



Gazelle™ Hb Variante Guia de Interpretação



Manual adaptado e traduzido para português a partir do original, no âmbito do projeto “PREV Hb S – Cabo Verde”

Um projeto de:



Com o apoio:



Em parceria com:



Direção Nacional da Saúde



Objetivo deste guia

Este Guia de Interpretação para o Teste de Gazelle™ Hb Variante explica como o teste determina quais as variantes de hemoglobina presentes, em que quantidades e cria uma interpretação. Explica os critérios utilizados para cada resultado interpretativo e fornece também exemplos.

O Gazelle™ Hb Variante deteta e quantifica a Hb A (normal), a Hb S (falciforme), a Hb F (fetal) e a Hb A2/C/E (não consegue diferenciar). O dispositivo oferece interpretações para condições específicas de hemoglobinopatias com base nos resultados dos testes, incluindo portadores de talassemia (designado traço ou beta talassemia minor), casos de doença – beta talassemia major e intermédia, bem como portadores de doença falciforme (portadores de Hb S) e doentes com doença falciforme (também designado drepanocitose ou anemia falciforme). Os resultados dos testes do Gazelle™ Hb Variante visam auxiliar o médico na gestão do tratamento do paciente e devem ser utilizados em conjunto com outras informações, como a história clínica e familiar do doente, outros resultados dos testes e o exame físico.

Este guia destina-se a médicos que utilizam o Gazelle™ Hb Variante como parte do diagnóstico de pacientes, a técnicos de laboratório que realizam o teste e a outros profissionais de saúde que necessitam de compreender mais sobre a análise e os relatórios de Gazelle™ Hb Variante.

Para saber mais sobre o procedimento do teste, consulte as Instruções de Utilização do Teste de Hb Variante Gazelle™ incluído com o Gazelle™ Hb Variant Test Multipack e o Manual do Utilizador do Dispositivo de Diagnóstico Gazelle™, que pode ser acedido no menu AJUDA no ecrã do Reader ou no site da Hemex Health, www.HemexHealth.com/crc (password=GZLC).

Utilidade Clínica

A beta talassemia major ou intermedia e a doença falciforme são doenças hereditárias severas que afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Com um diagnóstico precoce, os bebés e as crianças podem iniciar um tratamento que vai melhorar as suas vidas e que pode muitas vezes evitar a morte prematura.¹

O Gazelle™ Hb Variante é um equipamento “point-of-care” que fornece os resultados dos testes no momento da consulta, permitindo o início do tratamento das crianças e a educação dos familiares. Por outro lado, os jovens adultos podem também ser testados de forma acessível e conveniente, identificando casais em risco de ter filhos com estas doenças, e fornecendo a informação necessária para que os pais compreendam os riscos da doença falciforme ou beta talassemia nos futuros filhos.

A capacidade do Gazelle™ Hb Variante para identificar e quantificar os tipos de hemoglobina permite distinguir entre normal, portador (traço), doença e outras variantes, dado que a maioria das condições tem intervalos específicos de concentração do tipo de hemoglobina (Hb). Este guia fornece intervalos de quantificação para cada interpretação.

Os médicos podem considerar útil utilizar a quantificação de Hb F do Gazelle™ Hb Variante para auxiliar na tomada de decisão clínica, no rastreio e para otimizar a terapêutica medicamentosa com hidroxiureia nos indivíduos com doença falciforme.

Utilização Prevista

O Gazelle™ Hb Variant é um teste de diagnóstico *in vitro* destinado ao doseamento quantitativo de Hb A, Hb F, HbS, Hb A2/HbC/HbE por electroforese em acetato de celulose. Utiliza o Multipack de Teste Hb Variant, incluindo cartuchos. O teste também fornece uma interpretação dos resultados. O teste destina-se a uso profissional em laboratórios de saúde no local de prestação de cuidados e requer sangue total humano.

¹ McGann PT, Nero AC, Ware RE. Características clínicas da β-talassemia e da anemia falciforme. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1013: 1-26. doi: 10.1007/978-1-4939-7299-9_1. PMID: 29127675.

Princípio do Procedimento

O Gazelle™ Hb Variante é uma versão “point-of-care” do método de teste de eletroforese de hemoglobina. Um cartucho de teste descartável de utilização única incorpora uma tira de teste de acetato de celulose (“microchip electrophoresis”). Quando o cartucho que contém uma amostra de sangue lisada é inserido no leitor, os diferentes tipos de hemoglobina são separados, ao longo da tira de acetato de celulose, de acordo com a sua carga.

Em cerca de 8 minutos, a interpretação (normal, portador, doença), bem como os tipos e percentagens de hemoglobina, são apresentados no ecrã e armazenados na memória do leitor (**Figura 1.**).

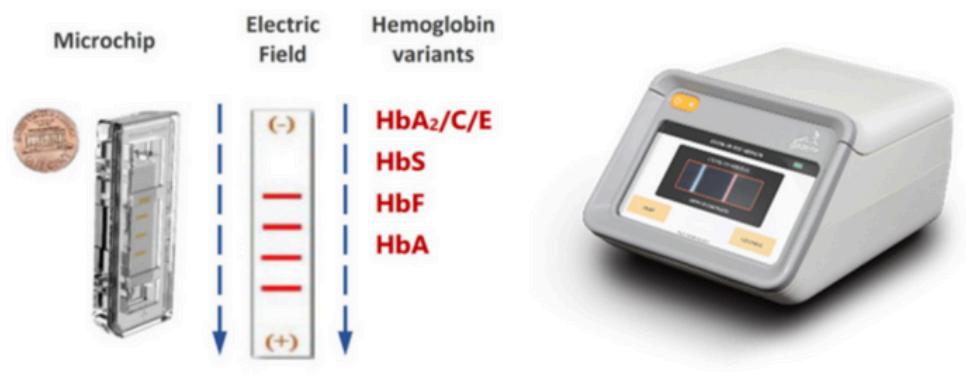


Figura 1. Eletroforese em microchip Gazelle

O princípio da tecnologia de eletroforese de microchip do Gazelle™ Hb Variante é o mesmo da eletroforese de hemoglobina padrão: diferentes tipos de hemoglobina, incluindo HbA (normal), HbS (falciforme), HbC, HbA2, HbE e HbF (fetal) têm diferentes cargas negativas líquidas numa solução alcalina e movem-se através do papel a velocidades diferentes sob uma voltagem. Os diferentes tipos de hemoglobina vão separar-se em faixas visíveis no papel. As faixas podem ser quantificadas com base nas suas densidades relativas. O Gazelle Reader contém um software próprio que controla a interface do utilizador, a voltagem/corrente utilizada no processo de eletroforese, a captura de vídeo e imagem durante o teste, os algoritmos de análise de imagem, a interpretação da análise de imagem, o armazenamento e a transferência de dados.

O algoritmo de análise de imagem extrai as características da imagem das bandas de hemoglobina para determinar o tipo de hemoglobina, bem como a sua quantidade relativa. Estas informações são utilizadas para fornecer uma declaração interpretativa com base nas proporções de hemoglobina.

Em cerca de 8 minutos, o leitor apresenta o resultado no ecrã, incluindo os tipos e percentagens de hemoglobinas. As frases interpretativas também são apresentadas no ecrã.

Limitações

Não é possível detectar alguns tipos de hemoglobina com mobilidades electroforéticas semelhantes, nem os que ocorrem em pequenas quantidades. Os casos suspeitos devem ser pesquisados por metodologias diferentes;

O Teste de Variante Hb Gazelle não tem precisão para diagnóstico em bebés nascidos antes das 37 semanas de gestação. Este teste deve ser adiado até que a idade do bebé e o período gestacional atinjam as 37 semanas ou mais desde a conceção;

O Gazelle™ Hb Variante não deve ser utilizado para testar a betatalassemia minor e intermedia em crianças com menos de 6 meses de idade. Se a idade referida for de 6 meses ou menos, o teste não irá reportar beta-talassemia;

Hb A2/C/E migram na mesma zona. A Hb A2 é medida em combinação com a Hb C e a Hb E e, por isso, não pode ser medida se a Hb C ou a Hb E estiverem presentes;

Não são reportados valores de Hb A2 inferiores a 3%;

O Gazelle™ Hb Variante tem um limite de reporte em que, para valores abaixo deste número, não se espera uma elevada precisão devido à sobreposição de faixas ou à ausência de recolha devido à raridade da condição.

O Gazelle™ Hb Variante centra-se em fenótipos específicos (SS, SE, SC, CC, EE, SA) onde os níveis de Hb F são clinicamente mais significativos (por exemplo, doentes tratados com hidroxiureia). Quando a Hb F é o fenótipo dominante, a Hb F é sempre reportada.

Isto significa que os valores de Hb F acima de zero só serão apresentados no ecrã ou no relatório impresso se estiverem acima do limite de reporte, que se baseia nos fenótipos específicos detetados pelo Gazelle (consultar Manual original).

Interpretação de Resultados Gazelle™ Hb Variant

O Gazelle Reader orienta o utilizador na preparação da amostra e, em seguida, analisa automaticamente a amostra quanto aos tipos e quantidades de hemoglobina. Os resultados das variantes de Hb são apresentados no ecrã em 8 minutos. O ecrã "Teste de Hb Variante" (**Figura 2**) exibe a imagem electroforética analisada com os tipos de hemoglobina identificados e quantificados. O ecrã "Resumo da variante de Hb" (**Figura 3**) exibe também o fenótipo, a interpretação provável e as notas. O fenótipo mostra os tipos de hemoglobina detetados por ordem de percentagem de quantificação. Ambas as imagens aparecem no relatório digital (**Figura 4**).

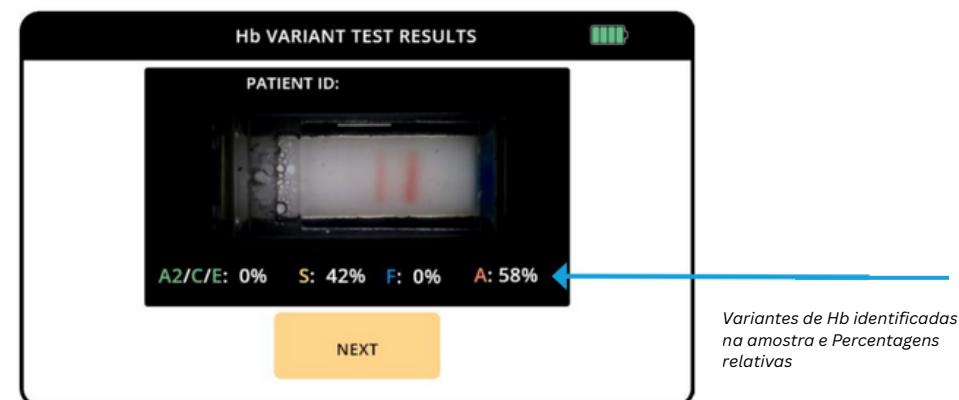


Figura 2. Exemplo de ecrã de resultados do teste de variante de Hb Gazelle

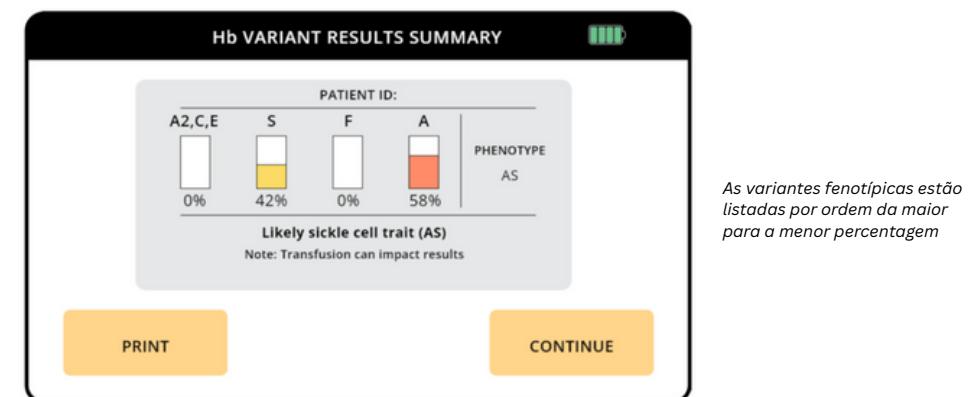


Figura 3. Exemplo de ecrã de resumo do teste de variantes de Hb Gazelle mostrando resultados e interpretação.



O Gazelle™ Hb Variante inclui menus de informação do paciente que podem ser configurados pelo administrador do dispositivo. O dispositivo pode ser configurado para recolher qualquer informação apresentada no relatório de exemplo da **Figura 4**.

Os relatórios podem ser armazenados no leitor e impressos.

Figura 4. Exemplo de um relatório de um paciente com variante de Hb Gazelle

Tabelas de Interpretação de Resultados

a. Interpretação

O Teste de Variantes do Gazelle™ Hb Variante identifica e quantifica a Hb A2/C/E, Hb F, Hb A e Hb S para determinar o fenótipo do doente. As tabelas desta secção identificam as condições em que o Gazelle™ Hb Variante realiza uma interpretação específica, nomeando os tipos de hemoglobina e os intervalos de quantificação para cada um.

Os algoritmos Gazelle™ Hb Variante utilizam uma de duas tabelas interpretativas – Tabela 1 para idades superiores a 6 meses (incluindo adultos) e a Tabela 2 para recém-nascidos (com menos de 6 meses).

As tabelas foram desenvolvidas através da revisão da literatura disponível sobre a eletroforese da hemoglobina, da consulta de médicos e, em seguida, do ajuste dos intervalos para ter em conta as variações esperadas nas medições do Gazelle™ Hb Variante. As tabelas foram validadas por estudos clínicos.

b. Alertas efectuadas pelo Gazelle

1. AA F elevado
2. AA F normal
3. AA A2 elevado (A/ β tal)
4. AS F elevado
5. AS F normal
6. SS F elevado
7. SS F normal
8. CC, EE ou CE F elevado
9. CC, EE ou CE F normal
10. AC ou AE F elevado
11. AC ou AE F normal
12. SC ou SE F elevado
13. SC ou SE F normal
14. Hb Bart's (apenas para recém-nascidos)
15. FF (β tal major) (ausência de Hb A, em recém-nascidos ou doentes pré transfusão)
16. Padrão de hemoglobina desconhecido

c. Compreender as tabelas de interpretação de Resultados

Para interpretar os tipos de Hbs e os valores de quantificação, o algoritmo Gazelle percorre a tabela começando por cima – Tabela 1 ou Tabela 2 – dependendo da idade do doente. O primeiro conjunto de intervalos que se ajusta aos tipos e valores é a interpretação apresentada. Note-se que a soma das percentagens de hemoglobina é de 100%.

Se o algoritmo não encontrar percentagens de hemoglobina em nenhuma das entradas da tabela, reporta um "Padrão de hemoglobina desconhecido" (a última categoria de qualquer uma das tabelas) e recomenda uma avaliação clínica mais aprofundada. O médico deve considerar os resultados dos testes à luz dos sinais e sintomas clínicos, podendo também considerar a história familiar e clínica do doente, e solicitar exames adicionais para chegar ao diagnóstico final. Existem mais de 1.000 variantes diferentes de hemoglobina; o Gazelle™ Hb Variante detecta apenas as variantes mais frequentes e importantes para diagnóstico de doença falciforme e talassémia.

d. Tabela de interpretação – idade superior a 6 meses

As Tabelas em anexo estabelecem os intervalos para as condições de doença em indivíduos com mais de 6 meses de idade. As interpretações da talassemia beta estão incluídas nesta tabela. As seguintes regras são utilizadas para ajustar a amostra à categoria aplicável:

- Todos os tipos de Hb detectados (excepto a Hb F) serão utilizados para determinar a interpretação pela ordem apresentada na tabela abaixo, após normalização para a hemoglobina total (100%). O motivo pelo qual a Hb F não é utilizada na interpretação é que, com exceção da talassemia beta major e intermédia, a presença de Hb F não afeta as interpretações feitas pelo Gazelle. A remoção das percentagens de Hb F antes do cálculo das outras percentagens de hemoglobina na tabela abaixo é feita para facilitar a leitura. A Hb F será reportada quando detetada acima do Limite de Notificação.
- Por exemplo, no caso de uma amostra de AS, serão utilizados todos os tipos de Hb detectados (excepto a Hb F) para determinar a interpretação de acordo com a tabela abaixo, após normalização a 100%. A Hb F será reportada quando detetada acima do Limite de Reporte.

e. Tabela para recém-nascidos – inferior a 6 meses

Os fetos apresentam níveis elevados de Hb F (hemoglobina fetal), que tem uma maior afinidade pelo oxigénio do que a Hb A, para satisfazer as condições uterinas e as necessidades de transporte de oxigénio dos bebés antes do nascimento. O nível de Hb F geralmente desce drasticamente após o nascimento e é normalmente substituído por Hb A (hemoglobina normal, adulta) até aos 6 meses, como se pode observar na Figura 5. O Gazelle quantifica a Hb A e a Hb S quando são superiores a 4%, o que permite o rastreio da doença falciforme em recém-nascidos a partir das 37 semanas de gestação.

Note-se que o Gazelle não identifica beta talassemia em crianças com menos de 6 meses devido aos elevados níveis de Hb F ao nascimento.

A Hb Barts é um tipo anormal de hemoglobina, constituída por quatro gamaglobulinas, e é indicativa de alfa talassemia. A Hb Barts encontra-se apenas em recém nascidos. (Kaufman DP, Khattar J, Lappin SL. Fisiologia, Hemoglobina Fetal.

[Atualizado em 26 de março de 2022]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Jan. de 2022. Disponível em:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500011/>

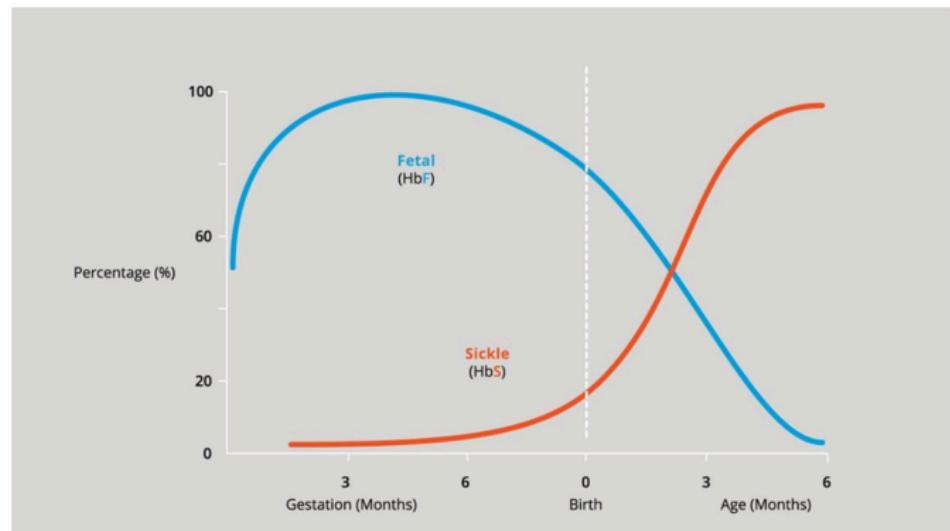


Figura 5. Os níveis de hemoglobina fetal mantêm-se elevados após o nascimento, descendo até aos 6 meses de idade¹²

Ao analisar uma amostra de hemoglobina de um paciente, o algoritmo Gazelle avança na tabela (como no caso do tabela não-recém-nascido) procurando a categoria correta que se enquadre nos tipos de hemoglobina e quantificações reportadas. No entanto, no caso dos recém nascidos, a Hb F não é quantificada. As restantes hemoglobinas são normalizadas para 100% e depois ajustadas à tabela.

Exemplo: Um recém-nascido com característica pode ter 90% de Hb F, 6% de Hb A e 4% de Hb S. A Gazelle utilizará apenas as bandas de Hb A e Hb S para determinar o fenótipo, uma vez que todos os recém-nascidos têm Hb F elevada. Neste caso, a proporção de não-Hb F é de 60% de Hb A e 40% Hb S. Isto cumpre os critérios para o traço falciforme e resulta numa interpretação de “Provável traço falciforme (AS) (<6 meses)”. Todas as bandas serão reportadas no ecrã de resumo e no relatório impresso.

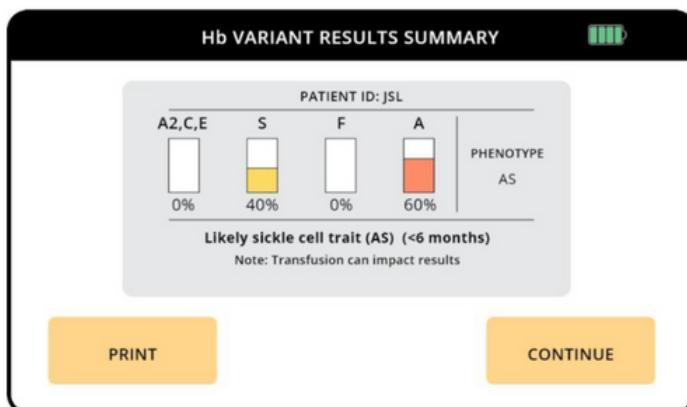


Figura 6. Exemplo de ecrã com provável traço falciforme (AS) (<6 meses)

Perguntas Frequentes

Porque é que as declarações do Gazelle são precedidas da palavra “provável”?

Embora dispositivos como o Gazelle sejam ferramentas úteis para ajudar os clínicos a identificar o estado do doente, apenas um clínico pode fazer o diagnóstico final. O clínico tem acesso a outras informações como a história clínica e familiar, exame físico, resultados do hemograma, região de origem (alguns tipos de hemoglobina são mais comuns em certas zonas) e outros fatores relevantes. Para o diagnóstico, o clínico pode usar testes como HPLC, eletroforese capilar ou o Gazelle, considerando sempre todos os dados clínicos disponíveis. Assim, o resultado do Gazelle é apresentado como “provável” porque o Leitor apenas conhece os tipos e percentagens de hemoglobina detetados, e não o restante contexto clínico.

Porque é que o Gazelle indica “beta-talassemia não excluída” em algumas amostras, mesmo podendo testar essa condição?

Em alguns casos, o Gazelle não consegue afirmar com certeza se existe Hb A ou Hb F. Se houver suspeita de beta-talassemia major, recomenda-se repetir o teste noutro equipamento ou fazer estudos moleculares.

Porque é que o Gazelle por vezes indica 0% de Hb A2?

Em certos casos de hemoglobinopatias, o valor de Hb A2 não tem relevância clínica, podendo ser reportado como 0%. Nestes casos, o valor não afeta a interpretação. Em alguns testes, o Gazelle não consegue medir Hb A2 com precisão. Nesses casos, indica 0% com a nota: estado de portador de β-talassemia desconhecido; repetir teste.

O que significa a mensagem para repetir o teste de traço de beta-talassemia?

Em alguns testes, o Gazelle não consegue medir Hb A2 com precisão. Nestas situações, reporta 0% de Hb A2 com a nota: estado de portador de β-talassemia desconhecido; repetir teste para confirmação.

O Gazelle pode ser usado para rastreio de variantes de hemoglobina durante a gravidez?

Sim, pode ser usado para a mãe, mas não para o feto.

O Gazelle pode usar sangue congelado ou seco para o teste?

Não, o Gazelle não pode usar amostras de sangue congeladas ou secas.

O Gazelle consegue detetar casos de heterozigotia composta ou alfa-talassemia?

Atualmente, o Gazelle deteta doença falciforme/beta-talassemia (heterozigotia composta) e Hb Bart's (alfa-talassemia). Não deteta outros tipos de alfa-talassemia além da Hb Bart's (presente nos recém nascidos).



EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Alemanha