuição por mesorregião dos casos de anemia e traço falciforme que realizaram a triagem neonatal no Estado do Pará, Brasil no período de 2013 a 2017 Braz.** J. Hea. Rev., Curitiba, v. 2, n. 6, p. 5477-5487 nov./dec. 2019.

VELLA, F. **Acid agar gel electrophoresis oh human hemoglobins.** American Journal of Clinical Pathology, v. 49, n. 3, p. 440-442, 1968.

World Health Organizations. **Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators.** Bulletin of the World Health Organization [Internet].

2008. 86(6): 417-96. Acesso em 25/07/2021. Disponível em:
<https://www.who.int/bulletin/volumes/86/6/06-036673/enf/>.

APÊNDICE

Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa “Diagnóstico Laboratorial, Capacitação Profissional e Orientação Genética das Hemoglobinopatias” sob responsabilidade do pesquisador Edis Belini Junior. O estudo tem como objetivo de diagnosticar precisamente a suspeita de hemoglobinas anormais, sinalizado pelos profissionais de saúde do Centro/Unidade de Saúde. O estudo permitirá que você tenha um diagnóstico preciso de sua condição genética para hemoglobinopatias com o propósito de, para caso clinicamente significativo, receber orientação de conduta e tratamento adequado por meio dos profissionais de saúde do centro/unidade de saúde; para caso assintomático, receber orientação genético-educacional para as hemoglobinopatias. Após o término da pesquisa, uma vez diagnosticado corretamente, o profissional de saúde manterá as condutas de tratamento adequada em todo o seu acompanhamento clínico. Se você não concordar em participar do estudo, o acompanhamento de sua condição não sofrerá nenhuma interferência e seu atendimento no centro/unidade de saúde não será impedido. Para participar do estudo será necessário a coleta de amostra de sangue e o risco é considerado mínimo, caracterizado pela possibilidade de mancha roxa no local da punção. Você poderá consultar o pesquisador responsável em qualquer época, pessoalmente ou por telefone, para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa e o seu acompanhamento no centro/unidade de saúde não será interferido. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e, estes últimos só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato destes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. O material biológico cedido será

armazenado e você poderá ser chamado para dar a sua autorização para novo (s) projeto (s). Caso isso seja impossível, seu material biológico somente será utilizado mediante aprovação pelo CEP ou pela CONEP.

Assim, concordo em participar do projeto de pesquisa em questão.

Nome: _____ R.G.: _____

Endereço: _____ Fone: _____

_____, _____ de _____ 2018.

Participante

Pesquisador responsável

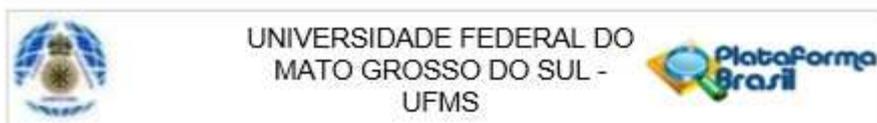
OBS: Este termo apresenta duas vias, uma destinada ao participante ou seu representante e a outra ao pesquisador.

Pesquisador Édís Belini Junior, Cargo/função: Professor de Genética Humana, Instituição: UFMS – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Câmpus de Três Lagoas/MS, Endereço: Av: Ranulho Marques Leal, 3484 – Distrito Industrial, Unidade VIII – Prédio Medicina, Três Lagoas – MS, (67) 3504-3743.

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária, Caixa postal 549, Campo Grande-MS, (67) 3345-7187

ANEXO

Anexo 1 - Parecer Consubstanciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO DAS HEMOGLOBINAS ANORMAIS NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL

Pesquisador: EDIS BELINI JUNIOR

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 83109518.5.0000.0021

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.740.602

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo transversal observacional e descritivo que será realizado durante 18 meses com objetivo de avaliar os recém-nascidos com alterações de hemoglobinas anormais não conclusivas identificadas pelo Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnóstico da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Campo Grande (IPED/APAE), centro de referência credenciado pelo SUS, responsável pelos exames de Triagem Neonatal do estado de Mato Grosso do Sul.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Implementar metodologias de diagnóstico confirmatório para as hemoglobinopatias não conclusivas, identificadas em recém-nascidos pelo Serviço de Referência em Triagem Neonatal do estado de Mato Grosso do Sul, e com o refino de diagnóstico, estudar a frequência e distribuição das hemoglobinas anormais e suas interações no estado do MS.

Objetivos específicos:

- Desenhar e padronizar estratégias de diagnóstico confirmatório para as hemoglobinas anormais de recém-nascidos e familiares;

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
 Bairro: Caixa Postal 545 CEP: 79.070-110
 UF: MS Município: CAMPO GRANDE
 Telefone: (57)3345-7187 Fax: (57)3345-7187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 2.740.802

- Padronizar estratégias moleculares para as hemoglobinas variantes, talassemias e persistência hereditária de hemoglobina fetal encontradas na população de estudo;
- Caracterizar as hemoglobinas variantes de cadeia beta e alfa globina e suas interações encontradas na população de estudo;
- Identificar as mutações de beta e alfa talassemia e relacionar as evidências hematológicas para estabelecer diagnóstico diferencial das anemias microcíticas hipocrômicas;
- Estabelecer algoritmo de diagnóstico laboratorial para ser validado e reproduzido em outras unidades/laboratórios de diagnóstico do estado;
- Catalogar e criar diferentes padrões eletroforéticos e cromatográficos para os perfis de hemoglobinas anormais;
- Compilar os resultados obtidos durante os 18 meses de estudo afim de levantar a frequência dos genes anormais para as hemoglobinopatias no estado de MS.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o pesquisador:

Riscos:

Os participantes da pesquisa estarão expostos somente a um risco físico considerado mínimo, caracterizado pela possibilidade de hematoma no local da punção de sangue ficando garantido a indicação de medicamento em gel para diminuir o inchaço e vermelhidão. Não serão gerados desconfortos psíquico, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual aos participantes.

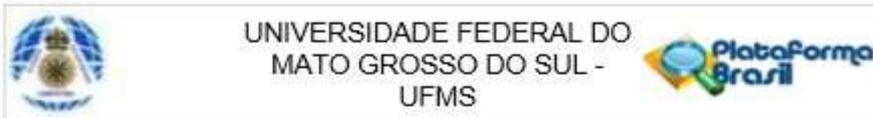
Benefícios:

Os benefícios da pesquisa estão relacionados ao diagnóstico preciso das hemoglobinopatias com o propósito de, para caso clinicamente significativo, receber orientação de conduta e tratamento adequado por meio dos profissionais de saúde do próprio IPED. Para caso assintomático, receber orientação genético educacional da sua afecção genética. Após o término da pesquisa, uma vez diagnosticado corretamente, o profissional de saúde manterá as condutas de tratamento adequada em todo o seu acompanhamento clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trabalho com relevância científica e social. De acordo com o que se propõe, o pesquisador esclarece as situações elencadas conforme a resolução.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
 Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
 UF: MS Município: CAMPO GRANDE
 Telefone: (67)3345-7187 Fax: (67)3345-7187 E-mail: bloetica@propp.ufms.br



Continuação do Parecer: 2.740.802

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 27 de Junho de 2018

Assinado por:
Edilson José Zafalon
(Coordenador)

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
UF: MS Município: CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 Fax: (67)3345-7187 E-mail: bloetica@propp.ufms.br