

**A IMPORTÂNCIA DO ACOMPANHAMENTO NEONATAL NO DIAGNÓSTICO DE
ANEMIA FALCIFORME**
*THE IMPORTANCE OF NEONATAL FOLLOW-UP IN THE DIAGNOSIS OF SICKLE CELL
ANEMIA*

Carvalho, Natália Valéria¹; Marino, Smyrna Meucci Martins¹; Cristofani, Renata²

Graduando do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco;

nataliavcarvalho@outlook.com; smyrnameucci07@gmail.com

RESUMO. O presente trabalho aborda a pesquisa sobre a importância da triagem neonatal para o diagnóstico da anemia falciforme, onde foram realizados levantamentos de dados e comparações por meio de revisão bibliográfica de artigos científicos, com a finalidade de mostrar como essa triagem tem resultados, e que a descoberta precoce da doença é importante para a saúde da criança, e para preparação e estrutura familiar. A anemia falciforme é uma doença genética que por sua gravidade e frequência, é considerada um problema de saúde pública. Por esse motivo, a necessidade de testes que pudessem diagnosticar precocemente a doença, foi relevante. No Brasil o teste de triagem para diagnóstico de anemia falciforme, é conhecido popularmente como “Teste do Pezinho”.

Palavras-chave: Triagem neonatal, anemia falciforme, diagnóstico precoce e tratamento, Teste do Pezinho.

ABSTRACT. The present paper addresses research on the importance of neonatal screening for the diagnosis of sickle-cell anemia, in which data collection and comparisons will be made by means of a bibliographic review of scientific articles, in order to show how this screening has results, and that early discovery of the disease is important for the child's health, and for family preparation and structure. Sickle-cell anemia is a genetic disease that, due to its severity and frequency, is considered a public health problem. For this reason, the need for tests that could diagnose the disease early was relevant. In Brazil, the screening test for diagnosis of sickle-cell anemia is the "Teste do Pezinho"

Keywords: Sickle cell anemia, newborn screening test, early diagnoses and treatment and neonatal screening

1- INTRODUÇÃO

A triagem neonatal é uma ação preventiva que permite a realização do diagnóstico precoce em várias doenças: metabólicas, genéticas, enzimáticas e endocrinológicas, no período neonatal. (BANDEIRA, FLÁVIA et al, 2007). O termo origina-se do vocábulo francês *triage* que significa seleção e em saúde pública triar significa identificar, e dentre uma população de assintomáticos que podem desenvolver determinada doença têm o grande benefício de descobrir precocemente, e assim entrar com a ação preventiva e necessária. (DIAS REIS, CAROLINA et al, 2021).

O procedimento de triagem pode ser capaz de mudar vidas a partir da história natural da doença, com a identificação, por teste específicos levando ao tratamento adequado com o objetivo de diminuir os riscos e danos provenientes da doença, aumentando assim a expectativa e qualidade de vida. (NUZZO V.P.DI, DAYANA et al, 2004)

No Brasil toda a criança nascida tem o direito e obrigação por lei (nº 14.154/2021 disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde) a realizar o teste de triagem neonatal conhecido como Teste de Guthrie, popularmente chamado de “Teste do Pezinho”. A partir desse teste que é realizado do 3º ao 5º dia de vida, é possível detectar se o recém-nascido é portador de alguma anomalia hematológica, e então é realizado o exame de eletroforese de hemoglobina, ou outros testes que também são utilizados, para confirmar o diagnóstico de anemia falciforme. (LABORATÓRIO DE TRIAGEM NEONATAL DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO – USP, 2011). O momento da coleta de sangue para realização do método, deve ser dentro de 48 horas de amamentação e jamais ser superior a 30 dias de vida, coletando sangue do calcanhar do bebê. (SIQUEIRA, BRUNA et al, 2009).

O Ministério da Saúde instituiu o PNTN (Programa Nacional de Triagem Neonatal) e nele foi inserido a triagem para detecção da anemia falciforme, uma doença hereditária e genética, em que os glóbulos vermelhos do sangue possuem uma forma de foice, ocasionada pela hipóxia da célula. Essa alteração ocorre por conta da hemoglobina S, que foi originada de uma mutação no cromossomo 11. (MANFREDINI, VANUSA et al, 2007).

Por conta do seu formato, os eritrócitos não conseguem realizar suas atividades fisiológicas corretamente, e podem obstruir vasos sanguíneos capilares devido à má circulação. Por esses motivos, as manifestações clínicas da anemia falciforme podem ser graves e já podem ser manifestas nos primeiros meses de vida. (MENDONAÇA, ANA et al, 2009). Os sintomas mais comuns incluem palidez, icterícia, fadiga e dores intensas, distúrbios de crescimento e de maturidade sexual, e até acidente vascular cerebral ou mesmo a morte, em casos mais severos. (SIQUEIRA, BRUNA et al, 2009)

O traço genético deixado pela mutação do cromossomo 11 é chamado de traço falcêmico, e é possível um indivíduo possuir esse traço em apenas um dos alelos, ou seja, ser heterozigoto, nesse caso esse indivíduo será assintomático. O indivíduo que for homozigoto, ou seja, possuir os dois alelos iguais com o traço falcêmico, será sintomático, e diagnosticado com anemia falciforme. (WHITLEY, KIM, 2009)

A anemia falciforme é a doença hereditária mais dominante no Brasil, tendo origem africana, tornando-se mais comum no país por conta da miscigenação. Estima-se que cerca de 4% da população brasileira possui o traço falcêmico no estado heterozigótico, e que 25.000 a 50.000 pessoas o tenham em estado homozigoto (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Atualmente é considerada uma questão de saúde pública, por sua frequência e gravidade. Por esse motivo, foi criado o programa de triagem neonatal para síndromes falciformes e hemoglobinopatias, que teve seu início na década de 50, e que ganhou espaço e reconhecimento pelo seu caráter preventivo no campo da pediatria, o que tem auxiliado no diagnóstico precoce da doença, e consequentemente levado a criação de programas de aconselhamento, orientação e amparo para os familiares com uma criança diagnosticada com anemia falciforme. (ANVISA, 2002).

Em alguns países já existem métodos de diagnóstico de anemia falciforme que podem ser realizados durante a gravidez, a partir do 3º mês de gestação, usando técnicas de análise de DNA para realizar o exame de vilosidades coriônicas, e analisando o líquido amniótico. (ARISHI, WJDAN et al, 2021). Por conta do alto custo de tais procedimentos, no Brasil e em outros países de baixa renda torna-se inviável esses métodos, além de poder ocorrer interrupção da gravidez durante o processo. (BANDEIRA, FLÁVIA et al, 2007). Entre os diversos métodos de diagnóstico da doença falciforme, os mais utilizados incluem eletroforese de hemoglobina, eletroforese com focagem isoeletrica (FIE) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). (NNODU, OBIAGELI et al, 2020).

Cada um desses métodos tem limitações importantes para escalar um programa nacional de amplo alcance em ambientes de baixa renda. A partir da realização do teste de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), é possível detectar anomalia molecular, seguida de sequenciamento do DNA ou digestão com uma enzima de restrição apropriada. Esse teste é o método mais utilizado no diagnóstico pré-natal da doença falciforme, ou em alguns casos de difícil diagnóstico pela eletroforese de hemoglobina. (COSTA, FERNANDO et al, 2014).

Descobrir a doença e o traço falciforme é de grande importância para a intervenção precoce e planejamento familiar, por se tratar de uma doença genética. Esse diagnóstico precoce pode aumentar a expectativa e qualidade de vida do recém-nascido, auxiliando as famílias para programas de aconselhamento, orientação e amparo.

O atual projeto tem o intuito de analisar a importância do acompanhamento neonatal para o diagnóstico precoce da Anemia Falciforme, em que seja possível obter a sua conscientização, e comparar os diferentes testes existentes para diagnóstico da doença, e seus métodos, por meio de pesquisas e comparações entre o Brasil, África e Estados Unidos.

2- METODOLOGIA

O projeto é uma revisão bibliográfica utilizando o livro: Hematologia Clínica (Da Antunes, Symara et al. 2019) e as plataformas de busca: Google Acadêmico, SCIELO (Scientific Eletronic Library Online) e PubMed. Nessas plataformas foram realizadas buscas de artigos científicos nos idiomas português e inglês por meio das palavras – chaves: anemia falciforme (sickle cell anemia), teste do pezinho (newborn screening test), diagnóstico precoce e tratamento (early diagnoses and treatment) e triagem neonatal (neonatal screening).

A partir da leitura dos resumos, foram selecionados os artigos que possuíam informações sobre o que é a anemia falciforme, sua incidência em países no Brasil, Estados

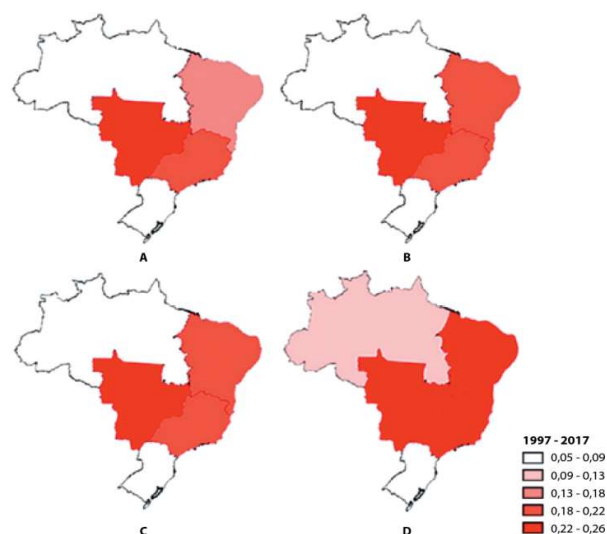
Unidos e África, a importância da realização da triagem neonatal e, quais os métodos de diagnóstico, e suas comparações para a consolidação do projeto.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Incidência da anemia falciforme no Brasil, África e EUA.

No Brasil, por ano nascem aproximadamente 3 mil crianças com a doença falciforme. A incidência está em torno de 1:1.000 dos nascidos vivos com a doença; e 1:35 dos nascidos vivos com o traço falcêmico. A triagem neonatal e a criação do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) para famílias afetadas pela anemia falciforme já é existente no Brasil desde 2001, tem com o objetivo diminuir a incidência de mortalidade na primeira infância (RAMOS et al., 2020).

Cerca de 2% a 8% da população brasileira tem anemia falciforme, e a taxa de mortalidade entre crianças menores de 9 anos, é de 37,5%. Essa taxa que poderia ser maior se não fosse o programa de triagem, que no Brasil é resumido pelo Teste de Guthrie, ou popularmente conhecido como Teste do Pezinho, e do suporte e atenção as famílias afetadas pela doença. Por essa prevalência, e pelo alto grau de miscigenação no Brasil, é de suma importância o esclarecimento e o aconselhamento genético para a família e portadores da doença. (MIRANDA, JEOVANA et al. 2021).

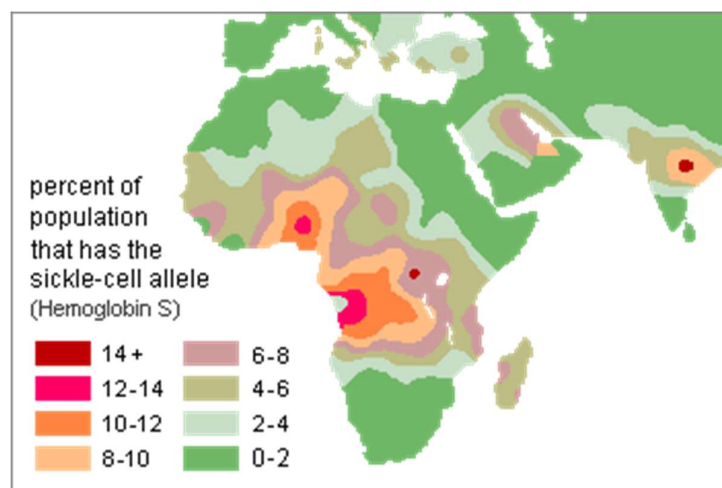


Fonte: MOTA et al. 2022

Figura 1- Análise da tendência temporal da mortalidade por anemia falciforme no Brasil.

Um sistema de atenção e cuidado de qualidade objetiva reduzir a taxa de mortalidade na primeira infância do índice típico de 80% para 1,8%, o que ressalta a importância do tratamento. Existe a publicação por meio de servidores capacitados pelo Ministério da Saúde para prestação de assistência em Doenças Falciformes, por meio de manuais, textos básicos e outros documentos informativos com linguagem apropriada para fácil entendimento de todos. Também realiza e apoia eventos educativos sobre o tema e suas variantes.

Na África, local em que a anemia falciforme se originou e expandiu-se, por meio da miscigenação devido ao fluxo migratório dos escravos de inúmeras ilhas do continente, é também onde se concentra atualmente o maior número de recém-nascidos afetados pela anemia falciforme, estimando-se mais de 200.000 anualmente. Nesse continente, a doença falciforme está associada a uma alta taxa de mortalidade infantil, cerca de 50% à 90% das crianças africanas homozigotas para hemoglobina S, morrem precocemente na infância. (ALAPAN, YUNUS et al, 2017). Isso ocorre devido à falta de programas de triagem neonatal para o diagnóstico da doença, que resultaria em um diagnóstico precoce, e possibilitaria a preparação da família e o tratamento adequado ao recém-nascido.



Fonte: Ministério da Saúde; ALVES et al. 2015

Figura 2 – Percentual da população com alelo da hemoglobina S na África.

Nos Estados Unidos foram desenvolvidos estudos na década de 1980, que promoveram uma melhor compreensão da Doença Falciforme (DF), e que conseguiu se expandir devido ao incentivo e financiamento que o país proporcionou. (PIEL, FRÉDÉRIC B et al. 2017). Os programas de conscientização e educação foram ampliados juntamente com os programas de aconselhamento, e os programas universais de triagem neonatal que agora garantem diagnóstico de qualidade e intervenções precoces (KATO, GREGORY J et al. 2018).

Não se sabe ao certo o percentual real da população atingida pela Doença Falciforme nos Estados Unidos, mas as estimativas são de aproximadamente 100.000 recém-nascidos. Os avanços no enfrentamento da doença, com ações de diagnóstico e tratamento precoce, realizados pelos Estados Unidos, levaram a diminuição da mortalidade pela doença de 26%

para 2% nos primeiros 18 anos de vida do indivíduo, com o maior progresso demonstrado por uma queda de mortalidade nos anos um e quatro de vida, de 13% para 2%. Nos EUA, a forma heterozigota afeta aproximadamente 8% da população negra. (HASSELL, KATHRYN L 2010).

3.2 A importância do diagnóstico precoce

O diagnóstico precoce é essencial para o controle e redução da doença falciforme. Estudos controlados mostram que os programas de triagem neonatal são importantes no atendimento clínico e na gestão de saúde pública da anemia falciforme. (WILLIAMS, THOMAS N. et al, 2018). Os recém-nascidos de uma região com altos índices de homozigose para a hemoglobina S (HbS), devem ser submetidos a triagem neonatal, para detecção da doença falciforme (COSTA, FERNANDO et al, 2017).

A introdução de medidas como, início de tratamento com antibioticoterapia profilática e programa adequado de vacinação permite reduzir a mortalidade nos cinco primeiros anos de vida de 25% para aproximadamente 3%. Essas medidas só podem ser adotadas a partir do diagnóstico confirmado do recém-nascido, que é possível por meio da triagem neonatal (Teste de Guthrie). (COSTA, FERNANDO et al, 2017).

O programa de triagem neonatal que existe no Brasil e nos países mais desenvolvidos como nos EUA, tem por objetivo diagnosticar precocemente a anemia falciforme, sendo possível o acompanhamento dos pacientes antes que haja manifestações e sintomas da doença, prevenindo possíveis complicações e sequelas que ela pode deixar. Os procedimentos realizados após esse diagnóstico precoce reduzem de 30% para 1% a mortalidade correlacionada a anemia falciforme, em todo o período de vida dos indivíduos portadores. (MENDONÇA, ANA et al. 2009)

A profilaxia da doença ocorre a partir do tratamento medicamentoso como o uso de antibiótico a partir dos 4 meses de vida. Os antibióticos utilizados são penicilina VO ou penicilina benzatina. A inclusão das vacinas antipneumocócica e contra o meningococo C no Programa Nacional de Imunização melhorou a proteção de todas as crianças brasileiras, além de reduzir a mortalidade dos portadores de DF que estão mais suscetíveis a essas infecções. (MENDONÇA, ANA et al. 2009)

Quadro 1 - Plano de cuidados para neonatos com doença falciforme no primeiro ano de vida.

Idade	Tópicos
1 mês	Confirmação do diagnóstico de hemoglobinopatia, introdução a anemia falciforme, educação preliminar sobre administração de penicilina profilática e administração de febre.
2-3 meses	Análise de genótipo de hemoglobinopatia e estudos sobre a família; discussão da fisiopatologia falciforme; discussões sobre imunizações, profilaxia com penicilina e febre; educação inicial sobre o sequestro esplênico.

5-6 meses	Análise da adesão à profilaxia com penicilina, educação sobre palpação do baço, fornecimento de informações sobre as opções de terapia (hidroxiureia, transfusão crônica, transplante de medula óssea) e pesquisa.
8-9 meses	Análise da adesão à profilaxia com penicilina, análise de palpação do baço, discussão sobre dactilite e eventos de dor.
12 meses	Discussão sobre a síndrome torácica aguda, discussão sobre hidroxiureia (e possível início do tratamento).

Fonte: Adaptado e traduzido de Wang, 2015.

3.3 Principais técnicas para diagnóstico e monitoramento da anemia falciforme

3.2.1 Eletroforese de hemoglobina

A eletroforese de hemoglobina é o teste considerado como um dos mais importantes utilizados para detecção de anemia falciforme e é um tipo de técnica de cromatografia. Neste teste, há a aplicação de um campo elétrico, facilitando a migração de moléculas que estão eletricamente carregadas. Para identificar os tipos variantes de hemoglobina, são utilizados diferentes meios e pH, como eletroforese de acetato de celulose em pH alcalino ou ágar citrato em pH ácido. A eletroforese alcalina tem sido utilizada para detectar anomalias como talassemia e a anemia falciforme em pH. Primeiro, um hemolisado é preparado a partir dos glóbulos vermelhos; em seguida, é adicionado a uma tira de celulose e tampão de run-in em uma voltagem constante em uma câmara de eletroforese (ARISHI WJDAN et al. 2021).

A partir disso, é possível observar os resultados nos diferentes tipos de hemoglobina com diferentes cargas líquidas, que são separados em várias bandas, dependendo de sua mobilidade. Assim a eletroforese de hemoglobina consegue diferenciar Hemoglobina S e Hemoglobina C, as variantes clinicamente mais significativas. Entretanto, a eletroforese não diferencia entre variantes de hemoglobina que possuem as mesmas cargas elétricas e concede os mesmos padrões de migração para elas. (FERRAZ, MARIA HELENA C, et al, 2007). A eletroforese alcalina também pode ser afetada pela presença de grandes quantidades de hemoglobina F em recém-nascidos, que podem dominar a banda de eletroforese menor. Dessa forma, alguns cuidados devem ser tomados para garantir de forma confiável a existência da Hemoglobina S (ARISHI WJDAN et al. 2021).

A eletroforese em ágar citrato é realizada em meio de pH ácido (6,0-6,2) sendo necessária a interação da agarosepectina na mistura do gel com as mudanças estruturais da hemoglobina. A maioria das variantes de hemoglobina que migram em pH alcalino pode ser separada efetivamente usando esse tipo de eletroforese. Esse método não é afetado pela alta quantidade de hemoglobina F em recém-nascidos; dessa forma, pode ser usado para diagnosticar a doença falciforme a partir do nascimento da criança (ARISHI WJDAN et al. 2021).

3.3.2 Eletroforese com focagem isoelétrica (FIE)

A Eletroforese com focagem isoeletrica (FIE), também chamada de focalização isoeletrica (IEF) é um método de alta resolução que separa as proteínas a partir de seus pontos isoeletricos (pI). As moléculas de hemoglobina se transportam por meio de um gradiente de pH até atingirem seus pontos isoeletricos onde a carga líquida é zero. As moléculas de hemoglobina precipitam e aparecem como uma banda nítida. Esta técnica pode detectar facilmente a hemoglobina S e a hemoglobina A, mais comum no corpo de um indivíduo adulto, quando está em alta concentração de Hemoglobina F, principal hemoglobina do feto e recém-nascido. (FERRAZ, MARIA HELENA C, et al, 2007) Além disso, consegue separar a Hemoglobina S da Hemoglobina D-Punjab (uma variante da Hb que pode causar anemia hemolítica leve e esplenomegalia leve). É um teste que costuma levar em média 45 minutos. Embora seja um teste relativamente caro e que exijam profissionais bem preparados e treinados para a interpretação dos resultados por ter um maior número de bandas, ele é considerado o teste padrão utilizado para triagem neonatal, pois não precisa de um volume alto de amostra (sangue), e pode ser usado com a amostra já seca (FROMMEL, CLAUDIA. 2018).

3.3.3 Técnicas Baseadas na Reação em Cadeia da Polimerase

A reação em cadeia da polimerase é uma das técnicas de diagnóstico mais precisas, em que enzimas especiais são utilizadas para amplificar partes específicas dos materiais genéticos para milhões de cópias, a partir de primers específicos. A PCR pode detectar genes únicos bem conhecidos ou vários genes em um único tubo. O programa de PCR envolve desnaturação, recozimento e alongamento, do material genético que é repetido por 20 a 40 ciclos térmicos. Em seguida, o resultado pode ser detectado por eletroforese em gel, sequenciamento, análise da curva de fusão ou monitoramento da mudança na fluorescência. As técnicas baseadas em PCR possuem uma alta sensibilidade e especificidade que revolucionaram o campo diagnóstico pré-natal e neonatal, não apenas para anemia falciforme, mas também para o diagnóstico de outras doenças (ARISHI WJDAN et al. 2021).

3.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A HPLC é uma técnica em que há a separação das frações de hemoglobina. Ela detecta diferentes tipos de hemoglobina com base no tempo de retenção e na forma do pico do gráfico. Cada tipo ou variante de hemoglobina tem um tempo de retenção específico e pode ser comparado com o tempo de retenção das frações conhecidas de hemoglobina (sem anomalias). A HPLC é usada para detectar e quantificar a hemoglobina S, e outros tipos de variantes (HbF, Hb A2, HbS, HbC, Hb Barts). Essa técnica possui uma alta sensibilidade para a separação de variantes de hemoglobina (NAIR, SONA B. 2018).

A técnica de HPCL é feita por meio de uma máquina, e embora seja menos trabalhosa do que outras técnicas, e seja melhor para monitorar pacientes que estão sob transfusão ou tratamento de hidroxureia, ela é relativamente cara, e não consegue diferenciar todas as variantes novas que imitam HbS, que possuem o mesmo tempo de retenção. Por esse motivo, não é uma técnica que é realizada sozinha, sendo acrescentada a outros métodos de análise para confirmação do diagnóstico (ALAPAN, YUNUS et al. 2016).

Quadro 2- Principais técnicas para diagnóstico e monitoramento da anemia falciforme

Técnica	Vantagem	Desvantagem	Resultado
Elektroforese de hemoglobina	Confiável, capacidade de distinguir a maioria dos tipos de doença falciforme, incluindo heterozigotos.	Caro, requer técnicos qualificados	identifica e quantifica HbF, Hb A, Hb A2, Hb S, Hb C, Hb Barts e outros
Elektroforese com focagem isoeletrica (FIE)	Detecta HbS em uma alta concentração de outras variantes de Hb, requer pequeno volume da amostra, capaz de usar mancha de sangue seco, e é relativamente rápido.	Caro, requer pessoal altamente treinado para interpretar os resultados.	HbS, HbA, HbF, HbC, HbE e HbO Árabe.
Técnicas Baseadas na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	Simples, pode ser usado para diagnóstico pré-natal	Contaminação por DNA de células maternas	Homoziгоze e heterozigoze para hemoglonia S, e homoziгоze para HbA
Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	Confiável, capacidade de distinguir a maioria dos tipos de doença falciforme, incluindo heterozigotos, totalmente automatizado	Pode diagnosticar erroneamente as novas variantes que imitam HbS, é caro e necessita de profissionais treinados, não é prático em áreas de recursos limitados.	Detectar Hb F, Hb A2, Hb S, Hb C, Hb Barts e outras variantes de Hb.

Fonte: Adaptado e traduzido de Arish Wjdan et al. 2021.

CONCLUSÃO

É possível afirmar, de acordo com todos os dados levantados neste artigo, que o diagnóstico precoce é de grande importância para anemia falciforme, tendo em vista que o diagnóstico tardio dessa patologia acarreta na má qualidade de vida do paciente. A demora para iniciar o tratamento adequado pode causar a morte da criança, pois só seria possível começar o tratamento após aparição dos sintomas que se iniciam a partir dos 4 meses, e nessa idade durante a evolução da doença a criança também poderá desenvolver outras complicações decorrente da anemia falciforme.

No Brasil e nos Estados Unidos as taxas de mortalidade pela anemia falciforme têm uma grande diferença em comparação a África, e não apenas pelo continente africano ter as maiores

taxas de pessoas acometidas pela doença, mas principalmente pela carência de obter um programa de triagem neonatal e de cobertura de cuidados da saúde, devido à falta de recursos do país para a iniciação de pesquisas voltadas para a área da saúde.

A partir dos dados coletados entendemos que o diagnóstico na primeira semana de vida e o tratamento apropriado, reduzem o risco de mortalidade e consequentemente aumenta a qualidade de vida do paciente e da família. Com o diagnóstico precoce em mãos é essencial para iniciar o tratamento e acompanhamento do paciente ao decorrer da vida, com ajuda e aconselhamento genético para diminuir as possíveis complicações da doença falciforme nas próximas gerações.

REFERÊNCIAS

Alapan, Yunus et al. Emerging point-of-care technologies for sickle cell disease screening and monitoring: **Expert review of medical devices**, 2016. 55p.

Arishi, Wjdan A et al. Techniques for the Detection of Sickle Cell Disease: A Review: **Micromachines**, 2021. 22p.

Bandeira, Flávia M. G. C. et al. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S: **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2007. 179-184p.

Brasil. Ministério da Saúde, Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal: **Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada**, 2004. 80p

Brasil. Ministério da Saúde, Triagem neonatal biológica: manual técnico / Departamento de Atenção Especializada e Temática: **Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática**, 2016. 90p.

Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa de Triagem Neonatal: **Secretaria de Atenção à Saúde**, 2004. 20.p.

Cardoso, Andréia Insabralde de Queiroz et al. Estudos econômicos completos sobre tratamentos da anemia falciforme: **Acta Paulista de Enfermagem**, 2021. 7p.

Costa, Ferreira Fernando e Conran, Nicola, et al. Anemia Falciforme: **Tratado de Hematologia**, 2017. 20p.

Da Antunes, Symara R.; AYRES, Laura S.; SILVA, Suelen S; ZANELATTO, Carla; RAHMEIER, Francine L. **Hematologia clínica**. 2. ed. São Paulo: Grupo A, 2019. 391p.

Di Nuzzo, Dayana V. P. e Fonseca, et al. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, 2004. 347-354p.

FABIE, Noelle Andrea V; PAPPAS, Kara B, et al. The Current State of Newborn Screening in the United States: **Pediatric clinics of North America**, 2019. 369 - 386p.

FROMMEL, Claudia. Newborn Screening for Sick Cell Disease and Other Hemoglobinopathies: A Short Review on Classical Laboratory Methods-Isoelectric Focusing, HPLC, and Capillary Electrophoresis: **International journal of neonatal screening**, 2018. 10p.

Hassell, Kathryn L. Population Estimates of Sick Cell Disease in the U.S.: **American Journal of Preventive Medicine**, 2010. 512 – 512p.

Melo-Reis, Paulo R. et al. A importância do diagnóstico precoce na prevenção das anemias hereditárias: **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2007. 149-152p.

Mendonça, Ana et al. Muito além do Teste do Pezinho: **Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia**, 2009. 6p.

Nair, Sona B. Potential Pitfalls in Using HPLC and its Interpretation in Diagnosing HbS: **Journal of Rare Diseases Research & Treatment**, 2018. 4p.

Nnodu OE, Sopekan A, et al. Implementing newborn screening for sickle cell disease as part of immunisation programmes in Nigeria: a feasibility study: **The Lancet Haematology**, 2020. 7p.

Piel, Frédéric B et al. Sick Cell Disease: **The New England journal of medicine** 2017. 16p.

Pietry NZ, Yang X, Kanter J et al. Validation of a Low-Cost Paper-Based Screening Test for Sick Cell Anemia: **Plos One**, 2016. 17p.

Kato, Gregory J et al. Sick cell disease: **Nature Reviews Disease Primers**, 2018. 8p.

Williams, Thomas N, Swee Lay Thein. Sick Cell Anemia and Its Phenotypes: **Annual review of genomics and human genetics**, 2018. 35p.

Wang, Winfred C., Newborn screening for sickle cell disease: necessary but not sufficient, **Jornal de Pediatria**, 2015. 211p.