



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO HOSPITALAR E DE URGÊNCIA
COORDENAÇÃO-GERAL DE SANGUE E HEMODERIVADOS

Ofício Circular nº 61/2014/CGSH/DAHU/SAS/MS

Brasília, 18 de junho de 2014.

Ao (A) Senhor (a)
Diretor (a)
Hemocentro Coordenador

Assunto: Informações sobre a publicação da portaria nº 478, de 16 de junho de 2014, que aprova o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor.

Prezado (a) Senhor (a),

1. Comunicamos que na data de 17 de junho de 2014 foi publicado no Diário Oficial da União nº 114, entre as páginas 70 a 76 a Portaria nº 478, de 16 de junho de 2014 que aprova o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor, que está disponível na íntegra no link:
<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=70&data=17/06/2014>

2. Com o aumento de disponibilidade do Fator VIII em 2011, foi implantado em 06 de outubro de 2011, de forma preliminar e com o objetivo de gerar experiência na utilização do tratamento, o *Protocolo Brasileiro de Imunotolerância para o Tratamento de Pacientes com Hemofilia A e Inibidor* na Hemorrede Nacional, por meio do Ofício Circular nº 076/2011/CGSH/DAE/SAS/MS.

3. Considerando a importância da atualização, bem como a necessidade de regulamentação em Portaria desta modalidade de tratamento, o Ministério da Saúde, por meio da Área de Assessoramento Técnico às Coagulopatias (ATC/CGSH/DAHU/SAS/MS), solicitou a atualização do referido Protocolo à Comissão de Assessoramento Técnico às Coagulopatias (CAT-Coagulopatias).

4. O Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor foi disponibilizado na Consulta Pública nº 01, de 03 de janeiro de 2014, tendo recebido as contribuições da sociedade até o dia 04 de fevereiro de 2014. O documento foi então revisado pela área técnica, considerando as contribuições provenientes da consulta pública, com posterior oficialização em portaria supracitada.

5. Diferentemente do Protocolo preliminar, que restringia a faixa etária de inclusão no tratamento para até 10 anos, com avaliações individuais para até 20 anos, o atual Protocolo de Uso estende a faixa etária para todos os pacientes com Hemofilia A que apresentarem



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO HOSPITALAR E DE URGÊNCIA
COORDENAÇÃO-GERAL DE SANGUE E HEMODERIVADOS

inibidor persistente contra fator VIII, com duração de pelo menos 6 meses, comprovado através de pelo menos duas dosagens consecutivas (com intervalo entre 2-4 semanas) acima de 0.6 UB/mL e necessitando uso de agentes *bypassing* para controle de eventos hemorrágicos. Outros critérios de inclusão e recomendações de acompanhamento estão descritos no Protocolo de Uso anexo.

6. Ao apresentar os critérios de inclusão descritos no Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor, o Hemocentro Coordenador deverá solicitar à ATC/CGSH/DAHU/SAS/MS (via coagulopatias.sangue@saude.gov.br), a inclusão do paciente no Programa de Imunotolerância com o envio do Termo de Esclarecimento devidamente assinado e escaneado, juntamente com a Ficha de Inclusão de Pacientes – Questionário, com as titulações de inibidor.

7. Ressalta-se que todos os pacientes em Imunotolerância deverão estar oficializados pelo Ministério da Saúde. Os Centros de Tratamento de Hemofilia (CTH), que tiverem pacientes em Imunotolerância ainda não oficializados, deverão fazê-lo, informando à ATC/CGSH/DAHU/SAS/MS, via email citado anteriormente, conforme descrição no item anterior.

8. Sendo o paciente inserido no Programa de Imunotolerância, o CTH deverá oferecer acompanhamento da equipe multiprofissional e laboratorial durante todo o tratamento, seguindo as recomendações específicas contidas no respectivo Protocolo de Uso.

9. Oportunamente, como descrito no Ofício Circular nº 55/2014/CGSH/DAHU/SAS/MS, solicitamos que o Centro de Tratamento de Hemofilia indique à Área de Assessoramento Técnico às Coagulopatias, da Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados (ATC/CGSH/DAHU/SAS/MS), por meio do email coagulopatias.sangue@saude.gov.br, o profissional responsável por tratar de questões relativas à inclusão dos pacientes nas modalidades de tratamento em hemofilia oferecidas pelo Ministério da Saúde. Ainda solicitamos que envie o respectivo contato do profissional, com telefone institucional e email, para que possamos viabilizar contatos quando necessários e promover melhorias na comunicação referente às temáticas relacionadas ao tratamento.

10. Por fim, segue em anexo o referido Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor.

Atenciosamente,


MARIA DE FÁTIMA POMBO MONTORIL
Coordenadora-Geral de Sangue e Hemoderivados



Art. 1º. Determinar, como medida de interesse sanitário, a interdição cautelar, em todo o território nacional, dos lotes nº 45071 (validade: 08/2015) e nº 45072 (validade: 08/2015) do medicamento COMPLE B COMPRIMIDOS REVESTIDOS, produzido pela empresa Natulab Laboratório S.A. (CNPJ: 02.456.955/0001-83), localizada na Rua H, nº 02, Galpão III - URBIS II, Santo Antônio de Jesus/BA.

Art. 2º. Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação e vigorará pelo prazo de 90 (noventa) dias a contar de tal data.

EDUARDO HAGE CARMO

RESOLUÇÃO - RE Nº 2.237, DE 16 DE JUNHO DE 2014

O Superintendente de Fiscalização, Controle e Monitoramento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe conferem a Portaria nº. 993 da Anvisa, de 11 de junho de 2014, publicada no D.O.U. de 13 de junho de 2014, aliada aos incisos III e VII do art. 123 do Regimento Interno da Anvisa, aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº. 650 da Anvisa, de 29 de maio de 2014, publicada no D.O.U. de 2 de junho de 2014, considerando o art. 7º da Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976; e

considerando o comunicado da empresa Laboratório Teuto Brasileiro S.A., que informa ter iniciado o recolhimento voluntário do lote 0909108 do medicamento OMEPRAZOL 20mg, por ter constatado o acondicionamento em cartongens identificadas por OMEPRAZOL 10mg, resolve:

Art. 1º Determinar, como medida de interesse sanitário, a suspensão, em todo o território nacional, da distribuição, comércio e uso do lote 0909108 (validade: 12/2014) do medicamento OMEPRAZOL 10mg, apresentação com 14 cápsulas (Registro nº 1037003570015), fabricado pela empresa Laboratório Teuto Brasileiro S.A. (CNPJ: 17.159.229/0001-16), situada à VP 7-D, Quadra 13, Módulo II - Daia, Anápolis/GO.

Art. 2º Determinar que a empresa promova o recolhimento do estoque existente no mercado relativo ao lote descrito no art. 1º, conforme Resolução-RDC nº 55/2005.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

EDUARDO HAGE CARMO

SUPERINTENDÊNCIA DE INSPEÇÃO SANITÁRIA

RESOLUÇÃO - RE Nº 2.232, DE 16 DE JUNHO DE 2014

A Superintendente Substituta de Inspeção Sanitária no uso de suas atribuições legais conferidas pela Portaria nº 962, de 6 de junho de 2014, tendo em vista o disposto no art. 108 e no inciso I, § 1º do art. 6º do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 650 de 29 de maio de 2014, publicada no DOU de 2 de junho de 2014, e

considerando a decisão judicial proferida nos autos do mandado de segurança nº. 1702.000829-8/2014, emitido pelo Exmo. Juiz FÁBIO DE SOUZA SILVA, juiz federal da Segunda Vara Federal de São Gonçalo-RJ, resolve:

Art. 1º Conceder Autorização de Funcionamento para Empresas de Produtos para a Saúde, constantes no anexo desta resolução, até resolução do mérito do recurso interposto sob expediente nº 0020222/13-3.

Art. 2º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

SIMONE DE OLIVEIRA REIS RODERO

ANEXO

EMPRESA: CARVALHO E MUNIZ COMÉRCIO DE PRODUTOS MÉDICO-HOSPITALARES LTDA - EPP
 ENDEREÇO: Estrada da Paciência, 1131 Loja 209
 BAIRRO: Maria Paula CEP: 24756660 - SÃO GONÇALO/RJ
 CNPJ: 14.965.403/0001-80
 PROCESSO: 25351.422618/2012-35 AUTORIZAMS:
 P19V787647Y9 (8.10583.8)
 ATIVIDADE/CLASSE
 ARMAZENAR: CORRELATOS
 DISTRIBUIR: CORRELATOS
 EXPEDIR: CORRELATOS

SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE

PORTARIA Nº 477, DE 16 DE JUNHO DE 2014

Habilita a Associação Aracajuense de Beneficência como Amigo da Criança.

O Secretário de Atenção à Saúde, no uso de suas atribuições, considerando o disposto na Portaria nº 80/SAS/MS, de 24 de fevereiro de 2011, que estabelece as normas para o processo de credenciamento, renovação de credenciamento, monitoramento e descredenciamento do Hospital Amigo da Criança integrante do Sistema Único de Saúde (SUS);

Considerando a Iniciativa Hospital Amigo da Criança - HHAC, promovida pelo Fundo das Nações Unidas - UNICEF, Organização Mundial de Saúde - OMS e Ministério da Saúde;

Considerando a anuência da Secretaria de Estado da Saúde do Sergipe, objeto do Ofício nº 298/2014/CERAS/GS/SES, de 11 de fevereiro de 2014; e

Considerando a Declaração da Secretaria de Atenção à Saúde do Ministério da Saúde atestando que a referida entidade está apta a receber o título de Hospital Amigo da Criança, resolve:

Art. 1º Fica habilitado o hospital a seguir no Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde sob o código 1404 - Hospital Amigo da Criança como Amigo da Criança:

CNES	CNPJ/CGO	Razão Social	Nome Fantasia	Município	UF
6002232	130235107000141	Associação Aracajuense de Beneficência	Hospital Santa Izabel	Aracaju	SE

Art. 2º Fica autorizada a Secretaria de Atenção à Saúde - Departamento de Regulação, Avaliação e Controle de Sistemas - Coordenação-Geral de Sistemas de Informação a incluir no Sistema do Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (SCNES) a habilitação da unidade discriminada no art. 1º desta Portaria a partir da competência abril de 2013.

Art. 3º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação, com efeitos financeiros a partir da competência abril de 2014.

FAUSTO PEREIRA DOS SANTOS

PORTARIA Nº 478, DE 16 DE JUNHO DE 2014

Aprova o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor.

O Secretário de Atenção à Saúde, no uso de suas atribuições, considerando o Decreto 3.990, de 30 de outubro de 2001, que regulamenta o art. 26 da Lei no 10.205, de 21 de março de 2001, e conforme redação do Decreto 5.045, de 8 de abril de 2004, que transfere à Secretaria de Atenção à Saúde do Ministério da Saúde a competência de normalizar a área de hemoterapia e hematologia, bem como gerir a Política Nacional de Sangue e Hemoderivados;

Considerando o inciso IX do Decreto nº 3.990, de 2001, conforme redação do Decreto 5.045, de 2004, que determina competência da Secretaria de Atenção à Saúde em planejar e coordenar a política de medicamentos estratégicos imprescindíveis à assistência hemoterápica e hematológica, bem como garantir o acesso aos hemoderivados para os portadores de coagulopatias;

Considerando que a quantidade de concentrado de fator VIII atualmente disponibilizada pelo Ministério da Saúde atende a previsão de consumo para o tratamento além da demanda de urgências, permitindo a introdução da modalidade de tratamento de indução imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor; e

Considerando a relevância do tema e a avaliação da Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados do Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência da Secretaria de Atenção à Saúde (CGSH/DAHU/SAS/MS), resolve:

Art. 1º Fica aprovado o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Pacientes com Hemofilia A e Inibidor, conforme estabelecido no Anexo a esta Portaria.

§ 1º O Protocolo citado no caput contém orientações relacionadas ao procedimento para indução de imunotolerância em pacientes com hemofilia A que tenham desenvolvido inibidor persistente contra fator VIII, que interfere com a profilaxia e/ou tratamento sob demanda de eventos hemorrágicos.

§ 2º Os critérios de inclusão no Protocolo, bem como as orientações de acompanhamento dos pacientes, são de caráter nacional e devem ser utilizados pelas Secretarias de Saúde dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios.

Art. 2º É obrigatória a identificação do paciente, ou do seu responsável legal, dos potenciais riscos e efeitos colaterais relacionados ao uso de medicamento e quanto aos procedimentos preconizados para indução de imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor, conforme Termo de Esclarecimento e Responsabilidade, do Anexo II a esta portaria.

Art. 3º Os gestores estaduais e municipais do SUS, conforme a sua competência e pactuações, deverão estruturar a rede assistencial, definir os serviços referenciais e estabelecer os fluxos para o atendimento dos indivíduos com a doença em todas as etapas descritas no Anexo a esta Portaria.

Art. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

FAUSTO PEREIRA DOS SANTOS

ANEXO

PROTÓCOLO DE USO DE INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA PARA PACIENTES COM HEMOFILIA A E INIBIDOR 1. INTRODUÇÃO

A hemofilia é uma doença hemorrágica, de herança genética ligada ao cromossomo X. Ela se caracteriza pela deficiência quantitativa e/ou qualitativa do fator VIII (hemofilia A) ou do fator IX (hemofilia B) da coagulação. As hemofilias A e B ocorrem em cerca de 1:10.000 e 1:40.000 nascimentos de crianças do sexo masculino, respectivamente, não apresentando variação racial ou étnica. Do ponto de vista clínico, as hemofilias A e B são semelhantes.

O diagnóstico diferencial entre elas é realizado por exames laboratoriais de dosagens específicas da atividade do fator VIII e de fator IX, sendo a hemofilia classificada de acordo com o nível plasmático de atividade coagulante do fator deficiente em leve, moderada e grave, quando o nível de fator é de 5% a 40% (ou > 0,05 a 0,40 UI/mL), de 1% a 5% (ou 0,01 a 0,05 UI/mL) e inferior a 1% (ou < 0,01 UI/mL), respectivamente.

A magnitude das manifestações hemorrágicas nas hemofilias é variável, conforme a gravidade do caso. As hemorragias podem ocorrer sob a forma de hematúria, epistaxe, melena/hematemese, ou se apresentarem como hematomas, sangramentos retroperitoneais e intra-articulares (hemartroses), sendo esta, umas das manifestações mais características das formas graves da doença. Nestes pacientes, as primeiras hemartroses geralmente ocorrem entre o 1º e 2º anos de vida, época de início da deambulação. As hemartroses de repetição estão associadas às seqüelas motoras, às contraturas e a deficiência física.

A prevenção ou o tratamento das hemartroses e outros episódios hemorrágicos na hemofilia envolvem a infusão intravenosa do fator de coagulação deficiente de origem plasmática ou recombinante. A referida infusão pode ser realizada em ambiente hospitalar, ambulatório ou domiciliar.

Uma das complicações temíveis em pacientes com hemofilia refere-se ao desenvolvimento de inibidores, que são anticorpos da classe IgG direcionados contra os fatores VIII e IX infundidos (alloanticorpos). Neste caso, os pacientes acometidos passam a não responder a infusão do fator deficiente e apresentam episódios hemorrágicos de difícil controle.

Os inibidores se desenvolvem mais frequentemente em pacientes com hemofilia grave e após as primeiras infusões de fator, em geral até o 5º dia de infusão. Fatores associados ao desenvolvimento de inibidores incluem raça (mais comum em negros), tipo de hemofilia (mais comum na hemofilia A), tipo de mutação (mais comum nas inversões, mutações sem sentido e grandes defeitos moleculares), intensidade do uso do concentrado de fator deficiente, classificação HLA, técnicas de inativação viral utilizada na fabricação de concentrados de fatores e, passivamente, o tipo de produto utilizado no tratamento, bem como a idade à primeira infusão. Entre 5% a 30% dos pacientes com hemofilia A e 1% a 5% dos pacientes com hemofilia B desenvolvem inibidores durante a vida.

A presença do inibidor é titulada através do método Bethesda e, por definição, uma unidade Bethesda (UB) corresponde à quantidade de anticorpos circulantes capazes de inativar 50% do F VIII ou F IX existente em 1 mL de plasma normal. Os inibidores podem ser classificados segundo o título de anticorpos circulantes e a resposta antigênica. De acordo com recomendação do Factor VIII and Factor IX Subcommittee da International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH), deve-se considerar de baixa resposta os inibidores que mantêm níveis persistentemente < 5 UB/mL, apesar de constante estímulo com o fator deficiente. O termo inibidor de alta resposta deve ser utilizado para aqueles casos em que a atividade inibitória seja > 5 UB/mL, em qualquer momento da existência do inibidor. Esta classificação é importante, pois determina a adoção de condutas diferentes no tratamento de hemorragias nos pacientes com inibidores.

O tratamento de eleição para pacientes com hemofilia e inibidor é a imunotolerância (IT), que consiste na infusão diária ou em dias alternados do concentrado de fator deficiente, na tentativa de dessensibilizar o paciente. Este tratamento pode durar de semanas a anos, podendo ser bastante oneroso. De acordo com estudos de vários grupos, a IT é capaz de erradicar os inibidores na hemofilia A em 60% a 80% dos casos tratados. Após a erradicação do inibidor, o paciente pode retomar o tratamento com o fator deficiente. Estratégias de tratamento que objetivam a erradicação dos inibidores através da indução de IT constituem a melhor opção de tratamento destes pacientes.

Na Tabela 1, estão listados os principais protocolos utilizados para indução de IT em pacientes com hemofilia A e inibidor do fator VIII. Alguns aspectos desta abordagem merecem, entretanto, algumas considerações:

1. Os estudos possuem estratégias diferentes em relação às doses de fator VIII utilizadas, seleção de pacientes, intervalos entre as doses e ao uso ou não de imunomodulação;

2. Em geral, estes estudos consistiam de série de casos com pequeno número de pacientes distintos entre si e difíceis de serem comparados. A maioria dos estudos não é controlado/randomizado;



3. As semelhanças nos resultados, taxa de sucesso e tempo de tratamento, entre os protocolos de Bonn e holandês são particularmente intrigantes. Tabela 1. Protocolos de imunotolerância

Protocolo	Dose	Seguira (%)	Deflexão Seguinte	Média Título pré-IT	Média Tempo*
Bonn	200-300 U/Kg/dia	73-87	Normal FVIII R/S	2,8 (<10)	15,0
Milano	FVIII > 30/1 + IM	80	Normal FVIII R/S	<10 (4,8)	1,0
Smith	200 U/Kg/dia	100	Normal FVIII R/S	2,9	1,0
Rockley	100 U/Kg/dia	82	Normal FVIII R/S	3,6	13,0
Kroner	50 U/Kg/dia	73	Normal FVIII R/S	0,7	3,0
Holandês	250 U/Kg/dia (3x/sem)	83	Título Inibidor < 2UB	2,5	12,0
Grupo	100 U/Kg/dia + IM	63	Inibidor regular	2,5	24,0

R/S, Recuperação/vida média; IM, imunomodulação; IT, imunotolerância; * semanas; U, unidades internacionais

A maior parte das informações relacionadas a fatores preditivos de resposta a IT advém da análise retrospectiva de registros de pacientes com inibidor que se submetem a IT. Dentre estes, destacam-se os registros Immune Tolerance Study Group, The North American Immune Tolerance Registry, the International Immune Tolerance Study e o German Immune Tolerance Registry.

Com relação à eficácia do tratamento de indução de IT, sabe-se que o principal preditor de boa resposta é a presença de título de inibidor inferior a 10 UB/mL ao início da IT. Ainda, o pico histórico de inibidor <200 UB/mL foi um fator favorável de eficácia em dois estudos, embora não tenha sido avaliado em outros. Com relação à idade e ao intervalo de tempo decorrido entre o diagnóstico do inibidor e o início de IT, os resultados são mais conflitantes. Alguns estudos sugeriram tolerância mais rápida em pacientes mais jovens com inibidores desenvolvidos há pouco tempo. Mariani & Kroner (2001) mostraram menor eficácia da IT em pacientes com idade superior a 20 anos ou com inibidores de longa data (superior a 5 anos após diagnóstico do inibidor). Entretanto, estes achados não foram demonstrados em outros registros. De qualquer forma, as crianças constituem o grupo de melhor prognóstico e, também, de menor custo, uma vez que a quantidade do fator de coagulação utilizada é calculada de acordo com o peso do paciente.

Com relação à dose de fator VIII, uma metanálise de dois registros demonstrou que altas taxas de sucesso (67% - 96%) ocorreram independentemente da dose utilizada para pacientes de bom prognóstico, estes definidos como pacientes que apresentaram pico histórico de inibidor inferior a 200 UB/mL e título pré-IT <10 UB/mL. Por outro lado, pacientes com título histórico acima de 200 UB/mL e/ou pré-IT >20 UB/mL tiveram melhor resultado quando tratados com dose diária de fator VIII superior a 200 U/kg. Estes resultados forneceram dados para o primeiro estudo randomizado de IT (The International Immune Tolerance Study), cujo objetivo foi identificar a dose mais adequada (se 50 U/kg 3 vezes por semana ou 200 U/kg/dia) em indivíduos classificados como de bom prognóstico (idade inferior a 8 anos, início de IT antes de 24 meses do diagnóstico de inibidor, título de inibidor pré-IT inferior a 10 UB/mL e pico histórico entre 5 UB/mL e 200 UB/mL). O estudo foi suspenso em 2009 devido a um número cumulativamente maior de hemorragias no grupo de baixa dose. Com relação à eficácia da IT, até a suspensão do estudo (n = 116; n estimado de 150 pacientes) não houve diferença nos dois braços de tratamento. Entretanto, o tempo médio para negatização do título de inibidor e teste de recuperação de fator VIII normal foi aproximadamente 50% menor em pacientes que receberam a dose maior.

Tendo-se como base o exposto, segue a proposta do protocolo de IT para pacientes com hemofilia A e inibidor, após ampla discussão e recomendação da Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados e Comissão de Assessoramento Técnico às Coagulopatias.

2. OBJETIVO

Induzir imunotolerância (IT) em pacientes com hemofilia A que tenham desenvolvido inibidor persistente contra fator VIII, que interfere com a profilaxia e/ou tratamento sob demanda de eventos hemorrágicos.

3. PACIENTES

3.1. Critérios de inclusão do paciente

- Paciente com hemofilia A

- Apresentar inibidor persistente contra fator VIII, isto é, com duração de pelo menos 6 meses, comprovado através de pelo menos duas dosagens consecutivas (com intervalo entre 2-4 semanas) acima de 0,6 UB/mL e necessitando uso de agentes bypassing (concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado ou fator VII ativado recombinante) para controle de eventos hemorrágicos.

Observação:

a) Idealmente, recomenda-se que o protocolo seja iniciado no momento em que o paciente apresentar quantificação de inibidor < 10 UB/mL. Portanto, nos pacientes com título >10 UB/mL, sugere-se aguardar um período de até 3 meses sem exposição ao fator VIII para regressão dos níveis de inibidor. Se após este período não houver regressão do título abaixo de 10 UB/mL, deve-se considerar início de IT.

b) A resposta anamnésica com o uso de concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado é variável, entre 4,9%-31,5%. Para pacientes que desenvolveram resposta anamnésica com uso deste produto, recomenda-se, tratar os eventos hemorrágicos com concentrado de fator VII ativado recombinante por até 3 meses (quando houver boa resposta ao mesmo) com o objetivo de reduzir os níveis de inibidor abaixo de 10 UB/mL antes do início da IT.

- Avaliação favorável da equipe multidisciplinar do Centro de Tratamento de Hemofilia (CTH) e existência de condição para infusão do concentrado de fator de coagulação (em via periférica ou manipulação de cateter venoso central) (Anexo 1).

- Assinatura de consentimento do responsável (Anexo II).

- Compromisso do paciente, pais ou responsáveis em registrar todas as infusões em planilha própria (Anexo V - Planilha de infusão domiciliar ou similar) e devolver ao CTH até no máximo a cada 2 meses.

Observação:

a) Previamente à inclusão, os pacientes devem ser submetidos a hemograma, pesquisa e titulação de inibidor, uréia e creatinina, transaminases, fosfatase alcalina, GGT, tempo de protrombina, albumina, globulinas e exame do urina de rotina. b) Os resultados das sorologias para HIV, HTLV, hepatitis B e C devem ter sido realizados em data máxima de 12 meses antes da data de inclusão.

3.2. Critérios de inclusão do Centro de Tratamento de Hemofilia

O Centro de Tratamento de Hemofilia (CTH) deve ter equipe multidisciplinar minimamente constituída por médico hematologista ou hematopediatra e enfermeiro;

O CTH deve contar com infra-estrutura (própria ou conveniada) e pessoal treinado (inclusive cirurgião pediátrico ou vascular com habilidade) para implante de cateter venoso central, quando necessário, e cuidados para com o mesmo, caso seja necessário;

É responsabilidade do CTH proporcionar a realização de exames rotineiros de coagulação, além de dosagem de fator VIII e dosagem quantitativa do inibidor pelo método de Bethesda modificado, teste de recuperação de fator VIII e vida média do fator VIII (Anexo III). As amostras para realização destes testes poderão ser enviadas a um laboratório conveniado sob a responsabilidade do gestor local na garantia das condições éticas e de boas práticas laboratoriais, conforme orientações em Anexo IV, que foi encaminhado a toda hemorráde por meio do ofício nº 071/2013/COS/HD/DAHU/SAS/MS, de 11 outubro de 2013.

É de responsabilidade do CTH o registro de todos os eventos hemorrágicos do paciente, assim como todas as infusões de concentrado de fator utilizadas pelo paciente no Sistema Hemovida Web Coagulopatias, de acordo com informações contidas no Anexo V (Planilha de infusão domiciliar) ou similar.

4. INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA

4.1. Esquemas

A indução de IT poderá empregar diferentes doses com as indicações a seguir.

4.1.1. Esquema de baixas doses: 50 U/Kg/dia, 3 vezes por semana.

É indicado como esquema padrão para início da IT em todos os pacientes que preencherem os critérios de inclusão.

4.1.2. Esquema de altas doses: 100 U/Kg por dia, diariamente.

É indicado mediante ausência de declínio do título de inibidor com esquema de baixas doses em pelo menos 20% (após atingido o pico máximo desde início da IT) em cada período de 6 meses após início da IT.

4.2. Produto

A IT deverá ser realizada com o concentrado de fator VIII que o paciente vem fazendo uso.

Em pacientes que iniciaram tratamento da hemofilia A com concentrado de fator VIII recombinante e desenvolveram inibidor com o uso deste, a IT deverá ser realizada com o concentrado de fator VIII recombinante, seguindo as demais recomendações deste protocolo (importante: vide observação complementar sobre mudança de tipo de concentrado durante acompanhamento no item 8.2).

5. ACOMPANHAMENTO

É recomendado que o paciente seja avaliado quinzenalmente pelo médico no primeiro mês de tratamento. A seguir, mensalmente até o sexto mês e, depois, a cada 2 meses até a suspensão da IT. Caso o tratamento seja realizado em nível domiciliar, o paciente deverá retornar ao centro de tratamento os frascos dos concentrados de fator vazios, assim como equipo, agulhas e seringas com o preenchimento devido da ficha de infusão domiciliar (Anexo V) ou similar, conforme Anexo VI (Ficha de Inclusão e Acompanhamento de Imunotolerância).

A quantificação do inibidor deverá ser realizada mensalmente nos primeiros 6 meses e a seguir a cada 2 meses até atingir < 5 UB/mL, quando a quantificação deverá ser repetida mensalmente. Outros testes poderão ser necessários de acordo com evolução do paciente e avaliação médica.

6. INTERCORRÊNCIAS HEMORRÁGICAS E PROFILAXIA COM AGENTES BYPASSING

6.1. Intercorrências hemorrágicas

As intercorrências hemorrágicas deverão ser tratadas com: - Infusão de doses elevadas (até duas vezes) do concentrado de fator VIII (o mesmo utilizado para IT), quando título de inibidor atingir titulação inferior a 5 UB/mL e o paciente apresentar boa resposta;

- Infusão do concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado ou fator VII ativado recombinante enquanto inibidor > 5 UB/mL, de acordo com a resposta do paciente ao controle do quadro hemorrágico nas doses preconizadas no Hemofilia Congênita e Inibidor: Manual de Diagnóstico e Tratamento de Eventos Hemorrágicos do Ministério da Saúde, 2008.

- É imprescindível que todos os episódios hemorrágicos sejam devidamente documentados em planilhas próprias (Anexo V - Planilha de infusão domiciliar ou similar) e, posteriormente, registrados no Sistema Hemovida Web Coagulopatias.

6.2. Profilaxia com agentes bypassing

A profilaxia com agentes bypassing (concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado ou fator VII ativado recombinante) é recomendada para pacientes com alta tendência hemorrágica ao início da IT, até que o paciente atinja titulação de inibidor inferior a 5 UB/mL.

O tipo de agente bypassing a ser utilizado deverá levar em conta principalmente a resposta do paciente ao produto. Entretanto, mediante boa resposta do paciente ao concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado, este deve ser inicialmente utilizado devido a sua vida-média mais longa. A dose de uso é de 75 U/kg em dias alternados ou 3 vezes por semana. O complexo protrombínico parcialmente ativado pode ser utilizado após o início da IT, até mesmo em pacientes que apresentam histórico de resposta anamnésica com o seu uso. Alternativamente, o concentrado de fator VII ativado recombinante pode ser utilizado, em doses diárias de 90 mcg/kg/dia.

7. CRITÉRIOS DE DEFINIÇÃO DE DESFECHO CLÍNICO

7.1. Sucesso total

- Negatização do título de inibidor pelo método de Bethesda modificado, isto é, titulação do inibidor inferior a 0,6 UB/mL por pelo menos duas vezes consecutivas (com período mínimo de 2 meses entre cada dosagem);

- Teste de recuperação normal de fator VIII, isto é $\geq 66\%$ dos valores esperados (Anexo III);

- Vida média normal do fator VIII, isto é ≥ 6 horas (avaliado após período de 72 horas de wash-out de fator VIII) (Anexo III);

- Ausência de resposta anamnésica à exposição ao fator VIII.

7.2. Sucesso parcial

- Título de inibidor inferior a 5 UB/mL pelo método de Bethesda modificado; e/ou

- Teste de recuperação de fator VIII inferior a 66% dos valores esperados; e/ou

- Vida média do fator VIII inferior a 6 horas (avaliado após período de 72 horas de wash-out de fator VIII);

- Resposta clínica a infusão de fator VIII;

- Ausência de elevação dos títulos de inibidor acima de 5 UB/mL em um período de 6 meses (se paciente em tratamento sob demanda) ou por 12 meses (se em tratamento profilático).

7.3. Falha terapêutica

- Redução dos títulos de inibidor inferior a 20% a cada 6 meses (sendo a primeira verificação após 3 meses) durante IT, quando se recomenda reavaliar o protocolo utilizado;

- Ausência de critério para sucesso total ou parcial após 33 meses de tratamento.

8. CRITÉRIOS PARA MUDANÇA DE ESTRATÉGIA E SUSPENSÃO DA IMUNOTOLERÂNCIA

8.1. Critérios para suspensão do tratamento

A suspensão deverá ocorrer mediante ausência de resposta à IT após 33 meses de tratamento ou se o paciente apresentar aumento dos níveis de inibidor acima de 500 UB/mL após início da IT, sem redução dos títulos após 6-9 meses.

8.2. Troca do tipo de concentrado de fator VIII

Para pacientes em tratamento de IT com concentrado de fator VIII recombinante, deve-se considerar mudança do produto para concentrado de fator VIII de origem plasmática nos casos de ausência de declínio do título de inibidor em pelo menos 20% (após atingido o pico máximo desde início da IT), a cada 6 meses após início da IT com concentrado de fator recombinante.

8.3. Redução de dose após sucesso total

Pacientes que obtiveram sucesso total com a IT devem iniciar profilaxia de longa duração com concentrado de fator VIII 25 U/kg/dia 3 vezes por semana, logo após atingir os critérios de sucesso total (item 7.1).

O tratamento de IT deve ser revisto periodicamente pelo médico do CTH que acompanha o paciente e, quando necessário, discutido com médico com experiência em IT.



O médico do CTH deve acompanhar o paciente clinicamente, avaliando a evolução da titulação de inibidor, a vida média e a recuperação do fator VIII através de gráficos e análises de resposta continuadas, tal como descrito neste protocolo e anexos.

9. REFERÊNCIAS

- Abedon, L.M., Kroner, B. & Mariani, G. (2000) Hemophilia treatment. Immune tolerance induction: treatment duration analysis and economic considerations. *Haematologica*, 85(Suppl. 10), 83-85.
- Astermark, J., Morado, M., Rocino, A., van den Berg, H.M., von Depka, M., Gringeri, A., Mantovani, L., Garrido, R.P., Schiavoni, M., Villar, A. & Windyga, J. on behalf of the EHTSB. (2006b). Current European practice in immune tolerance induction therapy in patients with hemophilia and inhibitors. *Haemophilia*, 12, 363-371.
- Berntorp, E., Shapiro, A., Astermark, J., Blanchette, V.S., Collins, P.W., DiMichele, D., Escuriola, C., Hay, C.R., Hoote, W.K., Leissinger, C.A., Negrier, C., Oldenburg, J., Feerlinck, K., Reding, M.T. & Hart, C. (2006) Inhibitor treatment in haemophilias A and B: summary statement for the 2006 international consensus conference. *Haemophilia*, 12(Suppl. 6), 1-7.
- Brackmann, H.H. & Gormsen, I. (1977) Massive factor VIII infusion in haemophilic with factor VIII inhibitor, high responder. *Lancet*, 310, 933.
- Brackmann, H.H., Oldenburg, J. & Schwab, R. (1996) Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors: twenty years' Bonn protocol. *Vox Sanguinis*, 70(Suppl. 1), 30-35.
- Colowick, A.B., Behn, R.L., Avora, J. & Ewenstein, B.M. (2000) Immune tolerance induction in hemophilia patients with inhibitors: costly can be cheaper. *Blood*, 96, 1698-1702.
- Coppola, A., Margaglione, M., Santagostino, E., Rocino, A., Grandone, E., Mannucci, P.M. & Di Minno, G. for the AICE PROFIT Study Group. (2009) Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of patients with severe hemophilia A and high-responding inhibitors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7, 1809-1815.
- Coppola, A., Santoro, C., Tagliaferri, A., Franchini, M. & Di Minno, G. (2010) Understanding inhibitor development in hemophilia A: towards clinical prediction and prevention strategies. *Haemophilia*, 16(Suppl. 1), 13-19.
- Di Minno, M.N.D., Di Minno, G., Di Capua, M., Cerbone, A.M. & Coppola, A. (2010) Cost of care of haemophilia with inhibitors. *Haemophilia*, 16, e190-e201.
- DiMichele, D. (2009) The North American Immune Tolerance Registry: contributions to the thirty-year experience with immune tolerance therapy. *Haemophilia*, 15, 320-326.
- DiMichele, D. & Hay, C.R. (2006) The international immune tolerance study: a multicenter prospective randomized trial in progress. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6, 2271-2273.
- DiMichele, D.M., Hoote, W.K., Pipe, S.W., Rivard, G.E. & Santagostino, E. (2007) International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia*, 13(Suppl. 1), 1-22.
- Goodeve, A.C. & Peake, I.R. (2003) The molecular basis of hemophilia A: genotype-phenotype relationships and inhibitor development. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 29, 23-30.
- Gouw, S.C., van der Born, J.G. & van den Berg, H.M. for the CANAL Study Group. (2007) Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood*, 109, 464-465.
- Hay, C.R., Baglin, T.P., Collins, P.W., Hill, F.G. & Keeling, D.M. (2006) The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors Organization (UKHCDO). *British Journal of Haematology*, 133, 591-605.
- Hay, C.R.M., Goldberg, J., Foulkes, M. & DiMichele, D.M. on behalf of the International Immune Tolerance Study Group. (2010) International prospective randomized immune tolerance study: interim analysis of therapeutic efficacy and safety. *Haemophilia*, 16, 405.
- Kreuz, W., Escuriola-Ettingshausen, C., Auerswald, G., Heidemann, P., Kenkes-Mathes, B. & Schneppenheim, R. (2001) Immune tolerance induction (ITI) in haemophilia A with inhibitors: the choice of concentrate affecting success. *Haematologica*, 86(Suppl. 4), 16-20.
- Kroner, B.L. (1999) Comparison of the international immune tolerance registry and the North American immune tolerance registry. *Vox Sanguinis*, 77(Suppl. 1), 33-37.
- Lenk, H. (2000) The German registry of immune tolerance treatment in hemophilia - 1999 update. *Haematologica*, 85, 45-47.
- Mannucci, P.M. (2008) Back to the future: a recent history of haemophilia treatment. *Haemophilia*, 14(Suppl. 3), 10-18.
- Mariani, G. & Kroner, B. for the Immune Tolerance Study Group (2001) Immune tolerance in hemophilia with inhibitors: predictors of success. *Haematologica*, 86, 1186-1193.
- Mausner-Bunschoten, B.P., Nieuwenhuis, H.K., Roostendaal, G. & van den Berg, H.M. (1995) Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. *Blood*, 86, 983-988.
- Morfini, M., Haya, S., Tagariello, G., Pollmann, H., Quintana, M., Siegmund, B., Stieljes, N., Dolan, G. & Tusell, J. (2007a) European study on orthopaedic status of haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia*, 13, 605-612.
- Nilson, I.M., Bernrtorp, E. & Zettervall, O. (1988) Induction of immune tolerance in patients with hemophilia and antibodies to factor VIII by combined treatment with intravenous IgG, cyclophosphamide, and factor VIII. *New England Journal of Medicine*, 318, 947-950.
- Oldenburg, J., Schwab, R. & Brackmann, H.H. (1999) Induction of immune tolerance in haemophilia A inhibitor patients by the "Bonn Protocol": predictive parameter for therapy duration and outcome. *Vox Sanguinis*, 77(Suppl. 1), 49-54.
- Paisley, S., Wight, J., Currie, E. & Knight, J. (2003) The management of inhibitors in haemophilia A: introduction and systematic review of current practice. *Haemophilia*, 9, 405-417.
- Schwab, R., Brackmann, H.H., Meyer, C., Seehafer, J., Kirchgesser, M., Haack, A., Olek, K., Tuddenham, E.G. & Oldenburg, J. (1995) Haemophilia A: mutation type determines the risk of inhibitor formation. *Thrombosis and Haemostasis*, 74, 1402-1406.
- UK Haemophilia Centre Doctors' Organization (2004) The incidence of factor VIII and factor IX inhibitors in the hemophilia population of the UK and their effect on subsequent mortality, 1977-99. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2, 1047-1054.
- Wight, J., Paisley, S. & Knight, J. (2003) Immune tolerance induction in patients with haemophilia A with inhibitors. A systematic review. *Haemophilia*, 9, 436-463.
- International workshop on the immune tolerance induction: consensus recommendations, 2007.

ANEXO I

FICHA DE AVALIAÇÃO DA EQUIPE MULTIPROFISSIONAL
1-PROFISSIONAL MÉDICO: Aprovado () não aprovado ()
Observações:

Nome legível e assinatura de todos os profissionais que avaliaram o paciente:
2-PROFISSIONAL DE ENFERMAGEM: Aprovado () não aprovado ()
Observações:

Nome legível e assinatura de todos os profissionais que avaliaram o paciente:
3-PROFISSIONAL DE ASSISTÊNCIA SOCIAL: Aprovado () não aprovado ()
Observações:

Nome legível e assinatura de todos os profissionais que avaliaram o paciente:
4-PROFISSIONAL DE PSICOLOGIA: Aprovado () não aprovado ()
Observações:

Nome legível e assinatura de todos os profissionais que avaliaram o paciente:
5-DECISÃO FINAL: Aprovado () não aprovado ()
Observações:

ANEXO II

TERMO DE ESCLARECIMENTO E RESPONSABILIDADE PARA TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA PARA HEMOFILIA A

Nome completo do paciente:
Data de nascimento: Idade:
Número do registro no hemowebweb Cosgopatias:
Nome do Centro de Hemofilia onde o paciente está cadastrado:

Endereço:
Fone/fax/e-mail:
Nome da mãe:
Nome do pai:

TERMO DE ESCLARECIMENTO E RESPONSABILIDADE
1. O que é imunotolerância?

A imunotolerância é o nome que se dá ao tratamento que é realizado para pacientes com hemofilia A congênita que desenvolveram inibidores contra o fator VIII infundido. A imunotolerância que está sendo oferecida consiste na infusão frequente de fator VIII, isto é, de 3 a 7 dias por semana por tempo prolongado. A cura do inibidor pode ocorrer em até 80% dos pacientes tratados.

2. O que é inibidor?
Os inibidores são anticorpos que são produzidos pelo paciente com hemofilia contra o fator VIII infundido. É uma complicação da hemofilia e pode acontecer em até 30% dos pacientes com hemofilia A, sendo mais frequente em pacientes com hemofilia A grave.

3. Quem pode participar da imunotolerância?
Podem participar da imunotolerância os pacientes com hemofilia A que apresentam inibidor persistente por mais de 6 meses e que necessitam usar concentrado de complexo protrombínico ativado e/ou fator VII ativado recombinante para tratar as hemorragias. A inclusão dos pacientes será feita por uma equipe de médicos.

Assim como para a aplicação da dose domiciliar, haverá necessidade de avaliação favorável da equipe multidisciplinar do centro de hemofilia (composta pelo menos por médico e enfermeira). Ainda, será necessário treinamento para infusão do concentrado de fator de coagulação que pode ser infundido em casa (em veia periférica ou por cateter venoso central).

4. Como será feito o acompanhamento do tratamento?
O paciente deverá ser avaliado periodicamente pelo médico até a suspensão da imunotolerância (que pode durar até aproximadamente 3 anos). Durante o tratamento de imunotolerância, o teste de dosagem do inibidor será realizado com frequência no centro tratador, de acordo com orientação médica. As consultas e orientações devem ser rigorosamente seguidas pelo paciente.

5. Quais são as possibilidades de resultados do tratamento?
O tratamento pode ter sucesso total, parcial ou não ter sucesso. Não existe como prever com certeza se o tratamento de imunotolerância terá ou não sucesso. O tempo máximo de duração da imunotolerância será de aproximadamente 33 meses. Se o paciente não tiver resposta neste período, o tratamento será suspenso.

6. O que deve ser feito para o bom andamento do tratamento?
Para que o tratamento seja bem sucedido, a imunotolerância não pode ser suspensa de forma alguma, sem a recomendação médica. O paciente e seus familiares devem seguir rigorosamente todas as orientações dadas por seu médico e equipe multiprofissional. É essencial a participação e envolvimento do paciente e de sua família. Em caso de qualquer dúvida deve-se contatar o centro de hemofilia.

7. Quais são os riscos da imunotolerância ao paciente?
Os riscos estão relacionados à possibilidade de maior frequência de hemorragias nas primeiras semanas de tratamento. Ainda, devido à frequência de infusões, o paciente pode necessitar da instalação de cateter venoso central caso o acesso de veias periféricas fique dificultado. Por último, existe o risco de infecções por agentes transmitidos pelo sangue caso o paciente esteja sendo tratado com fator de origem plasmática, embora anualmente este risco seja desprezível para os agentes infecciosos conhecidos.

8. O que acontece se o paciente se recusar a fazer o tratamento da imunotolerância?
O paciente que não concordar em fazer o tratamento continuará ser atendido normalmente no centro de hemofilia. Entretanto, a chance de cura do inibidor sem este tratamento é mínima e o paciente provavelmente terá que conviver com o inibidor e seus riscos durante toda a vida.

É importante saber que este tratamento não faz parte de um projeto de pesquisa. Ao assinar este documento, o paciente ou familiares/responsáveis declaram que:
a) foram devidamente orientados e compreenderam o que é imunotolerância;
b) estão cientes das potenciais complicações do tratamento;
c) estão cientes da possibilidade de "falha" do tratamento e desisto cientes da suspensão do tratamento após o tempo máximo de 33 meses.

9. Ao assinar este documento, o paciente ou familiares/responsáveis se comprometem a:
cumprir todas as regras do tratamento, incluindo comparecer às consultas agendadas, coletar sangue para exames, devolver ao centro todo material das infusões domiciliares (frascos, seringas e agulhas), preencher planilha com dados de infusão domiciliar e não suspender o tratamento sem recomendação médica.

Data, nome legível e assinatura do paciente, familiar ou responsável:
Testemunhas:
Nome legível e assinatura:
Nome legível e assinatura:

ANEXO III
AVALIAÇÃO LABORATORIAL DA IMUNOTOLERÂNCIA PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM HEMOFILIA A E INIBIDOR

Para a indicação e acompanhamento do tratamento de imunotolerância (ITI), três testes são utilizados: (1) Quantificação de inibidor, (2) Teste de recuperação in vivo (IVR), e (3) Vida-média de fator VIII. Neste material abordaremos a metodologia de cada um dos testes e os parâmetros de avaliação que devem ser considerados para determinação do sucesso ou não do protocolo de ITI.

1. QUANTIFICAÇÃO DE INIBIDOR DE FVIII

Vários métodos têm sido descritos para se realizar a quantificação de inibidor em hemofilia. No entanto, o método de Bethesda, inicialmente descrito por Kasper e cols. em 1975 e recentemente modificado pelo protocolo de Nijmegen (Verbruggen et al., 1995) é o mais utilizado e recomendado pela Federação Mundial de Hemofilia.

- Método Bethesda: A versão original ou o método clássico de Bethesda envolve a mistura da amostra do paciente com um mesmo volume de pool de plasma normal. Como a maior parte dos anticorpos são tempo e temperatura dependentes, a mistura deve ser incubada por 2 horas a 37°C antes de se realizar a dosagem de fator VIII coagulante (FVIII:C). Simultaneamente, um plasma com nível FVIII:C conhecido é misturado com o tampão diluente para uma análise em paralelo (Figura 1).



Método Nijmegen (Bethesda modificado): A variação de Nijmegen do método de Bethesda envolve duas modificações (Figura 1): (1) o pool de plasma normal é tamponado e estabilizado com tampão imidazol e (2) o plasma controle é misturado com o plasma deficiente em fator VIII ao invés de tampão. Estas modificações, além de diminuir a possibilidade de resultado falso positivo, reduzem o coeficiente de variação do teste comparado com o teste clássico de Bethesda, melhorando, assim, a sua confiabilidade.

Teste Clássico de Bethesda

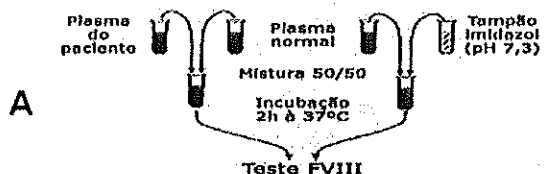


Figura 1. Ilustração esquemática dos testes de Bethesda (A) e Bethesda modificado por Nijmegen (B). O mesmo protocolo poderá ser utilizado para a determinação do inibidor de fator IX, mas o tempo de incubação para esta determinação poderá ser de apenas 10 minutos, uma vez que o inibidor de fator IX não apresenta caráter tempo-dependente.

1.1 Técnica para realização do teste Bethesda Modificado por Nijmegen

- Preparo do plasma Controle (mistura 1):
 - Preparar o pool de plasma normal tamponado (reagente A), misturando 1 parte de pool de plasma normal com 1 parte de tampão imidazol (volume/volume)
 - Mistura 1: misturar 1 parte do pool de plasma normal tamponado (reagente A) com 1 parte de plasma deficiente em FVIII (reagente B) (volume/volume).
- Preparo da amostra-teste:
 - Mistura 2: misturar 1 parte do plasma do paciente (reagente C) com 1 parte de pool de plasma normal tamponado (reagente A) (volume/volume)
 - Repetir o procedimento anterior a fim de obter diluições 1:2, 1:4, 1:8 do plasma do paciente. Caso haja suspeita de inibidor de alto título, estas diluições podem ser aumentadas.

Análise:

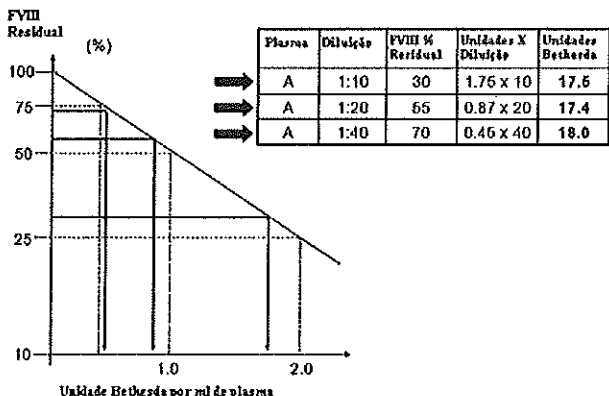
- Incubar as misturas 1 e 2 por 2 horas a 37°C
- Quantificar a atividade de FVIII.
- Cálculo da Atividade do Inibidor.

Cálculo da atividade de fator residual: o valor nominal de FVIII de cada diluição (mistura 2) deverá ser dividido pelo valor de FVIII encontrado no plasma controle (mistura 1) e multiplicado por 100.

A atividade residual do FVIII versus a diluição é plotada em papel mono-log em uma escala aritmética (ver Apêndice 1).

Por definição, uma unidade Bethesda corresponde à quantidade de inibidor capaz de neutralizar 50% da atividade de fator VIII plasmático, após incubação por 2 horas a 37°C. A atividade residual de 100% é o mesmo que 0% de unidades Bethesda, sendo possível obter um gráfico que tenha correlação entre atividade de fator VIII residual e o título de inibidor (Figura 2). É importante notar que o título de inibidor deverá ser plotado em um gráfico quando a atividade de fator residual estiver entre 25% e 75%.

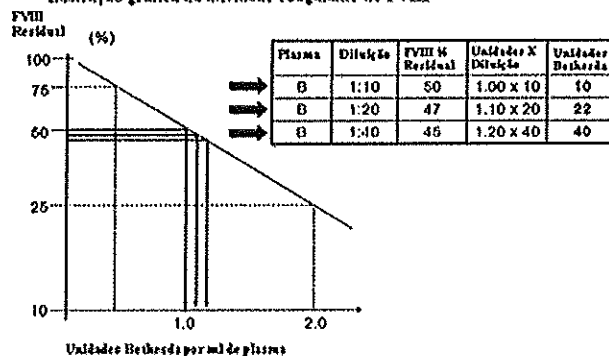
Ilustração gráfica da atividade coagulante de FVIII



Ref: WFH Laboratory Sciences Committee

Figura 2. Exemplo 1 do cálculo da atividade residual do fator VIII. Os pontos são plotados em um gráfico log-linear com 100%, 50% e 25% de atividade residual, correspondendo a 0, 1 e 2 Unidades Bethesda, respectivamente. No exemplo anterior o plasma A é testado nas diluições 1:10, 1:20 e 1:40. O título final é obtido multiplicando-se o valor obtido pelo fator de diluição correspondente. Note que as amostras evidenciaram unidades semelhantes de inibidor nas diversas diluições. Este resultado é o mais frequentemente encontrado. No entanto, como a cinética de reação dos anticorpos pode ser variável, títulos muito diferentes de inibidores podem ser obtidos numa mesma amostra em diluições diferentes (Figura 3). O exemplo a seguir demonstra esse cenário.

Ilustração gráfica da atividade coagulante de FVIII



Ref: WFH Laboratory Sciences Committee

Figura 3. Exemplo 2 do cálculo da atividade residual do fator VIII.

Em casos como este o resultado deve ser baseado na menor titulação, ou seja, 1:10. Valores menores que 0,6 UB/mL de plasma são considerados negativos. No entanto, é importante que se estabeleça o valor de referência negativo em cada laboratório, através da determinação plasmática de inibidor de FVIII:C em um número representativo de indivíduos normais.

Observação sobre os volumes usados nas reações:

Vários fatores influenciam o volume a ser usado nas reações descritas acima, entre eles, o método (manual x automatizado), volume de plasma disponível (adulto x criança), dentre outros. Desta forma, o volume deve ser definido em cada laboratório, devendo ser respeitada a proporção volume a volume. Em geral, volumes na ordem de 0,2 mL a 1 mL são adequados para os testes.

Para maior detalhamento dos métodos de quantificação de inibidor deve-se consultar o Manual de diagnóstico laboratorial das coagulopatias hereditárias e plaquetopatias, Ministério da Saúde 2012 e Hemofilia Congênita e Inibidor: Manual de Diagnóstico e Tratamento de Eventos Hemorrágicos, Ministério da Saúde, 2008, disponíveis em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_laboratorial_coagulopatias_hereditarias_plaquetopatias.pdf e http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/hemofilia_congenita_inibidor_diagnostico_tratamento.pdf, respectivamente.

2. TESTES DE RECUPERAÇÃO IN VIVO DO FATOR VIII E VIDA-MÉDIA DO FATOR VIII

Para o acompanhamento de resposta ao tratamento de IT, estes dois testes são fundamentais, uma vez que os anticorpos circulantes não-inibitórios podem estar presentes ainda que a quantificação do inibidor esteja negativa, isto é, menor que 0,6 UB/mL. Estes inibidores podem reduzir a recuperação do FVIII no plasma e encurtar a vida-média do FVIII.

O teste de recuperação in vivo expressa a relação ou a porcentagem da atividade máxima do FVIII observado no plasma após a infusão de concentrado de fator VIII exógeno por Kg de peso do paciente. O cálculo da expectativa do nível de FVIII: C é baseado na observação da capacidade de IUI de FVIII infundido por Kg do peso corpóreo, prover 0,02 UI/mL de FVIII:C na circulação. Portanto, o princípio do teste envolve a comparação do valor teórico do FVIII administrado com o valor esperado da recuperação deste fator no plasma do paciente. O teste de recuperação in vivo pode ser baseado na atividade de FVIII considerando o peso corpóreo (relação - IVR), ou no volume plasmático (%). O cálculo baseado no peso corpóreo tem mostrado preferência nos estudos de farmacocinética para teste de recuperação.

A vida-média refere-se ao tempo dispendido para que um medicamento reduza sua atividade em 50%, sendo este tempo dependente do medicamento administrado e da resposta individual.

Para o teste de recuperação in vivo e a vida-média do FVIII, é necessária a determinação da atividade do FVIII:C em três etapas e em sete tempos distintos:

- (1) Coleta FVIII:C e quantificação de inibidor antes da administração de fator,
- (2) Coletas aos 15 minutos, 30 minutos e 60 minutos após a administração do fator para o cálculo do teste de recuperação do fator VIII.
- (3) Coleta 3 horas, 6 horas e 24 horas após a administração do fator, para o cálculo da vida-média do fator VIII.

Para garantir a qualidade dos resultados e não permitir que os mesmos sejam subestimados, alterando assim toda a análise, é recomendável que o teste de FVIII:C seja determinado através de uma curva de calibração produzida com amostra padrão comercial conhecida como calibrador, em que o valor do FVIII:C é conhecido e preciso. Esta curva de calibração deverá ser validada para utilização apenas quando houver resultados de controle comercial normal e patológico dentro dos valores esperados (coeficiente de variação < 10% em relação à média esperada).

2.1. Recomendações para realização dos testes recuperação de fator VIII e vida média de fator VIII na avaliação de imunotolerância

Para a realização do teste de recuperação de FVIII e vida média de FVIII na avaliação de IT, algumas questões devem ser consideradas antes da coleta das amostras:

- Considerar que para o teste de recuperação e meia-vida do FVIII, deverá ser programado a coleta de amostras em sete tempos distintos, incluindo uma amostra com 24 horas após a infusão do fator, ou seja, no dia seguinte.



- O paciente deverá ter pelo menos dois resultados de quantificação de inibidor de FVIII negativos (< 0,6 UB/mL), com pelo menos 30 dias de intervalo entre cada teste.
 - O paciente não deverá ter recebido concentrado de FVIII ou qualquer outro produto que contenha FVIII por pelo menos 72 horas antes da realização dos testes (período de wash-out)
 - No dia da realização do teste de recuperação e vida média, uma amostra de sangue deverá ser coletada para a determinação do FVIII:C e da quantificação do inibidor de FVIII antes da infusão do concentrado de fator VIII.
 - Para os testes de recuperação e vida-média do FVIII a dose de infusão recomendada é de 50 UI/Kg.

2.2. Cálculo do Teste de recuperação do fator administrado:

Para o cálculo do teste de recuperação do fator administrado são necessários os seguintes dados: (1) o valor da dose total administrada em UI, (2) o peso do paciente no dia da realização do teste em Kg e o (3) resultado da determinação do FVIII:C antes da infusão e aos 15, 30 e 60 minutos após a infusão em UI/dL.

O cálculo poderá ser expresso por duas maneiras, (a) Relação IVR ou (b) Porcentagem de recuperação (%). Para o cálculo considerar o maior valor de FVIII:C entre os tempos (15 min, 30 min e 60 min após administração do concentrado de fator VIII).

(a) Relação IVR

IVR (IU dL⁻¹ por IU Kg⁻¹) = FVIII:C (%) x peso (Kg) / dose total FVIII administrada (UI)

(b) Porcentagem (%)

Recuperação (%) = FVIII:C (%) x 0,45 (dL Kg⁻¹) x peso (Kg) x 100 / dose total FVIII (UI)

Obs: a constante 0,45 dL Kg⁻¹ corresponde ao percentual estimado de volume plasmático.

2.3. Cálculo da vida-média de Fator VIII (T1/2)

A vida-média pode ser calculada a partir de um gráfico de concentração plasmática do fator (%) versus o tempo (t).

Uma das alternativas para este cálculo é selecionar uma concentração aleatória e verificar o tempo que leva para que esta concentração diminua pela metade. No entanto, dada a diferença metabólica de cada indivíduo, a forma mais fidedigna para se obter este resultado é através de uma análise gráfica, considerando a constante de velocidade de eliminação (K_e).

A constante de velocidade de eliminação é a taxa de fármaco removido por unidade de tempo, e é expressa por fração decimal em unidades de tempo invertida (ex. 0,01 min⁻¹).

A constante de velocidade de eliminação pode ser calculada a partir da inclinação da linha formada sobre gráfico semi-logarítmico de concentração plasmática versus o tempo, e expressa em unidade de tempo.

A fórmula para obtenção da vida-média de uma proteína é:

$$T_{1/2} = 0,693 / K_e$$

(K_e) = (neperiano da concentração inicial - neperiano da concentração final) / (tempo final - tempo inicial)

(0,693) = Logaritmo natural de 2 (constante)

3. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES PARA O ACOMPANHAMENTO DA IMUNOTOLERÂNCIA

A avaliação dos resultados de todos os testes mencionados deverá ser realizada em conjunto, sendo três as possibilidades de resposta ao tratamento de IT:

- (1) Resultado com sucesso,
- (2) Resultado com sucesso parcial,
- (3) Falha.

3.1. Resultados com sucesso

O sucesso da IT é considerado levando-se em conta quatro parâmetros, que devem estar dentro da normalidade esperada:

- Título de inibidor negativo (< 0,6 UB/mL) em duas ocasiões com intervalo de 30 dias;
- Teste normal de recuperação de FVIII:C, isto é, ≥ 66%;
- Vida-média de FVIII normal, isto é, ≥ 6 horas após 72 horas sem infusão de concentrado de fator VIII exógeno

• Ausência de resposta anamnésica em futura re-exposição ao fator VIII

3.2. Resultados com sucesso parcial

O protocolo de ITI é considerado com sucesso parcial quando, os parâmetros estão presentes, mas a resposta é inferior a esperada.

- Título de inibidor < 5 UB/mL após IT sem aumento do título de inibidor acima de 5 UB/mL durante pelo menos seis meses de uso do concentrado do fator VIII;
- Teste de recuperação de FVIII:C < 66%;

• Vida-média de FVIII < 6 horas após 72 horas sem infusão de concentrado de fator VIII exógeno;

• Resposta clínica à reposição de concentrado de FVIII.

3.3. Falha de resposta

A IT será considerada como falha de resposta quando os quatro parâmetros são avaliados, mas a resposta é inferior a esperada.

• Ausência de critério para sucesso total ou parcial após 33 meses de tratamento. Deve-se considerar 9 meses o período mínimo para IT e 33 meses o período máximo quando não se obtém sucesso na avaliação dos parâmetros de análise e

• Após três meses de tratamento, < de 20% da redução do título de inibidor

REFERÊNCIAS:

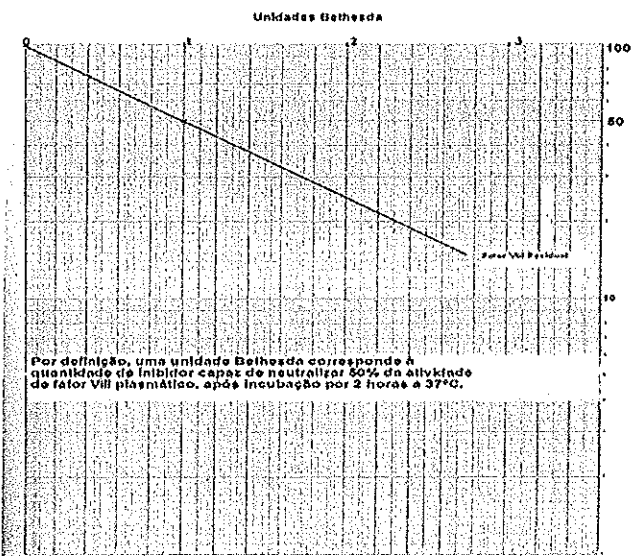
DiMichele DM, Hoots WK, Pipe SW, Rivard GE, Santagostino E. International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. Haemophilia. 2007 Jul;13 Suppl 1:1-22.

Collins PW, Fischer K, Morfini M, Blanchette VS, Björkman S; International Prophylaxis Study Group Pharmacokinetics Expert Working Group. Implications of coagulation factor VIII and IX pharmacokinetics in the prophylactic treatment of haemophilia. Haemophilia. 2011 Jan;17(1):2-10.

Shapiro AD, Koth-Bradley J, Poon MC. Use of pharmacokinetics in the coagulation factor treatment of patients with haemophilia. Haemophilia. 2005 Nov;11(6):571-82.

APÊNDICE 1 DO ANEXO III

EXEMPLO DE PAPEL SEMILOGARITÍMICO PARA AVALIAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO DE INIBIDOR



APÊNDICE 2 DO ANEXO III VALORES DE REFERÊNCIA

Resultado com sucesso

- Negativação do título de inibidor pelo método de Bethesda modificado, isto é, titulação do inibidor inferior a 0,6 UB/mL por pelo menos duas vezes consecutivas (com período mínimo de 2 meses entre cada dosagem);
- Teste de recuperação normal de fator VIII, isto é ≥ 66% dos valores esperados;
- Vida média normal do fator VIII, isto é ≥ 6 horas (avaliado após período de 72 horas de wash-out de fator VIII);
- Ausência de resposta anamnésica à exposição ao fator VIII.

Resultado com sucesso parcial

- Título de inibidor inferior a 5 UB/ml pelo método de Bethesda modificado; e/ou
- Teste de recuperação de fator VIII < 66% dos valores esperados; e/ou
- Vida média do fator VIII < 6 horas (avaliado após período de 72 horas de wash-out de fator VIII);
- Resposta clínica a infusão de fator VIII;
- Ausência de elevação dos títulos de inibidor acima de 5 UB/ml em um período de 6 meses (se paciente em tratamento sob demanda) ou por 12 meses (se em tratamento profilático).

Falha

- Redução dos títulos de inibidor inferior a 20% a cada 6 meses (sendo a primeira verificação após 3 meses) durante imunotolerância, quando se recomenda reavaliar o protocolo utilizado;
- Ausência de critério para sucesso total ou parcial após 33 meses de tratamento

Conclusão: _____

Responsável pela análise: _____

Data: _____

APÊNDICE 3 DO ANEXO III

FICHA DE AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA

Parâmetros farmacocinéticos (nível 1: teste de recuperação e meia-vida)

Nome: _____
Registro: _____

