



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA À SAÚDE

PORTARIA Nº 1.114, DE 16 DE NOVEMBRO DE 2021

Redefine o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Indivíduos com Hemofilia A e Inibidor.

O Secretário de Atenção Especializada 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 Especializada à Saúde do Ministério da Saúde a competência de normatizar a área de hemoterapia e hematologia, bem como gerir a Política Nacional de Sangue, Componentes e Hemoderivados;

Considerando que a necessidade de atualizações pontuais no protocolo de uso de indução de imunotolerância para indivíduos com hemofilia A e inibidor, adequando-o às inovações do no tratamento da doença; e

Considerando a avaliação pela Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados - CGSH/DAET/SAES/MS, constante da Nota Técnica 27/2021-CGSH/DAET/SAES/MS (SEI/NUP 25000.160450/2020-33), resolve:

Art. 1º Fica redefinido o Protocolo de Uso de Indução de Imunotolerância para Indivíduos com Hemofilia A e Inibidor, na forma do Anexo, disponível no sítio <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt>.

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

§ 2º Os critérios de inclusão no Protocolo, bem como as orientações de acompanhamento dos indivíduos, 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 cientificação do paciente, ou do seu responsável legal, dos potenciais riscos e efeitos colaterais relacionados ao tratamento e quanto aos procedimentos preconizados para indução de imunotolerância para os indivíduos com hemofilia A e inibidor, conforme Termo de Esclarecimento e Responsabilidade.

Art. 3º Os gestores estaduais e municipais do SUS, conforme a sua competência e pactuações, deverão estruturar a rede assistencial, incluindo suporte laboratorial, 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, disponível no sítio citado no art. 1º.

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

Art. 5º Fica revogada a Portaria SAS/MS nº 478, de 16 de junho de 2014, publicada no Diário Oficial da União (DOU) nº 114, seção 1, de 17 de junho de 2014, página 70.

SERGIO YOSHIMASA OKANE

ANEXO

PROTOCOLO DE USO DE INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA PARA INDIVÍDUOS 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 do fator VIII (hemofilia A) ou do fator IX (hemofilia B) da coagulação. As hemofilias A e B ocorrem em aproximadamente 1:10.000 e 1:50.000 nascimentos de crianças do sexo masculino, respectivamente, não apresentando variação étnica (Peyvandi et al, 2016). Do ponto de vista clínico, as hemofilias A e B são semelhantes. O diagnóstico diferencial entre as hemofilias é realizado por exames laboratoriais de dosagens específicas da atividade de fator VIII e de fator IX. As hemofilias são classificadas de acordo com o nível plasmático de atividade coagulante do fator deficiente em leve, moderada e grave, quando o nível de fator é > 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 (Blanchete et al, 2014).

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/hematêmese, ou se apresentarem como hematomas, sangramentos retroperitoniais e intra-articulares (hemartroses), sendo esta, uma das manifestações mais características das formas graves da doença. Nestes indivíduos, as primeiras hemartroses geralmente ocorrem entre o 1º e 2º anos de vida, época de início da deambulação. As hemartroses afetam mais freqüentemente as articulações do joelho, tornozelo, cotovelo, ombro e coxo-femoral. Em longo prazo, as hemartroses de repetição estão associadas às seqüelas motoras, às contraturas e a deficiência física permanente (Peyvandi et al, 2016).

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

Uma das complicações temíveis em indivíduos com hemofilia refere-se ao desenvolvimento de inibidores, que são anticorpos da classe IgG direcionados contra os fatores VIII e IX infundidos (aloanticorpos). Neste caso, os indivíduos acometidos passam a não responder a infusão do fator deficiente e apresentam episódios hemorrágicos de difícil controle (Ljung et al, 2019).

Os inibidores se desenvolvem mais freqüentemente em indivíduos com hemofilia grave e após as primeiras infusões de fator, em geral até o 50º dia de infusão. Os fatores de risco sabidamente associados ao desenvolvimento de inibidores são o tipo da 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 e a história familiar de inibidor (Schwaab et al, 1995; Gouw et al, 2007; Goodeve & Peake, 2003). Outros potenciais fatores de risco são a classificação HLA, raça, o tipo de produto utilizado no tratamento e vacinação (Kreuz et al, 2001; Peyvandi et al, 2016). Entre 20%-35% dos indivíduos com hemofilia A e 1%-5% dos indivíduos com hemofilia B desenvolvem inibidores durante a vida (UK Haemophilia Centre Doctors' Organization; 2004).

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 (Blanchete et al, 2014). 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 dos indivíduos com inibidores (Collins et al, 2013; Collins et al, 2017).

O único tratamento capaz de erradicar os inibidores é a imunotolerância, que consiste na infusão diária ou em dias alternados do concentrado de fator deficiente, na tentativa de dessensibilizar o paciente (Aledort et al 2000; Berntop et al, 2006). Este tratamento pode durar de semanas a anos, podendo ser bastante oneroso (Colowick et al, 2000; Di Minno et al, 2010). De acordo com estudos de vários grupos, a imunotolerância é capaz

de erradicar os inibidores na hemofilia A em 60% a 80% dos casos tratados (DiMichele et al, 2007). Após a erradicação do inibidor, o paciente pode retomar o tratamento com o fator deficiente (Collins et al, 2013; Collins et al, 2017). Diversos protocolos de imunotolerância já foram propostos, com diferentes esquemas e doses (Brackmann et al, 1996; Oldenburg et al, 1999; Mauser-Bunschoten et al, 1995). Não há, entretanto, até o presente, um esquema ótimo que seja universalmente recomendado.

A maior parte das informações existentes sobre a resposta a imunotolerância e os fatores preditivos de resposta advém da análise retrospectiva de registros de pacientes com inibidor que se submeteram a imunotolerância. 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* (Kroner, 1999; Mariani et al, 2001; Lenk, 2000; DiMichele et al, 2009).

Com relação à eficácia do tratamento de indução de imunotolerância, os principais preditores de resposta são a presença de título de inibidor inferior a 10 UB/mL ao início da imunotolerância e o pico histórico máximo de inibidor <200 UB/mL. Com relação à idade e ao intervalo de tempo decorrido entre o diagnóstico do inibidor e o início da IT, os resultados são mais conflitantes (Coppola et al, 2010). O tipo de mutação também parece estar associado a resposta a imunotolerância (Coppola et al 2009).

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-imunotolerância <10 UB/mL (Paisley et al, 2003). Por outro lado, pacientes com título histórico acima de 200 UB/ mL e/ou pré-imunotolerância >20 UB/ mL tiveram melhor resultado quando tratados com dose diária de fator VIII superior a 200 UI/kg (Paisley & Wight, 2003). Estes resultados forneceram dados para o primeiro estudo randomizado de imunotolerância (The International Immune Tolerance Study), cujo objetivo foi identificar a dose mais adequada (se 50 UI/kg 3 vezes por semana ou 200 UI/kg/dia de concentrado de fator VIII) em indivíduos classificados como de bom prognóstico (idade inferior a 8 anos, início de imunotolerância antes de 24 meses do diagnóstico de inibidor, título de inibidor pré-imunotolerância inferior a 10 UB/mL e pico histórico entre 5 UB/mL e 200 UB/mL) (Hay et al, 2010; DiMichelle & Hay, 2006; DiMichelle & Hay, 2012). O estudo foi suspenso em 2009 devido a um número cumulativamente maior de hemorragias no grupo de baixa dose. Com relação à eficácia da imunotolerância, 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 (Hay et al, 2010; DiMichelle & Hay, 2006; DiMichelle & Hay, 2012).

O objetivo deste documento é propor uma versão revisada do protocolo de imunotolerância para indivíduos com hemofilia A e inibidor. A primeira versão foi redigida em novembro de 2011, com revisão em maio de 2013 e agosto de 2015. Assim, esta é a terceira revisão do protocolo original. Não será abordado, nesse documento, o tratamento de inibidores contra o fator IX em indivíduos com hemofilia B.

2. OBJETIVO

Induzir tolerância ao fator VIII em indivíduos com hemofilia A que tenham desenvolvido aloanticorpos persistentes (inibidores) contra o fator VIII, de forma a interferir com a profilaxia e/ou tratamento sob demanda de eventos hemorrágicos.

3. PACIENTES

3.1. Critérios de inclusão do paciente

- Paciente com hemofilia A congênita e
- Inibidor persistente, de alto título ou alta resposta, contra o fator VIII, isto é, caracterizado por duas dosagens consecutivas (com intervalo entre 2-4 semanas) acima de 0,6 UB/mL e demandando uso de agentes *bypassing* (concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado ou fator VII ativado recombinante) para controle dos eventos hemorrágicos e
- Avaliação favorável da equipe multidisciplinar do Centro de Tratamento de Hemofilia (CTH) e existência de condição de armazenamento adequado e infusão do concentrado de fator de coagulação (em veia periférica ou manipulação de catéter venoso central) (Anexo 1) e
- Concordância com as orientações do tratamento, mediante assinatura de termo de consentimento pelo paciente ou responsável (Anexo 2), o que inclui o compromisso do paciente, pais ou responsáveis a registrar todas as infusões em planilha própria (Anexo 3 – Planilha de infusão domiciliar ou similar) e devolver ao CTH até no máximo a cada 2 meses.

Observações:

- a. Idealmente, recomenda-se que o protocolo seja iniciado no momento em que o paciente apresentar quantificação de inibidor < 10 UB/mL. Entretanto, quanto mais rapidamente se iniciar o tratamento de imunotolerância, melhor. Por isso, a vigilância do desenvolvimento dos inibidores através da sua dosagem frequente, isto é, a cada 5 dias de exposição (DE) nos primeiros 30 DE é fundamental e deve ser rigorosamente seguida. Desta forma, o inibidor será prontamente detectado e a imunotolerância será mais rapidamente iniciada.
- b. Devido à complexidade dos pacientes e do seu tratamento, a prestação da assistência à saúde de pacientes com hemofilia e inibidor e o tratamento de imunotolerância devem ser realizados nos Centros de Tratamento de Hemofilia (CTH) de maior complexidade (centro de referência do Estado) por equipe experiente no cuidado destes pacientes.
- c. Caso o paciente seja acompanhado no centro de hemofilia regional, o centro de referência do Estado deverá se responsabilizar pelo treinamento, monitoramento e supervisão do tratamento de imunotolerância pela equipe técnica daquele centro, prestando consultorias periódicas e sempre que necessário.

Previamente à inclusão, os pacientes devem ser submetidos a hemograma, pesquisa e titulação de inibidor, uréia e creatinina, transaminases, fosfatase alcalina, gamaglutamil transpeptidase, tempo de protrombina, albumina, globulinas e exame de urina rotina.

Os resultados das sorologias para HIV, HTLV, hepatites B e C devem ter sido realizados em data máxima de 12 meses antes da data de inclusão.

3.2. Requisitos mínimos exigidos para Centro de Tratamento de Hemofilia

- O CTH deve ter equipe multidisciplinar experiente no tratamento de pacientes com inibidor e tratamento de imunotolerância, minimamente constituída por médico hematologista ou hemato-pediatra, enfermeiro e assistente social;
 - O CTH deve contar com infra-estrutura (própria ou conveniada) e pessoal treinado (inclusive cirurgião pediátrico ou vascular com habilidade) para implante de catéter venoso central quando necessário e cuidados para com o mesmo, caso seja necessário;
 - É da responsabilidade do CTH proporcionar a realização de exames rotineiros de coagulação, além de dosagem de fator VIII, teste de triagem e titulação do inibidor pelo método de Bethesda modificado, teste de recuperação de fator VIII e vida média do fator VIII (Anexo 4). 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.
 - É de responsabilidade do CTH registrar todos os eventos hemorrágicos do paciente, assim como todas as infusões de concentrado de fator utilizadas pelo paciente no Sistema Hemovidaweb Coagulopatias de acordo com informações contidas no Anexo 3 (Planilha de infusão domiciliar) ou similar.
- O tratamento de imunotolerância **SOMENTE** poderá ser iniciado após a liberação do órgão responsável do Ministério da Saúde mediante a solicitação de inclusão do paciente, que é de responsabilidade do CTH e deverá ser realizada pelo profissional médico. Para que o paciente seja incluído, o CTH deverá fornecer as informações necessárias solicitadas pelo órgão.
- O CTH poderá dispensar os concentrados de fator VIII, assim como os agentes de *bypassing* (para os pacientes que tiverem indicação de uso – vide item 5), para uso domiciliar **para no máximo 60 dias**, mediante prestação de contas dos volumes infundidos (preenchimento das planilhas relacionadas ao período anterior e devolução de frascos e de material perfuro-cortante).

4. INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA

4.1. Esquemas

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

4.1.1. *Esquema de baixas doses: 50 unidades internacionais (UI)/Kg/dia, 3 vezes por semana.*

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

4.1.2. *Esquema de altas doses: 100 UI/kg por dia, diariamente.*

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

Para tal, o médico deverá acompanhar as dosagens seriadas de inibidor de cada paciente, preferencialmente plotando-os em planilha e realizando gráficos para acompanhamento dos níveis para avaliação da resposta ao tratamento.

4.2. Produto

A imunotolerância deverá, sempre que possível, ser realizada com o concentrado de fator VIII com o qual o paciente desenvolveu inibidor, seja este de origem plasmática ou recombinante.

Observação:

a. vide observação complementar sobre mudança de tipo de concentrado durante acompanhamento no item 7.2.

5. ACOMPANHAMENTO

É recomendado que o paciente seja avaliado pelo menos quinzenalmente pelo médico no primeiro mês de tratamento, a seguir mensalmente até o sexto mês e depois a cada 2 meses até que o inibidor atinja 5 UB/mL. A partir de então, o paciente deverá ser avaliado mensalmente até a suspensão da imunotolerância (Anexo 5). Caso o tratamento seja realizado em nível domiciliar, o paciente deverá retornar, ao CTH, os frascos dos concentrados de fator vazios, assim como equipo, agulhas e seringas com o preenchimento devido da ficha de infusão domiciliar (Anexo 3) ou similar.

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 realizada mensalmente (Anexo 5).

Para cada paciente, recomenda-se gerar uma curva de monitoramento da titulação do inibidor a cada 1-2 meses. Isso auxiliará a visualização dos níveis de inibidor e orientará a indicação de migração para esquemas de altas doses ou definição de falha. A identificação e anotação da titulação do pico máximo do inibidor após o início da imunotolerância com respectiva data é fundamental para auxiliar o monitoramento da resposta a imunotolerância.

Outros testes poderão ser necessários de acordo com evolução do paciente e a avaliação médica.

Será caracterizado como abandono de tratamento o não-comparecimento do paciente ao centro de hemofilia para infusão do fator por tempo superior a 30 dias consecutivos ou a não-infusão domiciliar pelo mesmo período sem motivo justificável (por exemplo, sangramento grave, acidente, trauma, internação, cirurgia). Recomenda-se que a equipe multiprofissional (ou assistente social) monitore os pacientes em tratamento de imunotolerância para garantir a aderência do paciente e da família ao tratamento e identificar precocemente a não-aderência e abandono.

6. INTERCORRÊNCIAS HEMORRÁGICAS E PROFILAXIA COM AGENTES *BYPASSING*

6.1. Intercorrências hemorrágicas

As intercorrências hemorrágicas deverão ser tratadas por meio de:

- Infusão de doses elevadas (até duas vezes) do concentrado de fator VIII (o mesmo utilizado para imunotolerância), quando título de inibidor atingir titulação inferior a 5 UB/ml e o paciente apresentar boa resposta ao concentrado de fator VIII;

- Infusão de 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 *Manual de diagnóstico e tratamento de inibidor em pacientes com hemofilia congênita*, Ministério da Saúde, 2021.

• É imprescindível que todos os episódios hemorrágicos sejam devidamente documentados em planilhas próprias (Anexo 3 – Planilha de infusão domiciliar ou similar) pelo paciente ou responsáveis.

6.2. Profilaxia com agentes *bypassing* durante o tratamento de imunotolerância

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

Observação:

a. Entende-se como alta tendência hemorrágica pacientes que tem articulação-alvo ou história de sangramento grave (por exemplo, hemorragia intracraniana, retroperitoneal, de iliopeças ou síndrome compartimental).

O tipo de agente *bypassing* a ser utilizado deverá considerar principalmente a resposta do paciente ao produto. Entretanto, o concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado deve ser

preferencialmente utilizado devido a sua meia-vida mais longa, o que permite seu uso 3 vezes na semana. A dose preconizada deste produto é de 75 IU/kg 3 vezes por semana ou em dias alternados. O concentrado de fator VII ativado recombinante SOMENTE deve ser utilizado se o paciente NÃO apresenta resposta ao concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado. Neste caso, a dose deve ser de 90 mcg/kg inicialmente 3 vezes na semana, podendo ser aumentado para 5 a 7 vezes na semana. Quando o paciente atingir a titulação de 5 UB/mL e/ou mediante redução das hemorragias, o uso profilático de agentes *bypassing* deverá ser suspenso.

7. CRITÉRIOS DE DEFINIÇÃO DE DESFECHO CLÍNICO

7.1. Sucesso total

- 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) e
- Teste de recuperação normal de fator VIII (Anexo 4), isto é ³ 66% dos valores esperados e
- Vida média normal do fator VIII, isto é ³ 6 horas (avaliado após período de 72 horas de *wash-out* de fator VIII) (Anexo 4) e
- Ausência de resposta anamnésica à exposição ao fator VIII.

7.2. Sucesso parcial

- Título de inibidor superior a 0,6 UB/mL e inferior a 2 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);
- Com 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

- Manutenção dos níveis de inibidor acima de 500 UB/mL por 6-9 meses após início do esquema de altas doses.
- 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 da imunotolerância deverá ocorrer mediante ausência de resposta após 33 meses de tratamento ou se o paciente apresentar níveis de inibidor acima de 500 UB/mL por 6-9 meses após início do esquema de altas doses.

8.2. Troca de tipo de concentrado de fator VIII

Para pacientes em tratamento de imunotolerância com concentrado de fator VIII recombinante, pode-se considerar mudança do produto para concentrado de fator VIII de origem plasmática nos casos de ausência de declínio do título de inibidor com esquema de altas doses em pelo menos 20% no período de 6 meses após início da imunotolerância (após atingido o pico máximo desde o início da imunotolerância)

8.3. Redução de dose após sucesso total

A redução de dose após sucesso total deverá ser realizada somente para pacientes que se encontram em tratamento de imunotolerância com regime de baixas doses. Neste caso, mediante a negativação do título de inibidor pelo método de Bethesda modificado, definido através da titulação do inibidor inferior a 0,6 UB/mL por pelo menos duas dosagens consecutivas (com período mínimo de 2 meses entre cada dosagem), deve-se programar imediatamente a realização do estudo de farmacocinética do fator VIII, com o cálculo da recuperação do fator VIII (recuperação incremental) e da meia-vida do fator VIII. Nesse momento, a dose profilática pós-tratamento de imunotolerância poderá ser calculada de acordo com os dados de farmacocinética.

Caso após a negativação do título de inibidor pelo método de Bethesda modificado, houver dificuldade para a realização do estudo farmacocinética do FVIII, sugere-se programar a dosagem de fator VIII 48 horas após a infusão de 50 UI/kg de peso do concentrado do fator VIII em uso. Se este valor for superior a 1%, deve-se reduzir imediatamente a dose do concentrado de fator VIII de 50 UI/kg 3 vezes na semana para 25 UI/kg 3 vezes por semana (dose profilática) com o produto em uso para imunotolerância. Durante os 3 meses seguintes, o

paciente deverá receber o mesmo produto que foi utilizado na imunotolerância. Dentro deste período de 3 meses, o médico deverá, então, providenciar os testes de recuperação e meia-vida do fator VIII, que são imprescindíveis para a definição de sucesso.

Para os pacientes que estiverem em uso do esquema de altas doses para imunotolerância (isto é, 100 UI/kg por dia), a profilaxia pós imunotolerância poderá ser ajustada da mesma maneira relatado acima para baixas-doses, isto é, de acordo com o resultado da farmacocinética. Caso haja dificuldade para realização da farmacocinética após a negatização do inibidor, pode-se programar a redução da dose inicialmente para 50 UI/kg por dia e avaliar o nível de vale do fator VIII, sendo desejável manter pelo menos 1% imediatamente antes da próxima dose de concentrado de fator VIII.

Após o período de 3 meses, e mediante sucesso total (vide 7.1), os pacientes deverão iniciar profilaxia indefinida com concentrado de fator VIII 25 UI/kg/dia 3 vezes por semana (ou conforme cálculo da farmacocinética – profilaxia personalizada), **idealmente com o tipo de produto (seja este FVIII plasmático ou FVIII recombinante) com o qual o paciente realizou o tratamento de imunotolerância.** O esquema de profilaxia deverá ser realizado de acordo com o protocolo vigente para profilaxia secundária do Ministério da Saúde.

Pacientes que apresentam critérios de sucesso parcial, isto é, com resposta clínica ao fator VIII mas que, no entanto, não atingiram todos os critérios de sucesso na farmacocinética do fator VIII, ou mesmo, que apresentam inibidores de baixo título/baixa resposta ao fator VIII (título < 2 UB/mL), devem ser frequentemente reavaliados do ponto de vista clínico. Estes indivíduos devem manter um esquema profilático com fator VIII, com ajuste de dose de forma racional para garantir a prevenção dos episódios hemorrágicos espontâneos. Nos casos de persistência de inibidor de baixo título, sugere-se repetir a quantificação deste pelo ensaio de Bethesda modificado, utilizando o método cromogênico para a dosagem do fator VIII nas diversas diluições, uma vez que este método parece ter maior sensibilidade e especificidade nessas situações.

9. MONITORAMENTO DE RECIDIVA DO INIBIDOR

Devido a possibilidade de recidiva de inibidores contra o fator VIII após o tratamento de imunotolerância, recomenda-se realizar a titulação do inibidor pelo método de Bethesda mensalmente nos primeiros 6 meses e, a seguir, a cada 2 meses durante 1 ano. Após 1 ano, recomenda-se realizar a dosagem de inibidor pelo menos a cada 6 meses.

Se houver recidiva do inibidor, recomenda-se monitorar a resposta hemostática ao fator VIII infundido. Mediante perda da resposta ao fator VIII deve-se avaliar a necessidade do uso de agentes de *bypassing*. Uma avaliação individualizada deverá ser realizada para considerar a reintrodução do tratamento de imunotolerância no caso de recidivas precoces e de inibidores de baixo título. Neste caso, uma nova imunotolerância demandará solicitação formal à área responsável do Ministério da Saúde e sua respectiva aprovação.

Os critérios para o uso do emicizumabe mediante recidiva são: recidiva de inibidor persistente e de alta resposta (isto é, acima de 5 UB/mL confirmado em duas dosagens consecutivas pelo método Bethesda modificado, com intervalo de 2-4 semanas), após o paciente ter atingido resposta parcial ou completa por pelo menos 6 meses.

10. CONDUTA MEDIANTE FALHA TERAPÊUTICA

Mediante a ocorrência de falha terapêutica à imunotolerância, isto é, mediante ausência de resposta à imunotolerância após 33 meses de tratamento ou se o paciente apresentar níveis de inibidor acima de 500 UB/mL por 6-9 meses após início do esquema de altas doses, deve-se indicar o uso do emicizumabe.

Para orientações de uso do emicizumabe, acessar o “Protocolo de uso de emicizumabe para tratamento de indivíduos com hemofilia A e inibidores do fator VIII refratários ao tratamento de imunotolerância” vigente.

Observação:

a. Pacientes com indicação de tratamento de imunotolerância que se recusarem a fazer o tratamento ou que iniciaram o tratamento de imunotolerância e o abandonaram **NÃO** preenchem os critérios para uso de emicizumabe de acordo com o documento de incorporação do emicizumabe pela CONITEC.

11. REFERÊNCIAS

1. Aledort, L.M., Kroner, B. & Mariani, G. (2000) Hemophilia treatment. Immune tolerance induction: treatment duration analysis and economic considerations. *Haematologica*, 85(Suppl. 10), 83–85.

2. Berntorp, E., Shapiro, A., Astermark, J., Blanchette, V.S., Collins, P.W., DiMichele, D., Escuriola, C., Hay, C.R., Hoots, W.K., Leissing, C.A., Negrier, C., Oldenburg, J., Peerlinck, 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.
3. Blanchette V.S., Key N.S., Ljung L.R., Manco-Johnson M.J., Van Den Berg H.M., Srivastava A., For The Subcommittee On Factor VIII, Factor IX And Rare Coagulation Disorders Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH (2014). *J Thromb Haemost* 12:1935–9.
4. Brackmann, H.H., Oldenburg, J. & Schwaab, R. (1996) Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors—twenty years' 'Bonn protocol'. *Vox Sanguinis*, 70(Suppl. 1), 30–35.
5. Collins P, Chalmers E, Alamelu J, Hay C, Liesner R, Makris M, Mathias M, Payne J, Rangarajan S, Richards M, Talks K, Tunstall O, Williams M, Hart DP (2017). First-line immune tolerance induction for children with severe haemophilia A: A protocol from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation Inhibitor and Paediatric Working Parties. *Haemophilia*;23(5):654-659
6. Collins PW, Chalmers E, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, Williams M, Hay CR; UK Haemophilia Centre Doctors. Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia: (4th edition). UK Haemophilia Centre Doctors Organization. *Br J Haematol*. 2013 Jan;160(2):153-70.
7. Colowick, A.B., Bohn, R.L., Avorn, J. & Ewenstein, B.M. (2000) Immune tolerance induction in hemophilia patients with inhibitors: costly can be cheaper. *Blood*, 96, 1698–1702.
8. 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.
9. Coppola, A., Santoro, C., Tagliaferri, A., Franchini, M. & Di Minno, G. (2010) Understanding inhibitor development in haemophilia A: towards clinical prediction and prevention strategies. *Haemophilia*, 16(Suppl. 1), 13–19.
10. 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.
11. DiMichele, D. & Hay, C.R. (2006) The international immune tolerance study: a multicenter prospective randomized trial in progress. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4, 2271–2273.
12. DiMichele, D. & Hay, C.R. (2012). The principal results of the International Immune
13. DiMichele, D. (2009) The North American Immune Tolerance Registry: contributions to the thirty-year experience with immune tolerance therapy. *Haemophilia*, 15, 320–328.
14. DiMichele, D.M., Hoots, 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.
15. Goodeve, A.C. & Peake, I.R. (2003) The molecular basis of hemophilia A: genotype-phenotype relationships and inhibitor development. *Seminars in Thrombosis & Hemostasis*, 29, 23–30.
16. Gouw, S.C., van der Bom, 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, 4648–4654.
17. Hay, C.R.M., Goldberg, I., Foulkes, M. & DiMichele, D.M. on behalf of the International Immune Tolerance Study Group. (2010) International prospective randomized immune tolerance (ITI) study: interim analysis of therapeutic efficacy and safety. *Haemophilia*, 16, 405.
18. Kreuz, W., Escuriola-Ettingshausen, C., Auerswald, G., Heidemann, P., Kemkes-Matthes, 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.
19. 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.
20. Lenk, H. (2000) The German registry of immune tolerance treatment in hemophilia – 1999 update. *Haematologica*, 85, 45–47.
21. Ljung R, Auerswald G, Benson G, Dolan G, Duffy A, Hermans C, Jiménez-Yuste V, Lambert T, Morfini M, Zupančić-Šalek S, Santagostino E. Inhibitors in haemophilia A and B: Management of bleeds, inhibitor eradication and strategies for difficult-to-treat patients. *Eur J Haematol*. 2019 Feb;102(2):111-122.
22. Mariani, G. & Kroner, B. for the Immune Tolerance Study Group (2001) Immune tolerance in hemophilia with inhibitors: predictors of success. *Haematologica*, 86, 1186–1193.
23. Mauser-Bunschoten, E.P., Nieuwenhuis, H.K., Roosendaal, G. & van den Berg, H.M. (1995) Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. *Blood*, 86, 983–988.

24. Nilsson, I.M., Berntorp, 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.
25. Oldenburg, J., Schwaab, 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.
26. 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.
27. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. (2016) The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet*. 9;388(10040):187-97.
28. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, El-Beshlawy A, Elalfy M, Ramanan V, Eshghi P, Hanagavadi S, Varadarajan R, Karimi M, Manghani MV, Ross C, Young G, Seth T, Apte S, Nayak DM, Santagostino E, Mancuso ME, Sandoval Gonzalez AC, Mahlangu JN, Bonanad Boix S, Cerqueira M, Ewing NP, Male C, Owaidah T, Soto Arellano V, Kobrinsky NL, Majumdar S, Perez Garrido R, Sachdeva A, Simpson M, Thomas M, Zanon E, Antmen B, Kavakli K, Manco-Johnson MJ, Martinez M, Marzouka E, Mazzucconi MG, Neme D, Palomo Bravo A, Paredes Aguilera R, Prezotti A, Schmitt K, Wicklund BM, Zulfikar B, Rosendaal FR (2016). A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *N Engl J Med*. 26;374(21):2054-64.
29. Schwaab, 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.
30. Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood*. 119(6):1335-1344.
31. 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.
32. Wight, J., Paisley, S. & Knight, C. (2003) Immune tolerance induction in patients with haemophilia A with inhibitors. A systematic review. *Haemophilia*, 9, 436–463.

Anexo 1

FICHA DE AVALIAÇÃO DA EQUIPE MULTIPROFISSIONAL DE PACIENTES COM HEMOFILIA A EM TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA

(Este formulário deve ser assinado pela equipe multiprofissional e encaminhado ao Ministério da Saúde juntamente com o TCLE, Anexo 2)

Identificação do paciente

Nome: _____ Data nascimento: / /
 Nome da mãe: _____ Registro no centro: Inscrição
 Hemovidaweb Coagulopatias:
 Cartão SUS: Data de inclusão na imunotolerância: / /

A equipe abaixo discriminada está de acordo e aprovou a inclusão deste paciente no programa de imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor. Ao assinar este documento, a equipe assume que o paciente preencheu todos os critérios de inclusão no programa, de acordo com o protocolo vigente do Ministério da Saúde.

1. PROFISSIONAL MÉDICO

Aprovado () não aprovado () Data: ____/____/____.

Observações:

Nome legível e assinatura do(s) profissional(is) médico(s) que avaliou(aram) o paciente

2. PROFISSIONAL DE ENFERMAGEM

Aprovado () não aprovado () Data: ____/____/____.

Observações:

Nome legível e assinatura do(s) profissional(is) de enfermagem que avaliou(aram) o paciente

3. PROFISSIONAL DE ASSISTÊNCIA SOCIAL

Aprovado () não aprovado () Data: ___/___/_____.

Observações:

Nome legível e assinatura do(s) profissional(is) de assistência social que avaliou(aram) o paciente

4. PROFISSIONAL DE PSICOLOGIA

Aprovado () não aprovado () Data: ___/___/_____.

Observações:

Nome legível e assinatura do(s) profissional(is) de psicologia que avaliou(aram) o paciente

Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES COM HEMOFILIA A

Obs.: Este Termo deverá ser preenchido, datado, assinado e anexado no Sistema HemovidaWeb Coagulopatias no momento da solicitação da inclusão no tratamento de imunotolerância. O paciente não poderá iniciar o tratamento SEM a anuência da área responsável do Ministério da Saúde.

Nome completo do paciente:

Data de nascimento:

Idade:

Número do registro no hemovidaweb Coagulopatias:

Nome do Centro de Hemofilia onde o paciente está cadastrado:

Endereço:

Fone/fax/e-mail:

Nome da mãe:

Nome do pai:

1. O que é imunotolerância?

A imunotolerância é um tratamento de “dessensibilização” do inibidor que se desenvolveu contra o fator VIII infundido. Ele é realizado para pacientes com hemofilia A congênita que desenvolveram inibidores (anticorpos) contra o fator VIII. A imunotolerância que está sendo oferecida a você/seu filho consiste na infusão

frequente de fator VIII, isto é, de 3 a 7 dias por semana por vários meses com a intenção de curar o inibidor. A cura do inibidor pode ocorrer em até 80% dos pacientes tratados.

2. O que é inibidor?

Os inibidores são anticorpos (proteínas) que são produzidos pelo paciente com hemofilia contra o fator VIII infundido. É uma complicação da hemofilia e pode acontecer em até 35% dos pacientes com hemofilia A, sendo mais frequente em pacientes com hemofilia A grave.

Os pacientes que desenvolvem inibidor passam a não responder bem a infusão de fator VIII e, neste caso o sangramento dura mais tempo. Em alguns casos, as hemorragias não melhoram com a infusão de fator VIII e o paciente precisa usar concentrado de complexo protrombínico ativado e/ou fator VII ativado recombinante para tratá-las. É para estes pacientes que a imunotolerância está indicada.

3. Quem pode participar da imunotolerância?

Poderão participar da imunotolerância os pacientes com hemofilia A que apresentam inibidor persistente 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 dos centros de hemofilia.

Assim como acontece na aplicação da dose domiciliar, haverá necessidade de avaliação favorável da equipe multidisciplinar do centro de hemofilia (pelo menos pelo profissional médico e de enfermagem). E será também necessário treinamento para infusão do concentrado de fator VIII que pode ser infundido em casa (em veia periférica ou por catéter venoso central) durante o tratamento de imunotolerância.

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 cerca de 3 anos). Durante o tratamento de imunotolerância, o teste de dosagem do inibidor será realizado com frequência no centro de hemofilia, de acordo com orientação médica. As consultas, orientações e coletas de sangue para exames devem ser rigorosamente seguidas pelo paciente.

A cada visita médica, o paciente deverá trazer a ficha de uso do fator de coagulação devidamente preenchida com todas as informações solicitadas. Caso o tratamento seja realizado na casa do paciente, ele deverá retornar ao centro os frascos vazios dos concentrados de fator, assim como equipo, agulhas e seringas usadas.

5. Quais são as possibilidades de resultados do tratamento?

O tratamento pode ter sucesso total, parcial ou não ter sucesso. Não existe como prever se o tratamento de imunotolerância terá ou não sucesso. O tempo máximo de duração da imunotolerância será de 33 meses. Se o paciente não tiver resposta neste período, o resultado será considerada como falha e 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, a não ser por 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 para o paciente?

Os riscos estão relacionados à possibilidade de maior frequência de hemorragias nas primeiras semanas de tratamento. Neste caso, o seu médico poderá receitar concentrado de complexo protrombínico ativado ou o concentrado de fator VII ativado recombinante para reduzir as hemorragias. Ainda, devido a maior frequência das 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 atualmente este risco seja desprezível para os agentes infecciosos conhecidos.

8. O que acontece com o paciente que não apresenta resposta à imunotolerância?

A estes pacientes poderá ser ofertado outros medicamentos tais como o concentrado de complexo protrombínico ativado, o concentrado de fator VII ativado recombinante para o tratamento das hemorragias ou o medicamento emicizumabe para a prevenção das hemorragias.

9. O que acontece se o paciente se recusar a fazer o tratamento da imunotolerância?

O paciente que não quiser fazer o tratamento continuará ser atendido normalmente no centro de hemofilia, independentemente da concordância ou não fazer o tratamento de imunotolerância. Entretanto, o paciente/responsável deverá estar ciente de que ele(a) está(ão) recusando o tratamento mais eficiente para a cura do inibidor e que a chance de cura do inibidor sem este tratamento é mínima e, por isso, o paciente terá que conviver com o inibidor e seus riscos durante toda a vida.

Ao recusar este tratamento, o paciente ou responsável declara que a ele foi dada a oportunidade de uso, que foi por ele recusada, não cabendo ao Ministério da Saúde nem ao centro de hemofilia serem responsabilizados por esta recusa no futuro. A qualquer momento, caso o paciente ou responsável mude de ideia, eles poderão solicitar inclusão no tratamento de imunotolerância.

Ao assinar este documento, o paciente/responsável declara que:

- Foi devidamente orientado e compreendeu o que é imunotolerância e qual é a sua indicação;
- Está ciente dos benefícios, das potenciais complicações do tratamento e de suas responsabilidades quanto ao uso e retorno de informações;
- Compromete-se 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, sangramento e tratamento e devolvê-la ao Centro de Hemofilia e não suspender o tratamento sem recomendação médica.

A participação e envolvimento do paciente e de sua família é essencial para o sucesso do tratamento. Em caso de qualquer dúvida deve-se contatar o centro de hemofilia

() Sim, aceito participar.

() Não, não aceito participar (nesse caso preencher o motivo abaixo)

Motivo:

Local e data: _____, ___/___/_____

Nome legível do paciente ou responsável e assinatura

Testemunhas:

Nome legível e assinatura

Nome legível e assinatura

Anexo 3

PLANILHA DE INFUSÃO DOMICILIAR PARA PACIENTES COM HEMOFILIA A EM TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA

Nome: _____ Registro _____ Centro de Tratamento:

_____ Registro Hemovida: _____

Data nascimento: ___/___/___

Centro de tratamento:

Dados gerais	Produto	Motivo da infusão	Hemorragia	
		Hemorragia*	Continuidade	

Data	Hora	Peso	Nome comercial	Lote	Nº UI, KUI ou mg	Profilaxia	artic	musc	out		Local [#]	Lado ^{&}	Assinatura
Dados gerais			Produto			Motivo da infusão				Hemorragia			
Data	Hora	Peso	Nome comercial	Lote	Nº UI, KUI ou mg	Profilaxia	Hemorragia*			Continuidade	Local [#]	Lado ^{&}	Assinatura
							artic	musc	out				

*Hemorragia: art=articular; musc=muscular; out=outros.

Local: **articular:** joelho=J; cotovelo=C; tornozelo=T; ombro=O; punho=P; quadril=Q; outros. **Muscular:** panturrilha=pant.; antebraço=anteb.; coxa; perna; glúteo; mão; pé; outros. **Outros:** sistema nervoso central=SNC; cavidade oral=CO; outros

& Lado: direito=D; esquerdo=E; não sabe ou não se aplica=N

Anexo 4

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

Para a indicação e acompanhamento do tratamento de imunotolerância (IT), 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 IT.

1. Quantificação de inibidor de fator VIII

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.

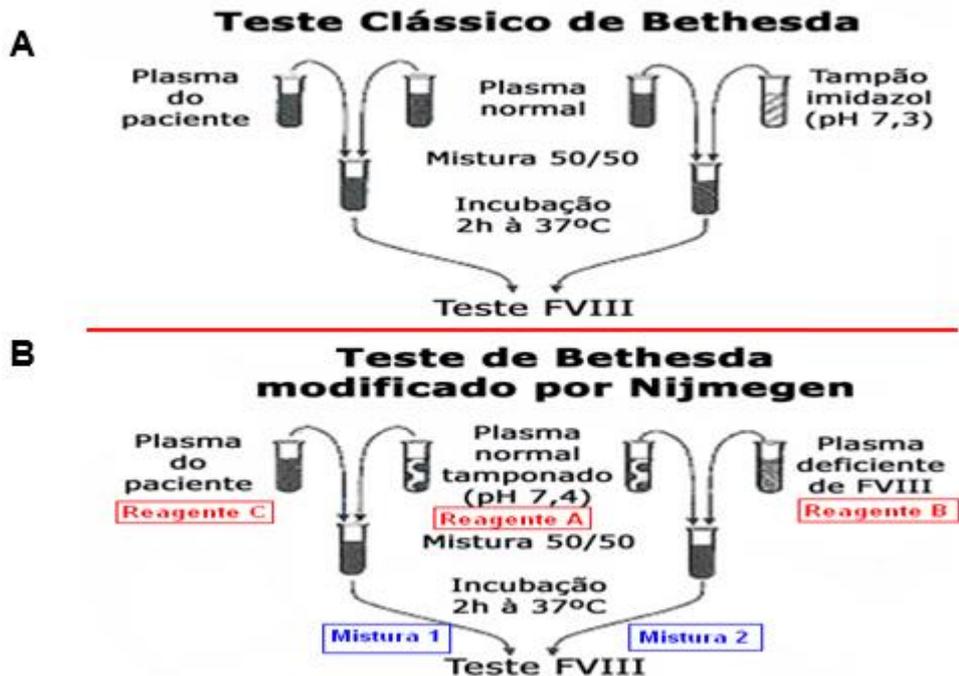


Figura 1. Ilustração esquemática dos testes de Bethesda (A) e Bethesda modificado por Nijmegen (B)

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:

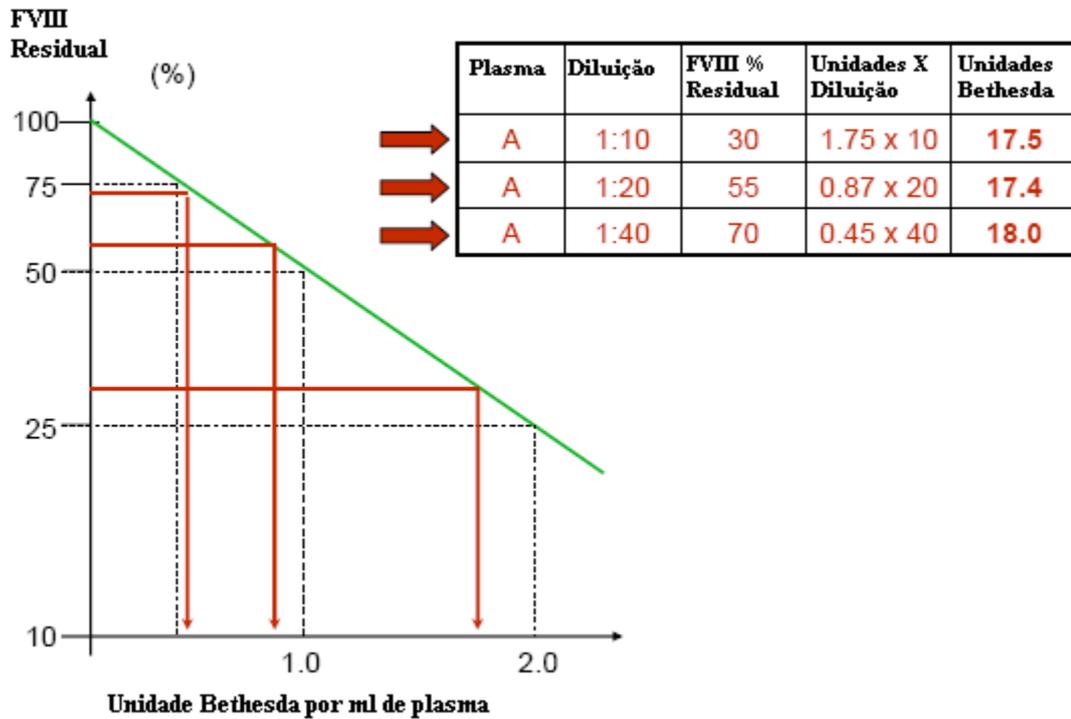
- Incubar as misturas 1 e 2 por 2 horas a 37°C
- Quantificar a atividade de FVIII.

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 de 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

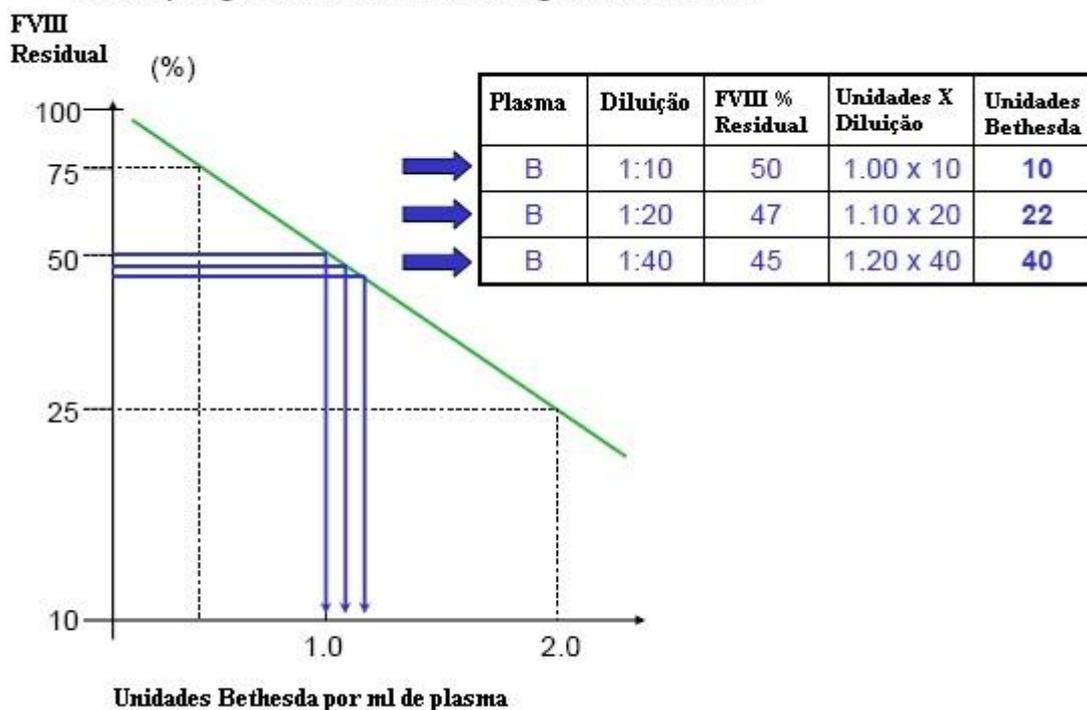


Ref: WFH Laboratory Sciences Committee

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. Notar que as amostras evidenciaram unidades semelhantes de inibidor nas diversas diluições. Este resultado é o mais freqüentemente 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 2016 e *Manual de diagnóstico e tratamento de inibidor em pacientes com hemofilia congênita*, Ministério da Saúde, 2020, disponíveis em <http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes>.

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 observada 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 1UI 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 necessário 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 meia vida de fator VIII na avaliação de imunotolerância

Para a realização do teste de recuperação de FVIII e meia vida 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 meia vida, uma amostra de sangue deverá ser coletada para a determinação do FVIII:C e da quantificação de 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).

1. Relação IVR

$IVR \text{ (IU dL}^{-1} \text{ por IU Kg}^{-1}) = \text{FVIII:C (\%)} \times \text{peso (Kg)} / \text{dose total FVIII administrada (UI)}$

2. Porcentagem (%)

$\text{Recuperação (\%)} = \text{FVIII:C (\%)} \times 0.45 \text{ (dL Kg}^{-1}) \times \text{peso (Kg)} \times 100 / \text{dose total FVIII (UI)}$

Obs: a constante 0.45 dL Kg⁻¹ corresponde ao percentual estimado de volume plasmático.

2.3. Cálculo da vida-média de Fator VIII (T_{1/2})

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_{el}).

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:

$$T_{1/2} = 0,693 / K_{el}$$

$(K_{el}) = (\text{neperiano da concentração inicial} - \text{neperiano da concentração final}) / (\text{tempo final} - \text{tempo inicial})$

$(0,693) = \text{Logaritmo natural de 2 (constante)}$

*Esta planilha deve ser alimentada até a suspensão da IT, devendo, assim, ter continuidade após a 9ª semana até suspensão da IT.