

ANDRÉA THIVES DE CARVALHO HOEPERS

**HEMOFILIA NO ESTADO DE SANTA CATARINA
ESTUDO CLÍNICO**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Santa Catarina, para a obtenção de título de
Mestre em Ciências Médicas**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2006**

ANDRÉA THIVES DE CARVALHO HOEPERS

**HEMOFILIA NO ESTADO DE SANTA CATARINA
ESTUDO CLÍNICO**

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Santa Catarina, para obtenção
do título de mestre em Ciências Médicas**

Coordenador do curso: Prof. Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini

Orientador: Prof. Dr. Jovino dos Santos Ferreira

Co-orientador: Dra. Vera Lúcia Paes Cavalcanti Ferreira, Msc.

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2006**

Hoepers, Andréa Thives de Carvalho
Hemofilia no Estado de Santa Catarina / Andréa Thives de Carvalho
Hoepers - Florianópolis - 2006.

86 p

Orientador: Jovino dos Santos Ferreira.

Co-orientadora: Vera Lúcia Paes Cavalcanti Ferreira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de
Pós – Graduação em Ciências Médicas.

1- Doenças hematológicas, 2- Transtornos da Coagulação, 3- Hemofilia A,
4- Hemofilia B, 5- Epidemiologia.

“Ninguém ignora tudo, ninguém sabe tudo

Por isso, aprenderemos sempre”

Paulo Freire.

*Aos meus pais
Ivens (in memoriam) e Heloisa Helena,
por terem iluminado meu caminho
e aos meus amores
Donato, Maria Luísa e Ivens Fernando,
a quem procuro fazer o mesmo.*

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Jovino dos Santos Ferreira por sua disponibilidade, incentivo e precisas pontuações.

À minha co-orientadora e mestra Dra. Vera Lúcia Paes Cavalcanti Ferreira, por sua atenção, carinho e sábias intervenções.

Ao Prof. Dr. Emil Kupek pela fundamentação estatística desta dissertação.

À Andréa Petry cujo apoio me foi imprescindível e me fez acreditar que é possível pesquisar trabalhando.

À UFSC, minha universidade, ao HU, ao HEMOSC e Hemorrede, seus diretores, gerentes, e colaboradores que disponibilizaram a tecnologia e tantos ensinamentos.

Aos meus familiares especialmente aos meus irmãos Carlos Augusto Thives de Carvalho e Ivens José Thives de Carvalho pela importante estruturação do trabalho.

Ao meu esposo Donato Hoepers pelo incessante e integral apoio.

Aos meus colegas e funcionários de todas as entidades envolvidas, à Lucinéia Maria Vital e à Elisabeth Possamai pelo cuidado com os ensaios laboratoriais.

À Associação dos Hemofílicos do Estado de Santa Catarina, aos portadores de hemofilia e seus familiares, a quem dedico todo meu respeito.

A todas as pessoas que de alguma forma ajudaram a inserir, deletar, recortar ou colar cada pedacinho desta história.

A Deus pela experiência vivenciada.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
3. MÉTODO	8
4. RESULTADOS	16
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÕES	51
NORMAS ADOTADAS	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICES	60
ANEXOS	67

RESUMO

Objetivos: Identificar e classificar os hemofílicos residentes no Estado de Santa Catarina, analisar o entendimento sobre a transmissão genética pela população em estudo, pesquisar a presença de anticorpos contra os fatores VIII ou IX (inibidores), artropatia crônica, doenças hemotransmissíveis, avaliar o estado de imunização para a Hepatite B. **Métodos:** Estudo transversal, observacional de 161 hemofílicos no período de janeiro a dezembro de 2005 com avaliação coagulométrica da atividade de fator VIII e IX, de inibidores em Unidade Bethesda, inquérito sobre hereditariedade, marcadores sorológicos e extração de DNA. **Resultados:** A média de idade ao estudo foi 22 anos, houve predomínio de hemofílicos A, a classificação entre 1 a 5 % de atividade anticoagulante foi a mais freqüente, com 69,6%. A compreensão dos hemofílicos sobre doença genética foi de 91,9%. A prevalência foi de 4,9 para 100.000 habitantes. O comprometimento articular crônico com limitação da amplitude de movimentos (ADM) acometeu 52,2 % sendo as articulações dos joelhos as mais afetadas. O inibidor dos fatores VIII e IX ocorreu em 11,8% dos indivíduos. A soropositividade para o HIV foi de 1,8%. Dois hemofílicos eram HBsAg positivos, 46 (28,5%) para o anti-HBc e 55 (34,16%) para reagentes HCV. A co-infecção viral foi detectada em 20,5%. Eram imunizados contra hepatite B 57%. **Conclusão:** A hemofilia A moderada é a forma clínica mais comum da doença no Estado de Santa Catarina, o nível de compreensão sobre a condição hereditária da doença é considerado bom. É alta a prevalência da hepatite C.

Palavras chave: Hemofilia, inibidor, doenças hemotransmissíveis, epidemiologia.

ABSTRACT

Objectives: To identify and to classify the resident hemophilic in Santa Catarina State, to analyze the agreement on the genetic transmission for the population in study, to search the presence antibodies against factor VIII or IX (inhibitors), chronic joint disease, transfusion transmitted diseases, to evaluate the immunization state it Hepatitis B. **Method:** Transversal, observational study of 161 hemophilic in the period of January the December of 2005, with coagulometric methods to evaluation of the activity of factor VIII and IX, Bethesda Method, a study about heredity, serologic markers and DNA extraction. **Results:** The mean of age was 22 years old, had hemophilic predominance, the classification between 1 and 5% of anticoagulation activity was most frequent, with 69,6%. The understanding of the hemophilic on genetic illness was of 91,9%. The prevalence was of 4,9 for 100.000 inhabitants. The injury to articulate chronic with limitation of the range of motion (ROM) happened in 52,2 % being the joints of the most affected knees. The inhibitor of factors VIII and IX occurred in 11,8% of the individuals. The seropositivity for the HIV was of 1,8%. Two positive hemophilic were HBsAg, 46 (28,5 %) for anti-HBc, and 55 (34,16%) for reagent HCV. The viral co-infection of was detected in 20,5%. They were immunized against hepatitis B 57%. **Conclusions:** The hemofilia A the moderate one is the more common clinic form of the illness in the State of Santa Catarina. The understanding level on the hereditary condition of the illness is considered good Is high the prevalence of hepatitis C. It was extracted the DNA of all hemophilic B.

Key-Words: Hemophilia, inhibitor, transfusion transmitted diseases, epidemiology.

1. INTRODUÇÃO

Há mais de dois mil anos, o Antigo Testamento já relacionava hemorragia com consangüinidade e proibia a circuncisão de familiares com histórico de sangramento. No século II d.C. o Talmud, escrito judaico, determinava não submeter à circuncisão o terceiro filho de uma mulher se dois irmãos mais velhos tivessem morrido de sangramento, após procedimento similar.¹

Séculos foram transcorridos, até que em 1803, na Filadélfia, Estados Unidos da América (EUA), John Conrad Otto caracterizou a entidade na qual apenas os homens apresentavam os sintomas hemorrágicos, entretanto a doença era transmitida pelas mulheres a uma proporção variável de seus filhos.²

O termo hemofilia foi introduzido na comunidade científica com o trabalho de Hopff da Universidade de Zurich, Alemanha, em 1828, para descrever um distúrbio hemorrágico congênito que afetava os homens.^{1,2}

A hemofilia tornou-se conhecida e popular no século XIX, como “enfermidade real”, porque a Rainha Vitória da Inglaterra (1837-1901) disseminou o gene às famílias reais da Alemanha, Rússia e Espanha, através de seus descendentes.

Um dos casos relevantes para a história refere-se ao de Aléxis, filho de Alexandra (neta da rainha Vitória) e de Czar Nicolas II da Rússia, portador de hemofilia nascido em 1904. Especulou-se que a doença do pequeno príncipe e a presença da célebre figura do curandeiro Rasputin (mistura de santidade com charlatanismo, que tinha o poder de hipnotizar Aléxis, reduzindo assim suas crises de sangramento) exerceram uma enorme influência sobre a família Romanov, inclusive nas decisões políticas, contribuindo definitivamente para a queda da dinastia russa e o surgimento de um novo regime político, o Comunismo.^{2,3}

A primeira análise completa a respeito da hereditariedade foi atribuída a Bulloch e Fildes, que ao catalogarem mais de 200 famílias com hemofilia em 1911, descreveram o padrão de herança genético envolvendo o cromossomo X.² Os homens apresentam as manifestações clínicas por possuírem único cromossomo X e transmitem obrigatoriamente o X hemofílico (X_H) para suas

filhas. As mulheres como portadoras (X_H/X) terão 25% de probabilidade de gerar um filho hemofílico.⁴

A hemofilia pode ocorrer de forma espontânea, como mutação “de novo”, em até 30% dos indivíduos acometidos. A forma adquirida é muito rara, acomete homens e mulheres e relaciona-se principalmente às doenças auto-imunes ou neoplasias, frequentemente de extrema gravidade acometendo pacientes acima de 50 anos.⁵⁻⁷

As mulheres portadoras são normalmente assintomáticas ou oligossintomáticas, entretanto, poderão ser hemofílicas quando uma das seguintes situações estiver envolvida: o fenômeno de lionização: há a inativação de um dos cromossomos X ao acaso (chance de 50% para cada X), se a expressão for do gene mutado a mulher será hemofílica; a mãe portadora e o pai hemofílico; ou defeito genético possuindo único cromossomo X (como na Síndrome Turner - XO).^{4, 8}

O sistema hemostático que mantém o fluxo sanguíneo e a integridade dos vasos é coordenado por diversas proteínas pró-coagulantes, inibidores, componentes da fibrinólise, plaquetas e endotélio vascular. A deficiência dos fatores da coagulação como a dos fatores VIII e IX abordados neste trabalho, pode provocar sangramento repetitivo, levar o paciente à invalidez permanente ou até ao óbito.

A determinação específica da atividade coagulante, ou seja, a propriedade do plasma que corrige os defeitos da coagulação, seu perfil funcional é referido como coagulantes (FVIII:C e FIX:C). A expressão do antígeno do Fator VIII e IX é denominada fator VIII:Ag ou fator IX:Ag. e pode ser quantificada por método imunológico (FVIII:Ag ou FIX:Ag). Por definição 1 UI do fator é a atividade presente em 1 ml de um pool de plasma normal, o qual corresponde a 0,2 µg do fator VIII ou 0,1 µg do fator IX.^{4,10}

Em indivíduos normais o nível do coagulante e do antígeno é paralelo. Entre os hemofílicos 90% apresentam redução concomitante de coagulante e antígeno, mas em 10% dos pacientes com hemofilia A encontra-se disfunção do fator VIII com redução do FVIII:C e níveis normais do FVIII:Ag.^{4,8-10}

A primeira transfusão com o intuito de coibir a hemorragia pós-operatória de uma criança hemofílica foi realizada, de forma empírica, pelo cirurgião Samuel Lane em Londres, no ano de 1840,^{1,2} mas a compreensão científica da coagulação ocorreria somente no século seguinte.³

O diagnóstico laboratorial da doença obteve-se a partir de demonstração do defeito na coagulação, em 1893 por Almroth Wright. Em 1937, Patek e Taylor isolaram uma fração, denominada fator anti-hemofílico ou fator VIII, ausente ou deficiente nos hemofílicos. Em 1952, Marcfarlane identifica outra proteína chamando-a de fator de Christmas ou fator IX.¹⁻³

A descoberta da globulina anti-hemofílica e do fator Christmas determinou a diferenciação etiológica dos dois tipos de hemofilia ligados ao cromossomo X: a hemofilia A (deficiência de fator VIII) e a hemofilia B (deficiência de fator IX); ambas indistinguíveis clinicamente. A tendência hemorrágica é correlacionada com a quantidade e atividade coagulante de fator presente no plasma, cujos níveis classificam-na em leve, moderada ou grave.^{4,9}

Quando Quick, em 1935, desenvolveu o teste do tempo de atividade de protrombina (TAP) foi possível diferenciar outras doenças hemorrágicas da hemofilia, ao demonstrar que o conteúdo protrombínico do plasma do hemofílico encontrava-se normal, apesar de ser lentamente convertido em trombina, conforme evidenciado por Brinkhous em 1939 e que este defeito podia ser corrigido através de transfusões de sangue.²

Em 1953, Biggs pesquisou importantíssimo teste laboratorial de geração da tromboplastina, que avalia a atividade dos fatores que participam da via intrínseca da coagulação, geralmente prolongado nos pacientes hemofílicos, estabelecido atualmente pelo Tempo de Tromboplastina Parcial ativado (TTPa).^{2,9,10}

À luz dos conhecimentos atuais, o que se sabe sobre a fisiologia da coagulação *in vivo* é que as proteínas coagulantes não estão mais distintas em dois sistemas: via intrínseca e extrínseca, mas atuam de forma integrada.¹¹ Esta divisão é utilizada como recurso didático para melhor compreensão do mecanismo da coagulação e para a interpretação dos testes de rastreamento das anormalidades da hemostasia.^{12,13}

Os grandes avanços da medicina transfusional, no século XX, foram fundamentais para o tratamento efetivo de episódios hemorrágicos nestes pacientes. A técnica de fracionamento do sangue em componentes permitiu que o plasma congelado fosse utilizado na terapia dos distúrbios hemostáticos a partir de 1950. A obtenção do crioprecipitado (sobrenadante do plasma rico em fatores da coagulação como VIII e IX) pela Dra. Judith Graham Pool, na década de 60, propiciou redução do volume plasmático a ser infundido, do tempo de tratamento, da sobrecarga circulatória e consequentemente do tempo de internação.¹⁴

Viabilizavam-se assim cirurgias de grande porte mesmo eletivas para hemofílicos, diminuindo consideravelmente a taxa de mortalidade. Por outro lado, os efeitos adversos das múltiplas infusões eram freqüentes e severos, como as reações alérgicas e a transmissão de doenças infecciosas relacionadas à transfusão. O atendimento aos hemofílicos de países desenvolvidos e não desenvolvidos pouco diferia naquela ocasião até iniciar a produção industrial dos concentrados obtidos do pool de centenas de doadores.¹⁵

A transmissão de agentes infecciosos, principalmente os de hepatite, decorria da transfusão de hemocomponentes e hemoderivados não submetidos a adequado processo de inativação viral. O surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS) em 1981, causada pelo HIV, afetou diretamente a população hemofílica em virtude do próprio tratamento.

Na década de 90, 50% das causas direta de óbito em hemofílicos ainda eram relacionadas ao HIV.¹⁶ Nos Estados Unidos e Europa, 60% a 70% dos hemofílicos foram infectados com o HIV, vírus da hepatite C (HCV) e o vírus da hepatite B (HBV). Os que foram contaminados com HIV chegaram a apresentar uma incidência de 200 vezes mais de sarcoma de Kaposi e 30 vezes de linfoma não Hodkgin, em comparação com a população geral.^{3,17}

O progresso na terapêutica mais segura, empregando fatores recombinantes, foi alcançado após a identificação dos genes da hemofilia B e A, clonados em 1982 e 1984 respectivamente. O gene do fator VIII (*F8*) localiza-se na região q28 do cromossomo X, com 186 Kb e 26 exons e o gene do fator IX (*F9*) na região q27, com 34 Kb e oito exons.¹⁸

O fator VIII é um cofator que circula na forma inativa sintetizado primariamente pelas células endoteliais dos sinusóides hepáticos circula no plasma em interação com o fator de von Willebrand. Faz parte juntamente com o fator IX do complexo tenase intrínseco que gera trombina por ativação do fator X, com eficiência 50 vezes maior que o complexo do FVIIa/TF (fator VII ativado e fator tecidual), este complexo tenase ainda liga-se à membrana das plaquetas através de sítios expressos quando estas são ativadas.

O fator IX é uma proteína denominada serina protease, também de síntese hepática, vitamina K dependente, que circula no plasma como pró-enzima, sendo convertida para a forma ativa (IXa) pelo fator XI ou pelo complexo do fator tecidual VIIa. O fator IX rapidamente converte o fator X em Xa, levando na seqüência a formação do coágulo.^{11,12,18}

A correção do déficit de fator é dependente da infusão do fator liofilizado específico e para tanto o diagnóstico deve ser estabelecido corretamente, haja vista que as manifestações clínicas são indistinguíveis entre as hemofilias A e B, pois ambas alteram a mesma etapa essencial no processo de formação da fibrina.

A intensidade das hemorragias correlaciona-se ao tipo de mutação e condiciona também a um maior risco de desenvolver estes aloanticorpos ou inibidores específicos contra os fatores coagulantes. A presença dos inibidores é a maior causa de complicações do tratamento de reposição do fator específico e uma das mais significantes morbidades atuais da hemofilia.¹⁸⁻²⁰

O desenvolvimento de anticorpos contra os fatores da coagulação (inibidores), traz intercorrências hemorrágicas severas e em locais pouco comuns, exemplo nas articulações das mãos. Os inibidores são imunoglobulinas IgG, principalmente subclasse IgG4, que se ligam a epítomos específicos, causando inativação irreversível do fator.⁵

As hemofilias A e B são, portanto, enfermidades de transmissão hereditária recessiva, ligada ao cromossomo X, decorrentes de deficiências quantitativas ou de defeitos moleculares dos fatores VIII e IX, caracterizadas clinicamente por manifestações hemorrágicas, sobretudo como hematomas e hemartroses.²¹

A abordagem destas exige uma estrutura específica de custo financeiro elevado para diagnosticar e tratar os hemofílicos, de maneira eficaz e segura. Os recursos disponibilizados para cuidados com o hemofílico são indicativos do desenvolvimento de uma nação. O gasto com a compra de fatores correlaciona-se ao produto interno bruto (PIB) de muitos países.²²

Estima-se a existência de 400.000 hemofílicos no mundo. Conforme dados da Federação Mundial de Hemofilia apenas 25% recebem tratamento adequado, 80% dos hemofílicos severos residem nos países em desenvolvimento, a maioria morre antes dos 20 anos.²³ A terapia gênica aliada ao controle genético são perspectivas do mundo contemporâneo na transformação desta realidade.

O Brasil apresenta, de acordo com o último relatório do Ministério da Saúde, o registro de 6.297 hemofílicos, 5.411 catalogados como hemofílicos A e 886 como hemofílicos B. A maioria pertencente aos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais.²⁴

No Estado de Santa Catarina, apenas 157 hemofílicos (146 A e 11 B), aproximadamente 58%, foram relatados ao Ministério da Saúde, pois segundo o último censo demográfico do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2000, para uma população de 5.356.360 habitantes (homens 2.669.311 e mulheres 2.687.049) a estimativa é de que haja 270 indivíduos acometidos considerando a prevalência da hemofilia (1:10.000).^{25,26}

Há cerca de uma década, no início de 1996, os hemofílicos catarinenses passaram a receber os fatores liofilizados para o seu tratamento. É necessário para isso, que tenham o diagnóstico confirmado da deficiência de atividade dos fatores VIII ou IX, que haja controle sorológico anual destes pacientes, avaliação de inibidores e o encaminhamento destes dados ao Ministério da Saúde para distribuição dos fatores liofilizados aos Estados da Federação.

Este trabalho teve como finalidades identificar e estudar os hemofílicos, residentes no Estado de Santa Catarina, analisando a distribuição geográfica, o entendimento sobre a hereditariedade desta doença e o perfil clínico-laboratorial. Com esta proposta, pretende-se contribuir para adequar de uma maneira mais racional e justa a distribuição de fatores liofilizados, melhorando a qualidade de vida dos hemofílicos catarinenses.

2. OBJETIVOS

- Identificar e classificar os hemofílicos residentes no Estado de Santa Catarina.
- Analisar o entendimento sobre a transmissão genética pela população em estudo.
- Pesquisar a presença de anticorpos contra os fatores VIII e IX (inibidores), artropatia crônica e soro-prevalência das doenças hemotransmissíveis.
- Avaliar o estado de imunização para o vírus da Hepatite B.

3. MÉTODO

3.1 Delineamento do Estudo

Estudo transversal, observacional do tipo descritivo.

3.2 Casuística

Foram selecionados para o estudo 285 indivíduos considerados portadores de hemofilia A ou B (CID-10: D 66. X, D 67. X) registrados no Setor de Prontuário de Pacientes (SSP) do Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do Hospital Universitário Dr. Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Santa Catarina (SC) e no sistema informatizado de prontuário eletrônico do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), além da busca ativa.

Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo 161 indivíduos que reuniram critérios clínicos e laboratoriais para o diagnóstico de hemofilia A ou B, que aceitaram os termos do consentimento informado (Apêndice 1) e estavam em condições adequadas para realização dos ensaios laboratoriais.

Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo 124 indivíduos cadastrados previamente como hemofílicos, cuja confirmação diagnóstica clínica e laboratorial de hemofilia A ou B não se confirmou, com o diagnóstico de outra coagulopatia, ou os que não puderam realizar os estudos por terem utilizado

fator de reposição ou apresentassem manifestações hemorrágicas nos três dias antecedentes à coleta dos exames. Excluídos os que não mais residiam no Estado de Santa Catarina, e todos os que não aceitaram participar da pesquisa.

Registra-se que os hemofílicos os quais á ocasião da primeira avaliação no Hemocentro de sua região não se encontravam aptos para a coleta e que assim desejaram foram avaliados em data posterior com dia e horários conforme possibilidades do hemofílico e familiares, no ambulatório do Hemocentro em Florianópolis.

O intuito foi permitir o seguimento de critérios técnicos recomendados com a correta determinação do nível basal e posterior categorização como hemofílico leve, moderado ou grave. Todos eram usuários do sistema único de Saúde (SUS), o traslado naquela situação foi realizado pelo município de origem até Florianópolis.

3.3 Procedimentos

O período de estudo desde a coleta de dados até a análise dos resultados foi de janeiro a dezembro de 2005. Utilizou-se de um modelo impresso para o consentimento informado e esclarecido (Apêndice 1) de um protocolo de pesquisa (Apêndice 2).

3.3.1 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada pela identificação e localização dos indivíduos hemofílicos registrados nos seguintes locais: SAME do HU, do livro de registro da liberação de hemoderivados do Serviço de Hemoterapia/HU-UFSC, unidades de Hemoterapia do HEMOSC no Hospital Infantil Joana de Gusmão e no Hospital Governador Celso Ramos de Florianópolis, ambulatórios do HEMOSC, Associação de Hemofílicos do Estado de Santa Catarina, Secretarias Regionais de Saúde e informações de familiares ou conhecidos (nome, endereço ou telefone).

O **consentimento informado** (Apêndice 1) que foi respondido pelo entrevistado e ou responsável legal. Foi assegurado aos entrevistados que as informações coletadas seriam

armazenadas e documentadas cientificamente, com a finalidade de se conhecer melhor o perfil dos portadores desta entidade. Os indivíduos elegíveis receberam um código numérico (a partir de 1) para facilitar a exposição dos resultados, mantendo-se o sigilo sobre sua identidade.

3.3.2 Avaliação Clínica

A avaliação clínica dos pacientes foi realizada nos ambulatórios dos Hemocentros Regionais do Estado (Criciúma, Lages, Chapecó, Joaçaba, Joinville e Florianópolis), de acordo com as manifestações peculiares a enfermidade, caracterizadas no protocolo de pesquisa (Apêndice 2).

Variáveis estudadas englobaram: etnia, idade, município de procedência, compreensão por parte da população estudada do caráter hereditário da hemofilia, classificação quanto ao tipo da doença, manifestações clínicas hemorrágicas, frequência dos episódios hemorrágicos, comprometimento articular, ensaios laboratoriais compostos pelo estudo da coagulação, do perfil sorológico, avaliação do estado de imunização para hepatite B e extração de DNA.

A **faixa etária** foi estratificada conforme o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a fim de permitir uma melhor percepção dos fatores de risco para intercorrências clínico-laboratoriais e estabelecer uma análise comparativa entre o percentual das faixas etárias da população masculina estimada para o Estado de Santa Catarina e a população hemofílica.

Quanto ao **gênero**, foram estudados exclusivamente portadores masculinos por condição inerente da doença relacionada ao cromossomo X.

O **comprometimento articular crônico** definido clinicamente pela limitação da amplitude de movimento (ADM) ao impossibilitar a completa flexão e ou extensão da articulação comprometida. Considerou-se positivo qualquer alteração presente, independente do grau de acometimento, quantificando-se o número e o local de articulações afetadas.

A **frequência de episódios hemorrágicos e da necessidade de terapia** (não especificamente a dose necessária para controle dos episódios hemorrágicos) foi estabelecida conforme o relato dos entrevistados. Estas variáveis foram categorizadas através do intervalo entre as reposições dos hemoderivados, em número de dias e por presença de hemorragias de

repetição (dois ou mais episódios hemorrágicos consecutivos em mesma articulação alvo, no intervalo de um mês).

Os **critérios para o diagnóstico** da hemofilia A ou B foram baseados nas manifestações clínicas, associados aos níveis de fatores VIII e IX, conforme classificação abaixo:

Leve: sangramento espontâneo raro ou ausente, episódios hemorrágicos pontuais pós-trauma significativo ou intervenção cirúrgica, necessidade de fator de reposição excepcionalmente ou nenhuma.

Moderada: manifestações hemorrágicas espontâneas ocasionais, sangramento com traumas moderados ou cirurgias, necessidade de reposição de fator ocasional.

Grave: sangramentos espontâneos e freqüentes, ocorrência após pequenos traumas, necessidade freqüente de reposição de fatores.⁴

3.3.3 Ensaios Laboratoriais

A fase pré-analítica de coleta, manuseio, transporte e conservação, bem como os estudos para o diagnóstico das alterações específicas da coagulação e dos marcadores sorológicos seguiram os procedimentos técnico-operacionais e de controle de qualidade do hemocentro (Anexo 1), observado a utilização dos equipamentos de proteção individual pertinentes a cada etapa e os cuidados universais com material de risco biológico..

A execução dos testes laboratoriais foi realizada por equipe técnica dos laboratórios de sorologia, hematologia e biologia molecular centralizados no Hemocentro Coordenador do HEMOSC em Florianópolis, SC.

Após a entrevista foram coletados amostra de sangue venoso

Sistema de coleta

Utilizando-se tubo de vidro a vácuo vacutainer para a coleta 4,5 ml sg total em tubo com aditivo citrato trissódico 9:1 código alfa 9NC código de cores azul claro para coagulação citrato 0,5 ml (9NC), 2 tubos primários

Antissepsia local com álcool etílico 70° prosseguindo com a coleta seqüencial dos tubos: 1° 2 tubos com citrato (tampa azul claro); 2° tubo para soro com gel separador (tampa vermelha) 3° tubo com EDTA (tampa roxa) para exames de biologia molecular. Amostras homogeneizadas suavemente por inversão.

Punção venosa: foi realizada por profissional técnico treinado sendo o local preferencial os membros superiores na veia basilica mediana (eventualmente cefálica ou arco venoso dorsal da mão) mantendo o do paciente de forma confortável, na posição sentada, e para crianças, quando necessário na posição deitada.

Para a determinação da atividade dos fatores da coagulação os soros foram separados por centrifugação imediatamente em período máximo de 1 hora e armazenados a – 20°C com identificação e vedação adequada dos recipientes, para o transporte até a realização dos ensaios quando sofreram descongelamento rápido a 3°C, seguido de homogeneização delicada e rapidamente testado por método automatizado.

Método de Coagulação

Equipamentos utilizados: máquina de coagulação automática Coag A Mate MTX II, Organon Teknika e centrífuga Eppendorf refrigerada.

No **estudo de coagulação** empregou-se plasma citratado com a realização automatizada do TP e do TTPa para a triagem, e da dosagem funcional em único estágio dos fatores de coagulação VIII e IX, empregando-se o método coagulométrico, como diagnóstico confirmatório.

O plasma pobre em plaquetas foi obtido após a centrifugação do sangue com a velocidade de 3.000 rpm por 15 minutos em centrífuga refrigerada a temperatura de 4 °C, imediatamente congeladas a – 20°C.

Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) foi determinado a partir da recalcificação do plasma com citratado, na presença de fosfolípide, a cefalina, e do ativador do sistema de contato, o caulim. O tempo de coagulação foi expresso em segundos e relacionado

com um plasma normal (D/N). Os valores considerados normais para o tempo de coagulação foram de $30'' \pm 2''$ e a para a relação D/N = 1 a 1,3.

Tempo de protombina (TP), ensaio realizado para auxiliar no diagnóstico diferencial das coagulopatias ao avaliar de forma geral os fatores da via extrínseca da coagulação e também, considerado pela pesquisadora, como um parâmetro de controle para validação das amostras para o estudo de coagulação.

Baseado no tempo de recalcificação do plasma na presença de excesso de fosfolípidos (tromboplastina), segundo o método descrito por Quick et al (1935), utilizou-se a tromboplastina cálcica com índice de sensibilidade (ISI) igual $1,2 \pm 0,1$ para determinação da relação de normalização internacional (RNI), permitindo que o nível de anticoagulação avaliado fosse sempre o mesmo.^{5,27} O resultado foi expresso em segundos e em relação plasma deficiente (ou do doente), em RNI e plasma normal (D/N), com os seguintes parâmetros normais: atividade = 70-100% RNI = $1,0 \pm 0,2$ D/N = $1,0 \pm 0,2$.

Concentração plasmática do FVIII e F IX, foi utilizado o método de correção do TTPa na presença de plasma deficiente do fator específico VIII ou IX. O ensaio consistiu na medida do tempo de coagulação, na presença de cefalina e ativador, de um sistema no quais todos os fatores estão presentes, exceto os fatores a serem investigados, que provinham da amostra em teste. O resultado foi expresso em porcentagem da atividade da coagulação, empregou-se reagentes distintos contendo plasma humano liofilizado, deficiente em fator VIII:C e IX:C e curva de calibração com padrão de referência estabelecido pelo fabricante, (anexo 2), determinando-se a atividade coagulante em porcentagem, aonde 100% é igual a 1 UI/ml de fator VIII:C. Definido como valor de normalidade $100\% \pm 50\%$ de atividade.

A deficiência de fatores foi categorizada de acordo com o Subcomitê do Fator VIII e fator IX do Comitê Científico de Standardização da Sociedade Internacional de Hemostasia e Trombose como:

LEVE = > 5% a 40 % de atividade de fator VIII ou > 0,05 U ml a 0,4 U ml.

MODERADA = 1 a 5 % de atividade de fator VIII ou 0,01 U ml a 0,05 U ml.

GRAVE = < 1 % de atividade de fator VIII ou < 0,01 U ml.²⁸

Quanto à **pesquisa de inibidores (anticorpos) contra o fator VIII ou IX** foi empregado o método Bethesda, que utiliza como fonte de fator o plasma normal e tempo de incubação de duas horas. Por definição, uma unidade Bethesda (UB) corresponde à quantidade de anticorpos circulantes capazes de inativar 50% do fator VIII ou IX existente em 0,1 ml de plasma normal.^{28,29}

Considerou-se como **inibidor de alta resposta** quando a atividade inibitória do anticorpo foi > 5 UB/ml em qualquer período de avaliação e **inibidor de baixa resposta** para os que apresentaram anticorpo persistentemente ≤ 5 UB/ml a despeito das mudanças no fator de reposição.²⁸

Todos os pacientes com inibidores e que não se encontravam em acompanhamento médico específico, foram encaminhados para controles periódicos no ambulatório do HEMOSC.

O **estudo sorológico** seguiu as normas técnicas padronizadas, da rotina do próprio laboratório, sendo empregados para os testes os reagentes comerciais devidamente registrados e validados (Apêndice 3).

Para a detecção dos agentes infecciosos (da hepatite B, C, HIV, HTLV I e II, doença de Chagas, e sífilis), **seguiu-se a triagem** sorológica de doadores de sangue **recomendadas pela Resolução de Colegiado (RDC) 153, de junho de 2004.**³⁰ Incluíram-se os seguintes marcadores:

- **Vírus da Hepatite B:** antígeno de superfície do HBV (HBsAg) e seu respectivo anticorpo (anti-HBs), anticorpos totais para o antígeno capsídeo nuclear - core (anti-HBc total) por ensaio imunoenzimático EIA (*enzyme immuno assay*).

- **Vírus da Hepatite C:** anticorpo anti-HCV através de EIA e confirmatório por imunoblot RIBA (*recombinant immuno blotting assay*). Estudo complementar pela técnica de biologia molecular, ácido ribonucléico viral (RNA=*ribonucleic acid*) por reação em cadeia de polimerase (PCR). A pesquisa de anticorpo anti-HCV com RIBA foi realizado para as situações em que o resultado do anti-HCV EIA era reagente e o PCR não reagente.

- **Vírus da Imunodeficiência Humana Adquirida I e II:** anti-HIV I, o subtipo O e anti-HIV II, por duas metodologias, sendo uma realizada com identificação simultânea do antígeno de partícula viral P24 do HIV I. O teste anti-HIV confirmatório empregado foi o Western Blot

(WB). Os pacientes com idade inferior a 18 meses serão monitorados e submetidos a novos estudos para confirmação ou não da infecção pelo vírus HIV.

- **Vírus Linfotrófico de células T Humanas I e II:** anticorpos anti-HTLV I, II, EIA.

- **Chagas:** anti-Tripanossoma cruzi (anti-T cruzi), técnica EIA.

- **Sífilis:** pesquisa por teste não treponêmico anti-cardiolipina não específico, RPR (*rapid reagin plasmatic*) e confirmatório com anticorpo treponêmico específico FTA - abs.

Os resultados laboratoriais com as devidas orientações aos hemofílicos, quanto a necessidade de acompanhamento de serviços especializados (gastroenterologia, infectologia, ortopedia, odontologia, fisioterapia, etc.) bem como, para os pacientes susceptíveis a infecção pelo vírus da hepatite B (anti - HBs negativo associado ao anti - Hbc e HbsAg não reagentes), a prescrição da vacina, segundo critérios do Programa Nacional de Imunização (PNI).³¹

3.4 Análise Estatística

Os dados das entrevistas, os resultados dos testes sorológicos e de coagulação foram armazenados em banco de dados, elaborado com o software EPIDATA versão 2.1^a, e ainda utilizando-se do programa EPIINFO versão 6,04d (Centers for Diseases Control and Prevention Atlanta, USA) e Stata 7.0.

A análise estatística do estudo levou em consideração as variáveis categóricas expressas em números absolutos e relativos (percentuais) e através dos testes de qui-quadrado, odds ratio(OR), com o intervalo confiança (IC) de 95%, este último para estimar a chance de um hemofílico desenvolver inibidor conforme o índice de gravidade ou déficit de fator VIII ou IX da coagulação,

3.5 Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos

O protocolo de pesquisa e o consentimento informado foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, projeto nº14/2005. (Anexo I)

4. RESULTADOS

Esta pesquisa incluiu 161 indivíduos com diagnóstico de hemofilia, residentes no Estado de Santa Catarina. Dentre estes hemofílicos, todos do sexo masculino, 157 (97,5%) eram caucasianos e quatro (2,5 %) eram afro-descendente (Figura 1).

Distribuição Étnica dos Hemofílicos

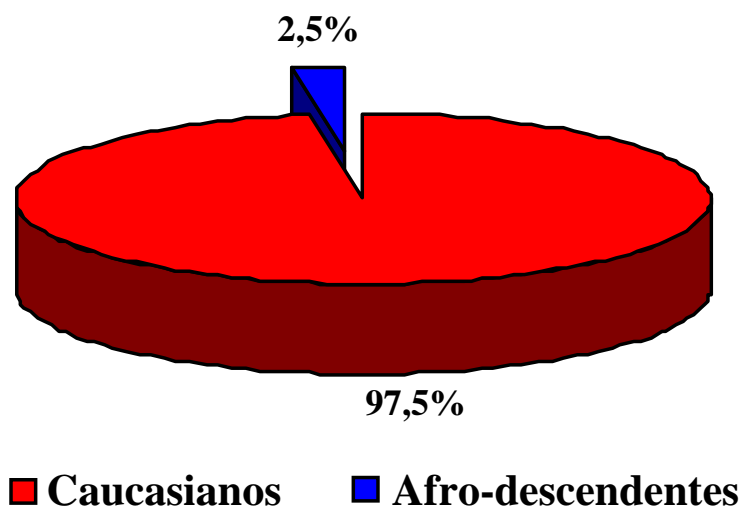


FIGURA 1 - Distribuição dos 161 hemofílicos de acordo com a etnia.

As figuras 2, 3 e 4 demonstram os resultados dos ensaios utilizados para determinar as alterações da hemostasia, ou seja dosagem dos fatores VIII e IX e a presença de anticorpos contra os fatores VIII e IX ou inibidores dos casos estudados (apêndice 4).

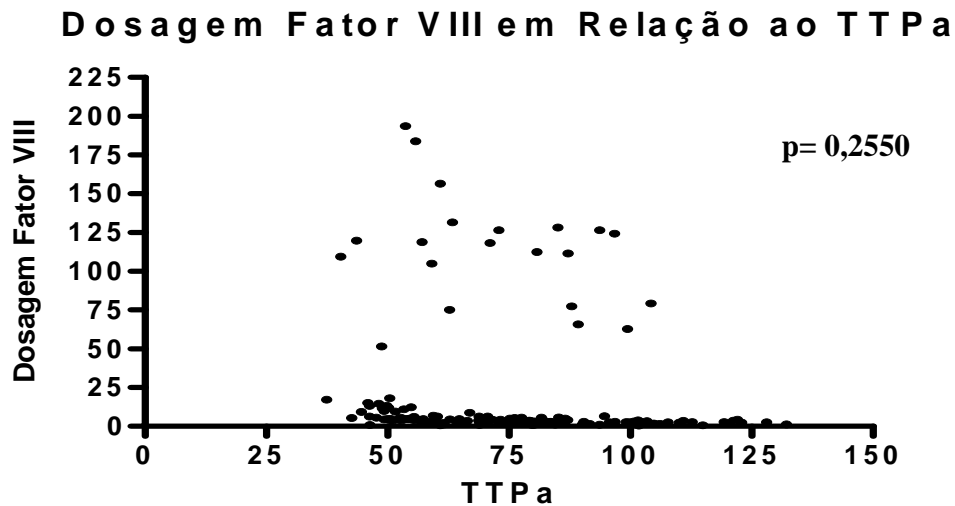


FIGURA 2 – Gráfico da distribuição dos resultados do Tempo de Atividade de protrombina ativada (TTPa) em relação ao nível de fator VIII.

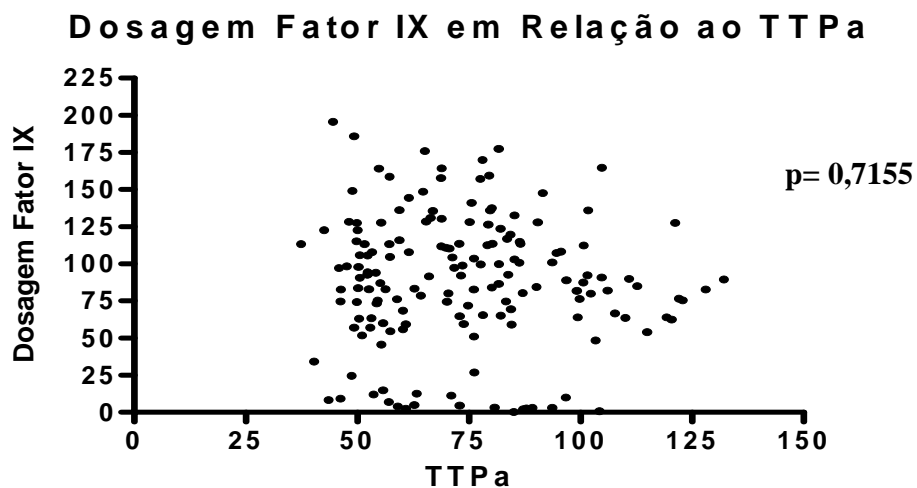


FIGURA 3 – Gráfico da distribuição dos resultados do Tempo de Atividade de protrombina ativada (TTPa) em relação ao nível de fator IX.

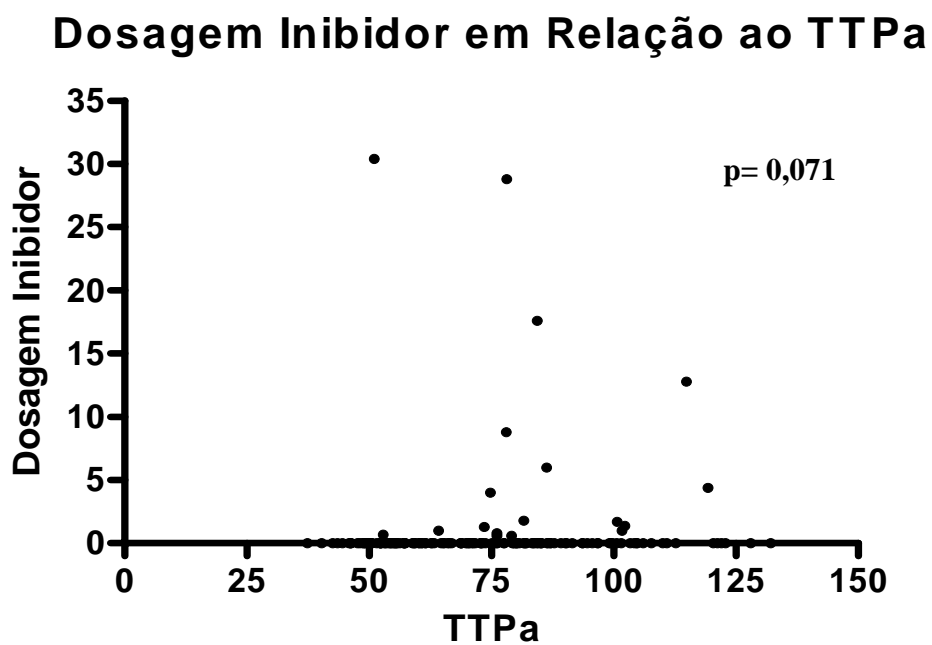


FIGURA 4 – Gráfico da distribuição dos resultados do Tempo de Atividade de protrombina ativada TTPa em relação ao nível de inibidor.

Os 139 hemofílicos A e os 22 hemofílicos B, classificados clínico e laboratorialmente corresponderam respectivamente a 86,3% (IC 95% 80,8-91,2%) e a 13,7% (IC 95% 8,8-20%,) como demonstrado na Figura 5.

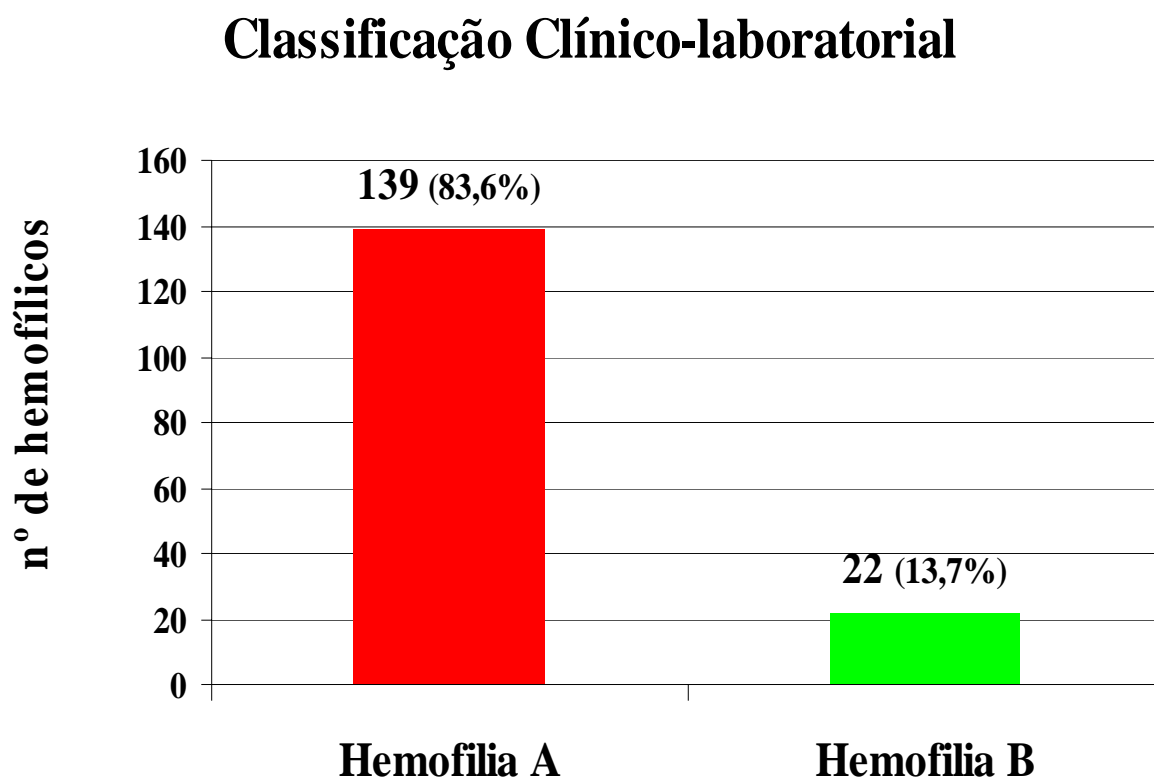


FIGURA 5 - Distribuição dos indivíduos de acordo com a classificação clínica em hemofilia A e B. Período: janeiro a dezembro 2005.

O nível moderado de atividade coagulante dos fatores VIII (hemofilia A) e IX (hemofilia B) preponderou na amostra estudada com um percentual total de 69,6% e apenas 5,6% dos hemofílicos foram considerados graves. Dos 112 (69,6%) hemofílicos que foram categorizados como moderados, 102 eram hemofílicos A e 10 eram hemofílicos B (Figura 6).

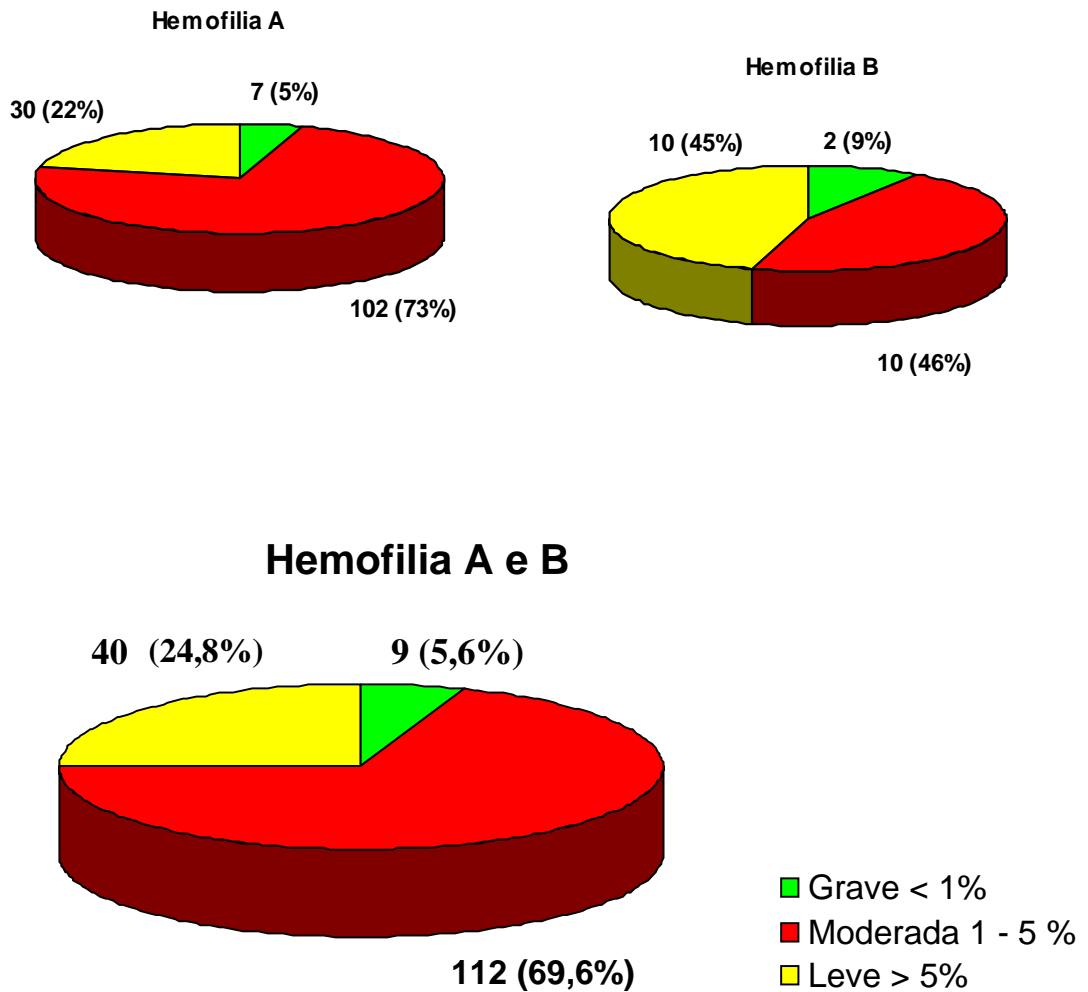


FIGURA 6 - Distribuição da classificação dos hemofílicos A e B em número absoluto e percentual, conforme o nível detectado de atividade coagulante dos fatores. Período: janeiro a dezembro de 2005.

A idade variou de três meses a 71 anos, a média foi de 22,2 anos com desvio padrão de 15,4 e mediana de 19 anos. A maioria dos indivíduos (96) pertenceu às faixas etárias de até 20 anos, ou seja, 59,6 % dos hemofílicos (Figuras 7 e 8).

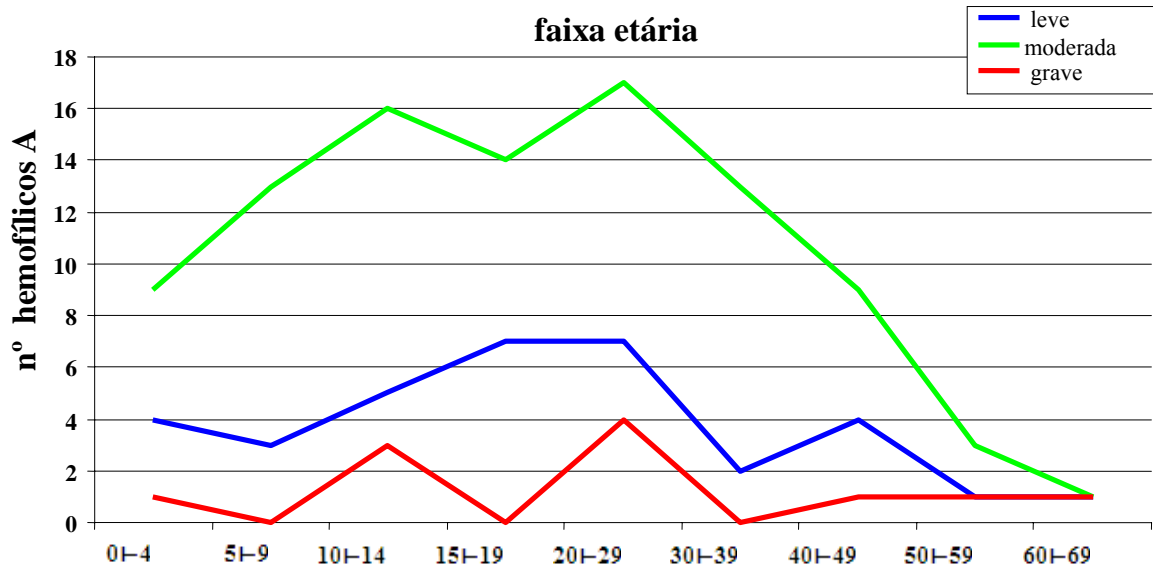


FIGURA 7 – Distribuição dos indivíduos hemofílicos A conforme o grupo etário à coleta e a classificação quanto à gravidade clínica e laboratorial, em número absoluto. Período: janeiro a dezembro de 2005.

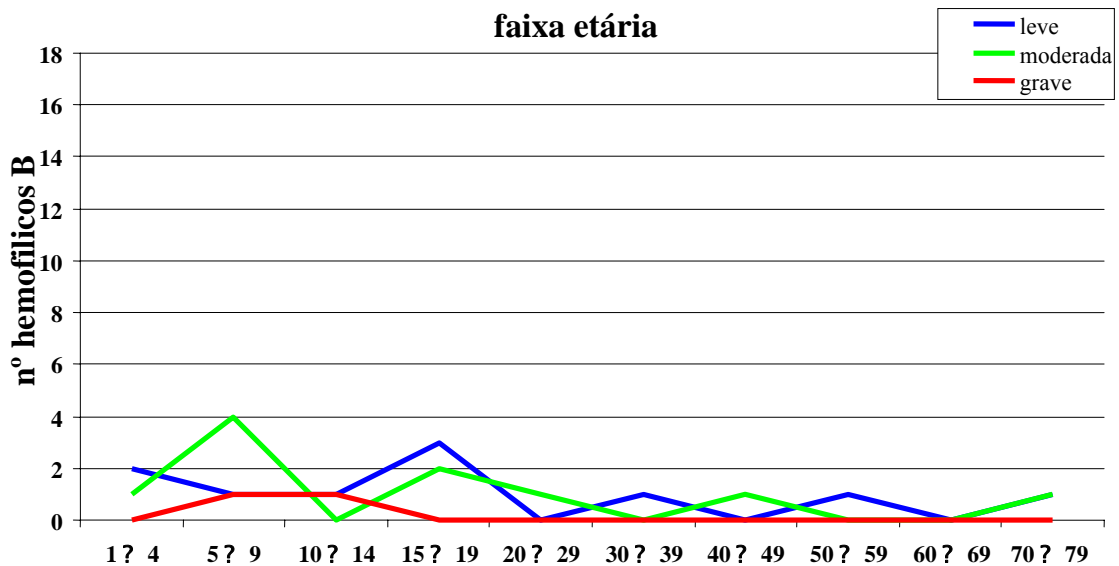
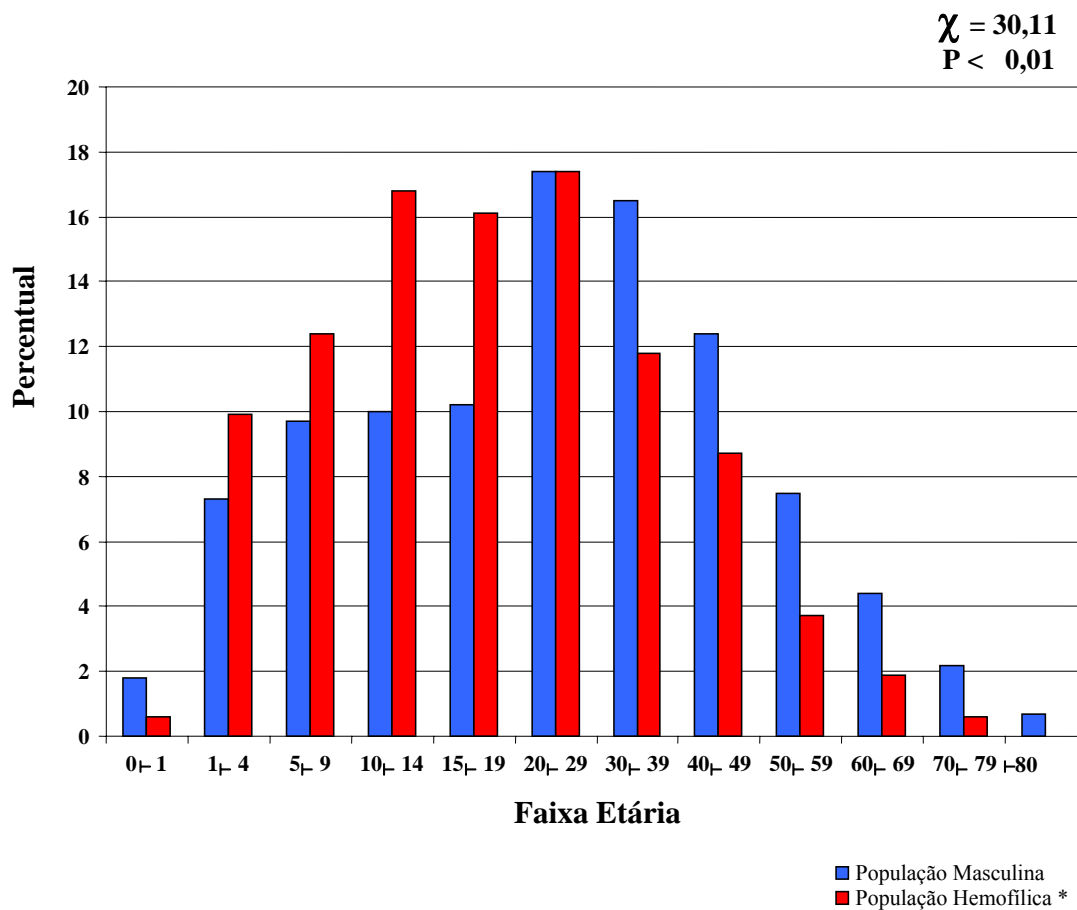


FIGURA 8 – Distribuição dos indivíduos hemofílicos B conforme o grupo etário à coleta e a classificação quanto à gravidade clínica e laboratorial, em número absoluto. Período: janeiro a dezembro de 2005.

Utilizando-se do censo demográfico estratificado pela idade e sexo estimados da população geral masculina de 2.967.207 para o ano de 2005 e em comparação relativa (percentual) com as faixas etárias dos 161 hemofílicos estudados é possível destacar a predominância da população jovem hemofílica até 20 anos, figura 9.

**Comparativo percentual para cada faixa etária entre a
população masculina e a população hemofílica do
Estado de Santa Catarina**

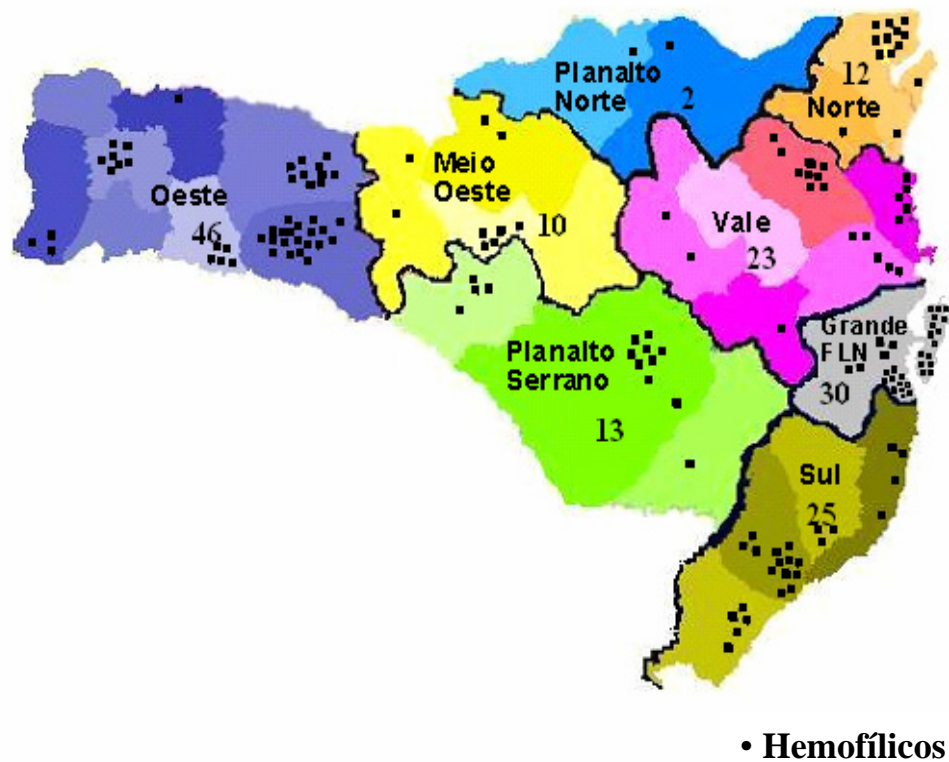


* Percentual calculado em relação ao total de indivíduos estudados (n=161)

FIGURA 9 – Distribuição dos indivíduos hemofílicos de acordo com a faixa etária, em comparação a população masculina de Santa Catarina, em número percentual. Período: janeiro a dezembro de 2005.

Os hemofílicos (n=161) procederam de diversas regiões do Estado, a maioria residindo próximo aos centros de atendimento médico. As cidades mapeadas de Florianópolis, Concórdia, Palhoça, Joinville e Lages, respectivamente em ordem decrescente, detinham o maior número de hemofílicos (Figura 10).

FIGURA 10 – Mapa de distribuição macro-regional conforme a procedência dos hemofílicos A e B do Estado de Santa Catarina, janeiro a dezembro de 2005.



A prevalência média de hemofilia em Santa Catarina foi de 4,90 hemofílicos por 100.000 habitantes, com uma taxa respectiva de 4,23 hemofílicos A e 0,67 hemofílicos B.

O Planalto Norte foi a região de menor prevalência representado por dois indivíduos, perfazendo um total de 2,82 casos e o Oeste foi a região com maior prevalência 46, ou seja, de 13,16 hemofílicos para cada 100.000 habitantes (figura 11, apêndice V).

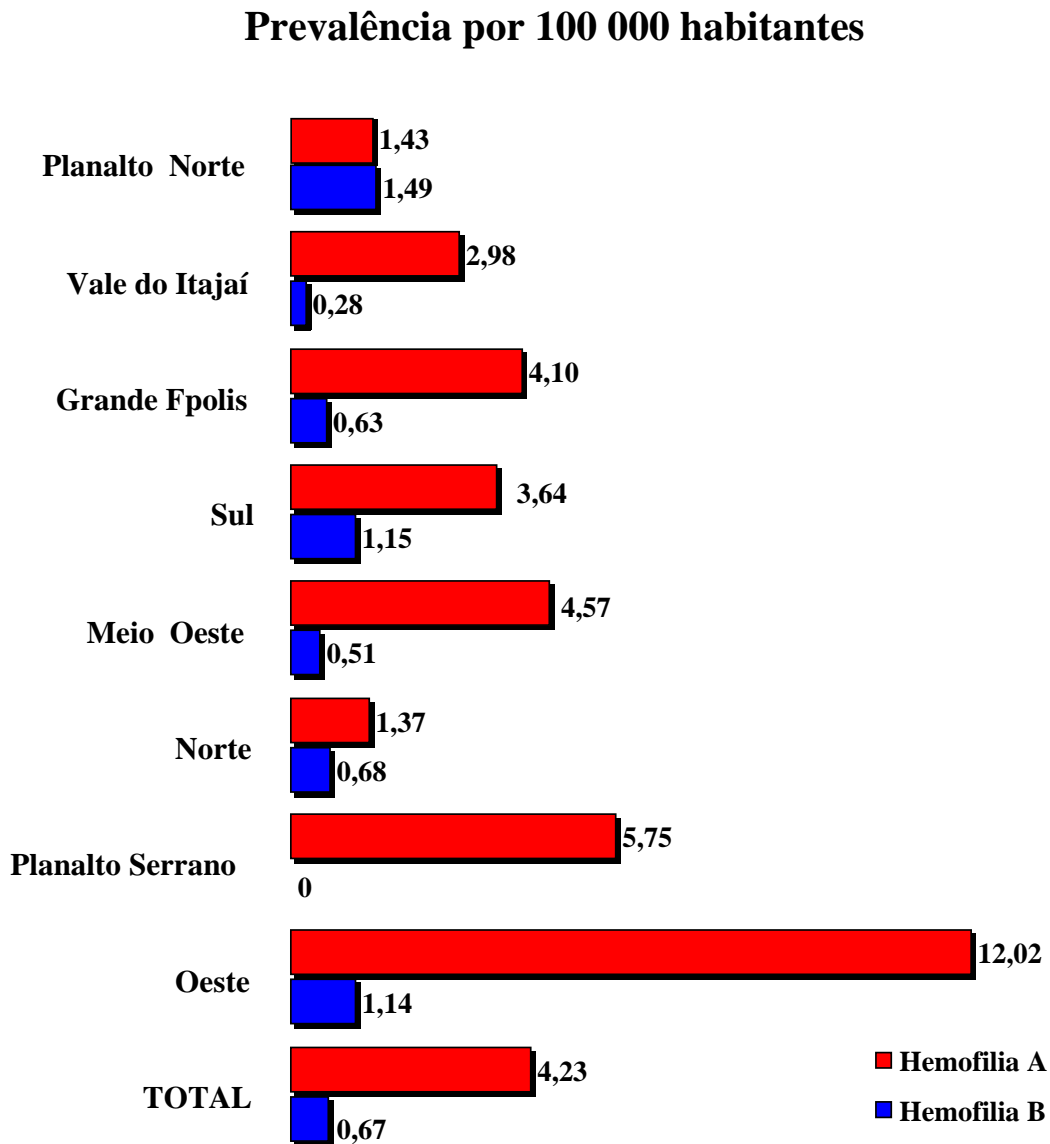


FIGURA 11 - Prevalência hemofilia A e B por 100.000 habitantes, distribuídos conforme as macro-regiões do Estado de Santa Catarina, janeiro a dezembro de 2005.

A parcela mais significativa dos hemofílicos, moderados e graves, fazia uso da reposição de fatores a cada dois meses, enquanto os portadores de deficiência leve o faziam duas a três vezes por ano (Tabela 1).

TABELA 1 - Distribuição dos hemofílicos em número absoluto e percentual de acordo com a classificação clínica e o intervalo de dias da necessidade de reposição dos fatores VIII e IX (p 0,1945).

Terapia de Reposição intervalo / dias	Leve		Moderada		Grave		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
7	2	6,7	2	1,8	0	0	4	2,6
15	2	6,7	11	10,1	2	15,3	15	10
30	2	6,7	23	21,3	3	23	28	19
60	4	13,3	34	31,6	4	30,7	42	27,2
90	5	16,6	19	17,6	2	15,6	26	17,2
120	2	6,7	3	2,8	0	0	5	0,6
180	1	3,3	2	1,9	0	0	3	3,3
270	9	30,0	11	10,2	1	7,7	21	14
365	3	10,0	3	2,7	1	7,7	7	4,6
Total	30	100	108	100	13	100	151	100

O conhecimento dos hemofílicos e ou seus familiares de serem portadores de uma doença genética foi de 90,6% para hemofilia A e 100% para hemofilia B (Tabela 2).

TABELA 2 - Distribuição das respostas dos hemofílicos às variáveis sobre o conhecimento da transmissão genética de sua enfermidade.

QUESTÕES	HEMOFILIA A				HEMOFILIA B			
	Sim	%	Não	%	Sim	%	Não	%
Doença genética	126	90,6	13	9,4	22	100	0	0,0
Transmite aos descendentes	116	83,0	23	16,5	20	90,1	2	9,9
Filhas portadoras	87	65,6	52	37,4	16	72,7	6	27,3
Filhos normais	85	61,2	54	38,8	15	68,0	7	32,0
Netos afetados ou normais	85	61,2	54	38,8	16	72,7	6	27,3

Entre os hemofílicos A, 82 relataram conhecer pelo menos um outro familiar portador de hemofilia. Entre os hemofílicos B, 10 apresentavam 1 a 4 membros portadores entre os seus familiares. (Figura 12).

Outros casos de hemofilia A ou B, pertencentes à mesma família

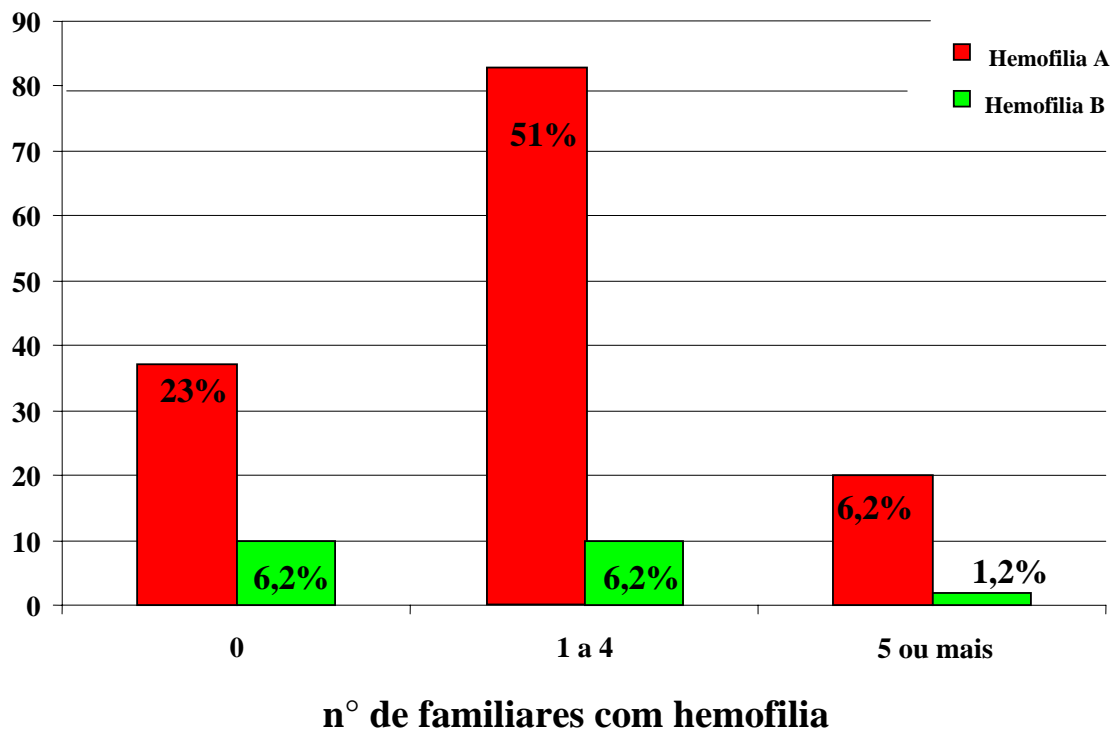


FIGURA 12 - Distribuição dos indivíduos com história familiar de hemofilia (outros casos conhecidos) em número absoluto e percentual.

A maioria dos indivíduos apresentou formas indicativas de comprometimento osteoarticular. A artropatia, secundária a hemorragia de repetição, foi detectada em 60 hemofílicos e a quantidade de articulações afetadas variou de uma a sete num mesmo indivíduo (Figura 13).

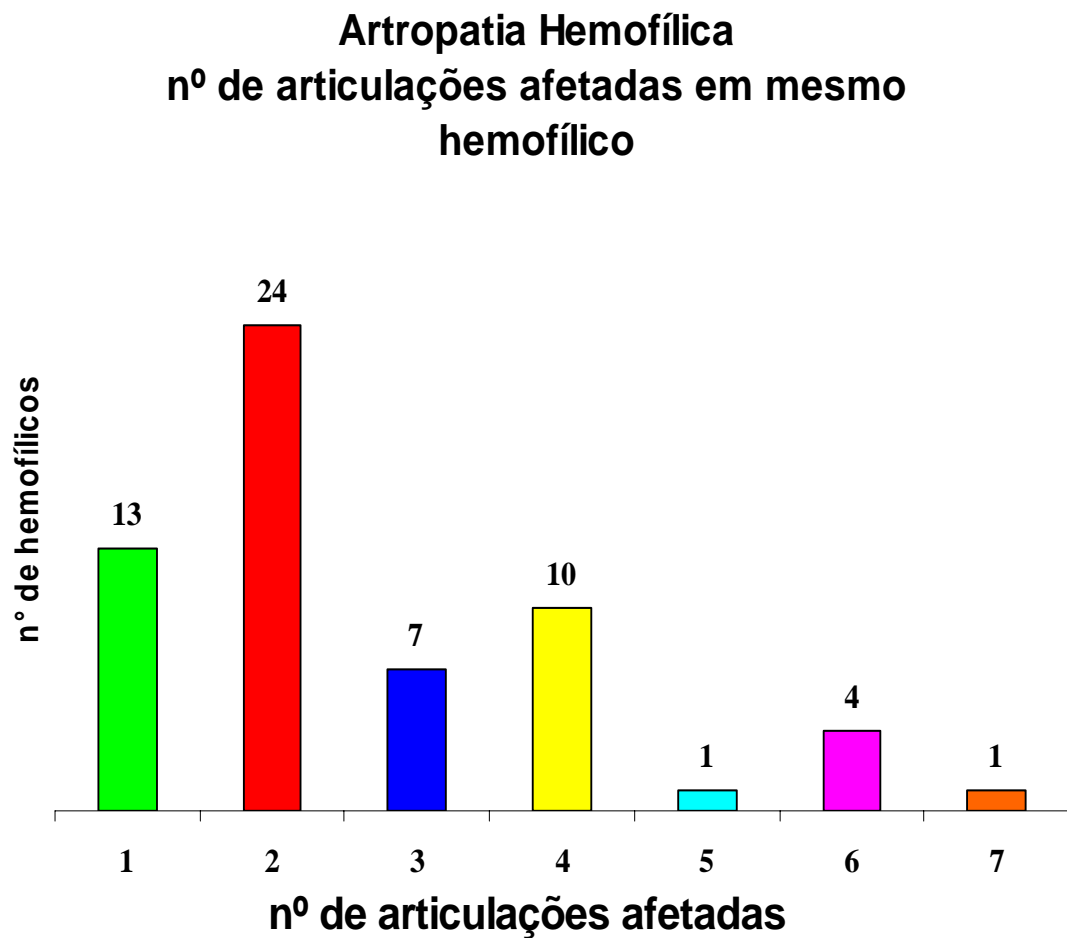


FIGURA 13 - Distribuição do número de hemofílicos portadores de artropatia de acordo com número de articulações afetadas

A figura 14 ilustra a presença da artropatia hemofílica observada em 79 (56,8%) hemofílicos A e 10 (45,5%) hemofílicos B, através da redução na amplitude de movimento articular (ADM). O dano articular crônico comprometeu as atividades para o trabalho em 27 (16,7%) hemofílicos e os sangramentos intra-articulares de repetição ocorreram em 56 (34,7%) dos portadores (n=161).

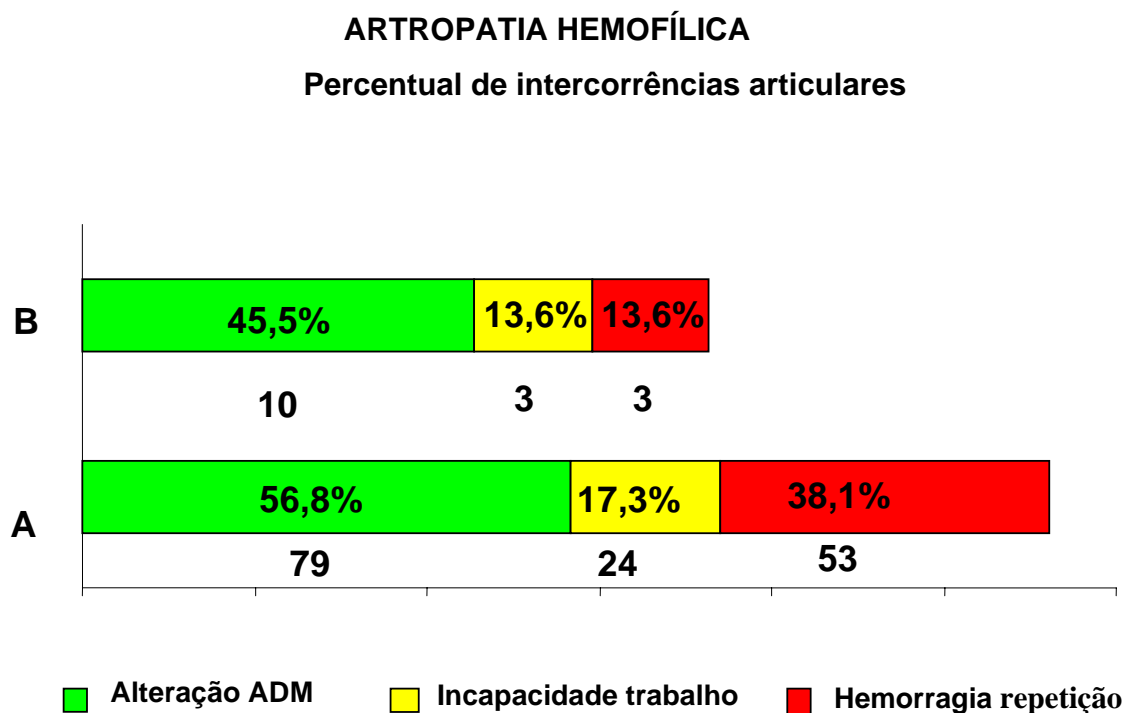


FIGURA 14 – Distribuição das complicações articulares crônicas em aos hemofílicos A e B, em percentagem janeiro a dezembro de 2005,

A figura 15 evidencia nitidamente a atrofia muscular e a alteração da ADM com perda da flexibilidade secundária à artropatia hemofílica.



FIGURA 15 - Limitação ADM em paciente hemofílico A com artropatia crônica.

O número de articulações comprometidas foi em uma ordem de maior frequência: os joelhos (46%), os cotovelos (33%) e os tornozelos (11%), ilustrados na Figura 16.

Articulações Comprometidas

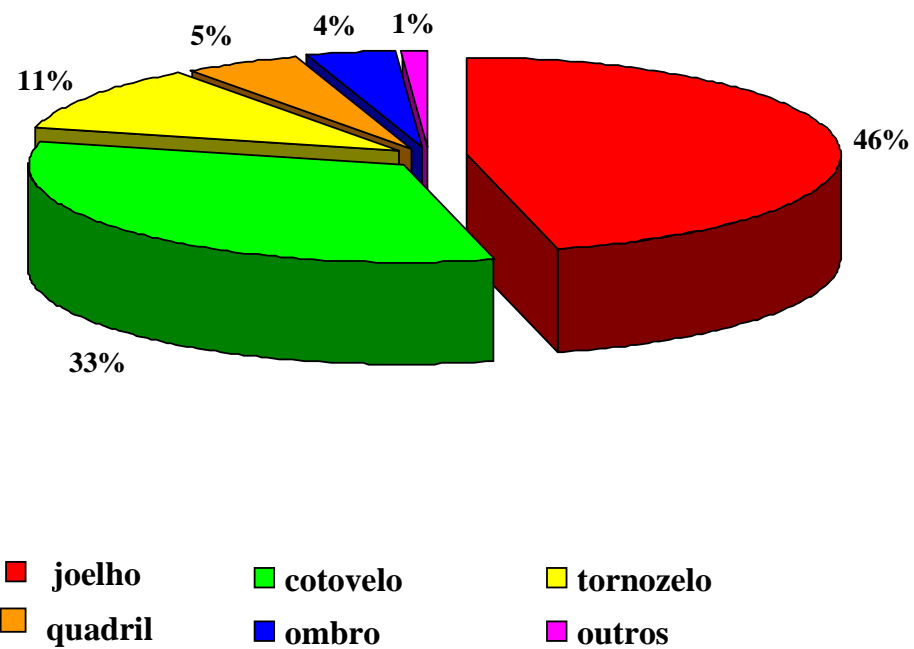


FIGURA 16 – Gráfico demonstrando as articulações comprometidas de maior prevalência.

A figura 17 revela a realidade da deformidade assimétrica das articulações de joelho em um paciente hemofílico adulto.



FIGURA 17 - Comprometimento articular crônico nos joelhos secundário a hemartrose de repetição em hemofílicos A moderado.

Verificou-se que dos 161 hemofílicos, 19 (11,08%) desenvolveram inibidores, destes, 21,06% apresentaram hemofilia leve, 68,42% moderada e 10,52% grave.

Avaliou-se o risco para o desenvolvimento do inibidor (OR), o intervalo de confiança (-95%) não mostra valores acima de 1. p.ex: 0,30 para hemofilia moderada e 0,16 para hemofilia grave, tabela 3.

TABELA 3 – Avaliação da relação entre a gravidade da hemofilia e o risco de desenvolver inibidor, período de janeiro a dezembro de 2005.

Gravidade da hemofilia	Inibidor		OR (IC 95%)
	Presente	Ausente	
Leve	4	33	1*
Moderada	13	98	1,09 (0,30 – 4,30)
Grave	2	11	1,50 (0,16 – 11,86)
TOTAL	19	142	

Inibidor de baixa resposta com título menor ou igual a cinco Unidades Bethesda, ocorreu em 68,42% (um com hemofilia grave, nove moderada e três leve).

O inibidor de alta resposta foi identificado em seis destes indivíduos (38,58%), dos quais um com hemofilia leve, quatro com moderada e um com grave (Figura 18).

Atividade dos Inibidores

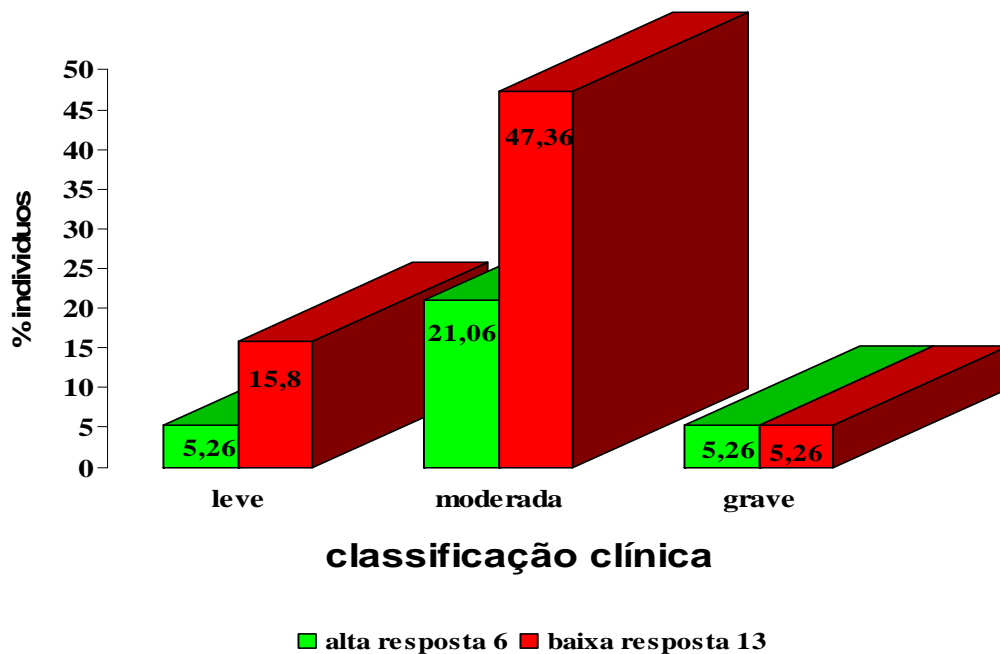


FIGURA 18 - Distribuição dos inibidores de acordo com a classificação clínica da hemofilia em relação à alta resposta (> 5 UB) e baixa resposta (≤ 5 UB) e número de indivíduos portadores.

As taxas de prevalência dos marcadores sorológicos para as doenças hemotransmissíveis pesquisadas estão demonstradas na tabela 4.

A prevalência para os marcadores dos anticorpos contra hepatite B está demonstrada na tabela 9. Em 48 (29,8%) indivíduos o anti-HBc foi positivo, demonstrando contato prévio com o HBV, dos quais dois foram considerados portadores crônicos com sorologia reagente para o HBsAg.

A positividade isolada para o anti-HBs, definido como marcador de imunidade, ocorreu em 72 (44,7%) dos hemofílicos.

TABELA 4 – Distribuição dos resultados sorológicos dos anticorpos contra o vírus da Hepatite B de pacientes hemofílicos em número absoluto e percentual. Período: janeiro a dezembro de 2005.

ANTI-HBc \ ANTI-HBs	Não Reagente		Reagente		Indeterminado		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Não Reagente	28	17,4	9	5,6	1	0,6	38	23,6
Reagente	72	44,7	36	22,3	0	0	108	67,0
Indeterminado	12	7,5	3	1,9	0	0	15	9,4
TOTAL	112	69,6	48	29,8	1	0,6	161	100

Dos hemofílicos estudados, 112 eram anti-HBc não reagentes e foram agrupados em vacinados (imunizados ativamente) e não vacinados para hepatite B, destes 62 eram anti-HBs reagentes e anti-HBc não reagente. Do grupo de imunizados, 62 soroconverteram o anti-HBs (Figura 19).

Soroconversão do anti-HBs entre os hemofílicos anti-HBc não reagentes vacinados e não vacinados

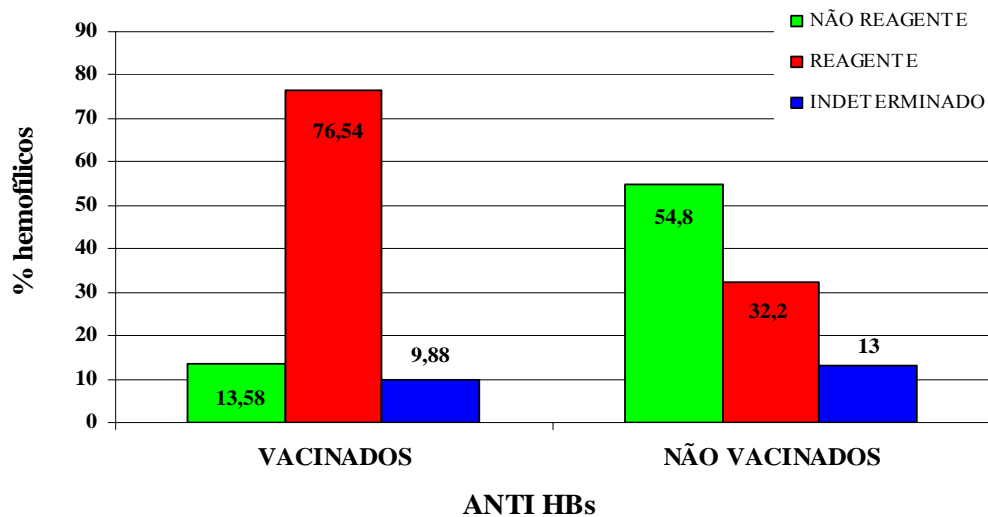


FIGURA 19 - Distribuição dos hemofílicos A e B de acordo com a soroconversão da imunização ou não para hepatite B, em número absoluto.

Em relação ao estudo da hepatite C, 60 hemofílicos apresentaram os marcadores indicativos deste, confirmando-se o diagnóstico HCV para 55 (34,16%) hemofílicos, 36 por PCR e 19 por RIBA, como mostra a figura 20, através das técnicas: PCR e imunoblot (RIBA 3.0).

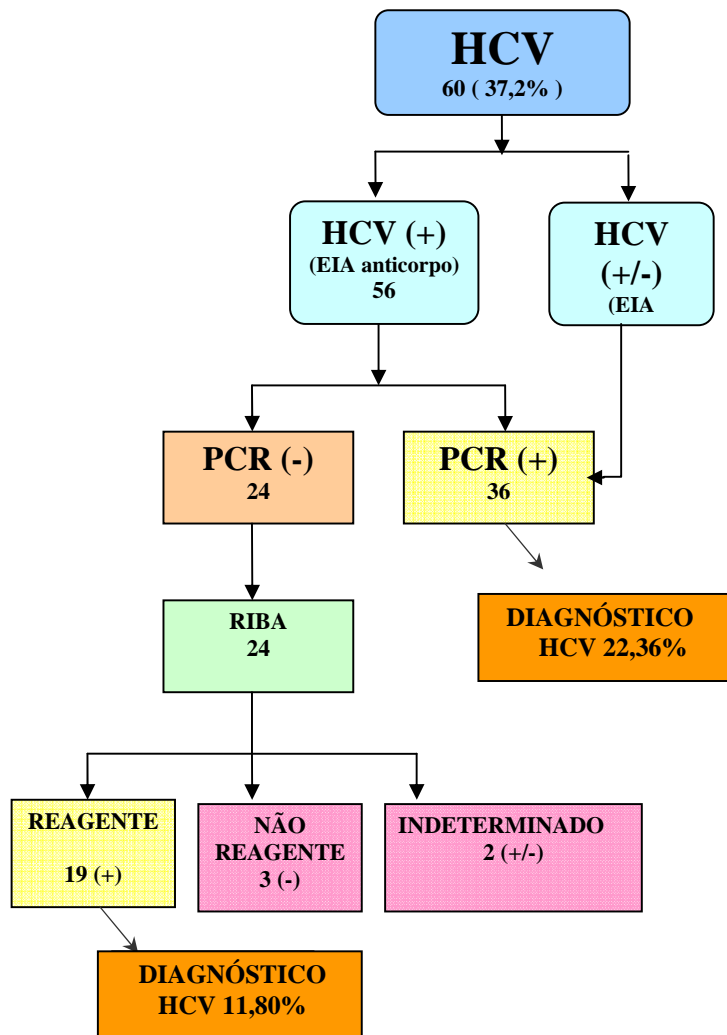


FIGURA 20 – Fluxograma dos resultados da investigação sorológica para Hepatite C dos hemofílicos.

A coexistência de infecções virais foi detectada em 33 hemofílicos, 20,5% da população estudada como se observa na figura 21. O achado mais frequente foi a associação de hepatite B e Hepatite C em 30 hemofílicos.

Co-infecção viral entre os hemofílicos

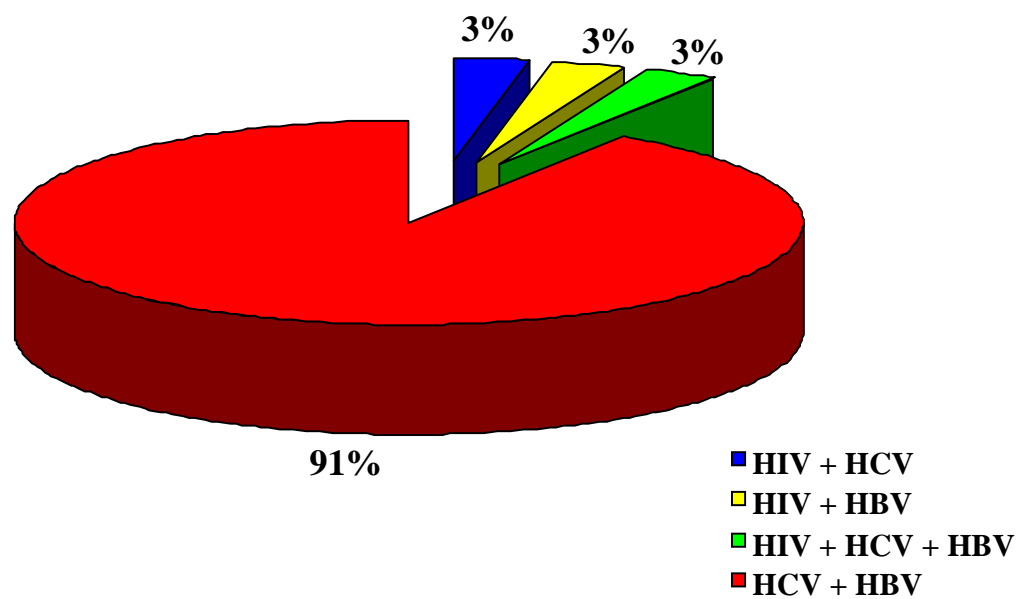


FIGURA 21 - Distribuição dos hemofílicos de acordo com a soro-positividade de infecções virais hemotransmissíveis concomitantes.

5. DISCUSSÃO

Com o propósito de analisar a situação da hemofilia A e B no Estado de Santa Catarina foram estudados 161 indivíduos procedentes dos diversos municípios, atendidos através da rede de saúde pública.

A hemofilia é rara em negros e chineses. Embora alguns autores não façam distinção da incidência entre os grupos raciais, existem relatos, principalmente os estudos entre descendentes afros americanos, de que a frequência dos polimorfismos para o gene *F8* e *F9* sofre variação étnica e implica em maior possibilidade de desenvolver inibidores. Os achados desta pesquisa também confirmam o número reduzido de afro-descendentes, apenas quatro (2,5%) representantes, e nenhum asiático, observando, entretanto, que o Estado de Santa Catarina é formado por uma população predominantemente caucasiana. (Figura 1).^{32,33}

O diagnóstico foi baseado na apresentação clínica de sangramento e na história familiar associado à análise dos parâmetros laboratoriais (nível de atividade coagulante plasmática dos fatores VIII e IX), categorizando os hemofílicos em leves, moderados ou graves e identificando os que desenvolveram anticorpos contra estes fatores, denominados inibidores. Este sistema classificatório seguiu as recomendações do Subcomitê Científico do fator VIII e IX da Sociedade Internacional de Hemostasia e Trombose que para determinar o grau de severidade da hemofilia valoriza o nível destes coagulantes em relação às manifestações hemorrágicas (Figuras 2, 3 e 4).²⁸

A Federação Mundial de Hemofilia (WFH) estima no mundo a presença de 400.000 pessoas com hemofilia A e B, considerados 200.000 como graves, no entanto apenas 121.000 são conhecidos, de acordo com registros da Federação, houve um acréscimo de 5% no diagnóstico de pacientes para o ano de 2005.²³ Esta pesquisa em Santa Catarina permitiu elevar em 2,5% o número de hemofílicos do Estado cadastrados junto ao Ministério da Saúde.^{24, 26}

A prevalência na população geral é de 1 para 10.000 hemofílicos A e 1 para 40.000 hemofílicos B, ou seja 25% dos hemofílicos são B. O tipo de hemofilia A é mais frequente em relação ao de hemofilia B, portanto, na proporção de quatro para um. Os casos analisados demonstraram que 139 (86,3%) dos indivíduos pertenciam ao tipo A e 22 (13,7 %) ao tipo B,

portanto 6,3 hemofílicos A para um hemofílico B, estabelecendo-se uma relação mais elevada do que o descrito na literatura de outros países e semelhante a Nacional (Figura 5).³²⁻⁴

Referências internacionais e mesmo nacionais dos últimos anos trazem pouca informação sobre estudos de incidência relacionando a clínica com os achados laboratoriais de atividade coagulante dos fatores e morbidades simultâneas. Quando o fazem abordam um tema específico como a relação a inibidores, doenças infecciosas, terapia de reposição, entre outros.

Correlaciona-se a gravidade clínica diretamente com a quantidade do nível residual dos fatores VIII ou IX. A atividade plasmática com níveis menores do que 1 % é associada a sintomas hemorrágicos graves, de 1 a 5 % com moderados e acima de 5% com leves.^{4, 32-4} O estudo funcional destes fatores pode ser realizado por métodos como os de coagulação ou coagulométrico (em um ou dois estágios) ou como o método cromogênico.³⁵⁻⁸

A proporção de hemofílicos graves predominou na maioria dos trabalhos, utilizando-se da mesma classificação; A freqüência das formas leve, moderada e grave foi em ordem correspondente de 50%, 10% e 40%, muito embora este número pudesse ser sobreestimado, pois os hemofílicos graves procuram mais comumente os serviços médicos.^{5,18} O nível de atividade coagulante nos 161 hemofílicos difere significativamente da maioria dos trabalhos consultados: foram detectados como leve 5,6%, moderado 69,6% e grave 24,8% (Figura 6).

A baixa freqüência da forma leve poderia ser decorrente da subnotificação dos pacientes não vinculados aos centros hemoterápicos que por não terem vivenciado um procedimento invasivo ou uma situação hemorrágica ainda não foram diagnosticados. Há de se considerar a complexidade para dosagem de fatores da coagulação nos diversos laboratórios gerais do Estado.

Neste estudo, a predominância de hemofilia moderada poderia ser explicada pela morbimortalidade da hemofilia grave que impediram sua sobrevivência. Outra questão, diz respeito às metodologias adotadas que não referiam o intervalo adequado entre o uso dos fatores de reposição e a realização dos ensaios de coagulação, a comprometer os resultados finais. A não observância do uso prévio da reposição poderia deslocar o nível da atividade anticoagulante para a faixa mais leve da hemofilia. Haveria também modificações se os episódios hemorrágicos próximos à coleta não fossem considerados como critérios de exclusão do presente estudo, vieses considerados para a análise dos resultados finais.

Os hemofílicos participantes apresentaram uma média de idade de 22,2 anos (Figuras 7 e 8). Ao comparar os dados do percentual de prevalência da população masculina de Santa Catarina estimados para 2005 (DATASUS/fundação IBGE)²⁵ com os percentuais para a mesma faixa etária da prevalência dos hemofílicos, é perceptível o predomínio dos hemofílicos até 29 anos (73,2%) sobre a população masculina geral do Estado. A diferença entre estas tem o valor do qui-quadrado de aderência de 30,11 e 8 graus de liberdade o que excede o valor crítico para erro tipo I de 0,01 (19,68) com significância maior para a faixa de 10 a 14 e 15 a 20 anos. Evidenciou-se que uma percentagem menor de hemofílicos alcançou idades superiores a 40 anos. (Figura 9) Esta diferença deve-se, muito provavelmente as muitas interações no processo de sobrevivência de um hemofílico.

Ao distribuir os indivíduos quanto à região geográfica de procedência, observa-se que a maioria dos hemofílicos residia na macro-região do Oeste de Santa Catarina (Figuras 10). Verificou-se com o estudo a prevalência de 4,23 e de 0,67 por 100.000 habitantes para os 139 hemofílicos A e para os 22 hemofílicos B, respectivamente, isto significa menos de um hemofílico para cada 10.000 habitantes (Figura 11). Deve-se ressaltar que uma parcela da população hemofílica para o Estado não participou das investigações pelas limitações do método aliada as variáveis sociais econômicas e culturais.

Nesta pesquisa o critério de coleta das amostras de sangue dos hemofílicos incluídos para a dosagem dos fatores da coagulação baseou-se nos estudos experimentais da farmacocinética de Doutora Kasper avaliando o nível plasmático dos fatores VIII e IX após infusão endovenosa de 50 UI/Kg de fator em dose única, onde foi possível notar que estes níveis caíram a zero nas hemofilias A e B graves, após 72 horas.¹⁴

O modelo de tratamento oferecido aos hemofílicos tem restrições, o ideal é que houvesse a avaliação individual para determinar a dose e o intervalo de reposição dos fatores, evitando a sub-dosagem e em consequência o dano músculo-esquelético.^{8, 38, 39} Um controle de qualidade recente, comparando 82 centros de hemofilia de atenção primária com atenção terciária, realizado no Reino Unido para classificação da hemofilia A, coletou amostras de 3 hemofílicos com 10 dias do último tratamento, mas não refere exclusão de evento hemorrágico precedendo a coleta. A determinação da atividade de fator foi executada por métodos diferentes em dois centros, os demais (80 centros) fizeram os testes por método coagulométrico em um estágio.³⁸

A vida média do fator administrado, portanto, não é determinada habitualmente. Com a proposta de estabelecer clinicamente a necessidade individual do tratamento foi indagado qual o intervalo de tempo estes indivíduos faziam uso da reposição. Fato de interesse é que dois portadores de deficiência moderada não necessitaram da reposição de fatores. A mediana foi de 60 dias, mesmo para quatro hemofílicos graves (Tabela 1). Duas hipóteses podem ser discutidas: primeiro, o tratamento disponibilizado no país aos hemofílicos é direcionado para o evento hemorrágico e é restritivo para o uso profilático. Segundo, a diversidade da expressão clínica hemorrágica para o mesmo grau de deficiência, dependente de mutações outras concomitantes.

O tamanho do gene *F8* o torna suscetível a muitas mutações, isto poderia justificar a maior prevalência da hemofilia A versus a hemofilia B (4:1). O tipo de mutação confere o nível de atividade funcional. Em 40 a 50% dos casos de hemofilia A grave, são devidos a inversão de intron 22, outro rearranjo freqüente é a inversão do intron 1. A maioria dos pacientes com formas leves exibem mutações *missense*.^{18,41}

O gene *F9* apresenta apenas 3% dos defeitos genéticos decorrentes de deleções ou rearranjos complexos, 68% acontecem por mutação *missense* e 14 % por *nonsense*.^{32,42}

Detendo este conhecimento e com a possibilidade de realização dos estudos moleculares no futuro, a história familiar foi investigada clinicamente, despertando uma curiosidade para avaliar o grau de entendimento sobre esta hereditariedade por parte do indivíduo e ou de seu familiar. Qual era a compreensão do próprio hemofílico, portador de uma condição genética, e de que forma poderia perpetuar a doença através de seus descendentes, ou seja, exatamente aos quais transmitiriam o gene: a filha obrigatoriamente portadora, o filho normal e a possibilidade de neto hemofílico ou de neta portadora.^{4,8}

Os hemofílicos e ou seus familiares demonstraram um bom índice de compreensão a respeito da transmissão hereditária da hemofilia. Para a questão de ser portador de uma doença genética foi obtido o índice de resposta afirmativa de 90,6 % entre os hemofílicos A e da totalidade dos hemofílicos B. Quando perguntado sobre a possibilidade de gerarem netos hemofílicos, este percentual caiu para 62,0% e 72,7 %, respectivamente para hemofílicos A e B (Tabela 2). Na ocasião foi esclarecido aos entrevistados como se processa a transmissão genética.

O estudo genético é importante para esclarecimento do estado de portador quando os testes de coagulação são normais. A possibilidade de diagnóstico pré-natal deveria ser acessível

para as portadoras. Realizado por biópsia coriônica ou análise do líquido amniótico e através da dosagem direta no sangue fetal. Já é possível a escolha de um embrião não afetado, no entanto, são poucos os casos de sucesso.^{18,43}

Quando se suspeita de hemofilia em um recém-nascido o diagnóstico da hemofilia B pode ser confundido com a redução dos fatores da vitamina K dependente. Normalmente o TTPa é prolongado no período neonatal e a dosagem do fator específico pode confirmar apenas hemofilia A, pois a quantificação correta do fator IX só é possível a partir do 6º mês de vida quando se assemelha ao do adulto.¹⁸

A história familiar favorece o reconhecimento pós-natal da hemofilia. A presença do primeiro caso diagnosticado de hemofilia A na família deve ser diferenciado da Doença de von Willebrand (vW). A herança autossômica com sintomas que incluem a hemostasia primária como gengivorragias, epistaxes, menorragia e o prolongamento do tempo de sangramento auxiliam no diagnóstico diferencial. Para definir a etiologia pode ser necessária ainda a realização dos seguintes exames: agregação plaquetária com ristocetina, pesquisa do antígeno de von Willebrand (vWAg), dosagem da atividade do cofator de ristocetina e análise dos multímeros do fator de vW (as variantes do tipo 2N e 3 são semelhantes a hemofilia A grave).^{5,43-6}

A severidade da manifestação hemorrágica como discutido é dependente das mutações, porém o nível de fator é igual para todos os membros afetados de uma família, mantendo-se durante toda a existência dos indivíduos como regra. A associação com estados trombofílicos ou outras mutações gênicas específicas é o que propicia divergências clínicas em hemofílicos aparentados. A severidade da hemofilia é minimizada se coexiste uma condição genética que resulte em hipercoagulabilidade como as que levam a resistência da proteína C ativada (RPCa).^{18,49,51}

O fenótipo FIX Leyden representa uma condição interessante e rara de hemofilia B os pacientes são moderados a grave até a puberdade, depois o nível de fator IX eleva-se significativamente, com atenuação das manifestações hemorrágicas. Acredita-se que mutações na região da seqüência promotora 5' do gene afetem importantes regiões de ligação dos hormônios esteróides. Há também variantes do FIX em não hemofílicos, por outro lado, que podem provocar hemorragias quando seus portadores são tratados com cumarínicos.

Outros defeitos genéticos mais raros podem estar presentes em um mesmo indivíduo, cita-se como exemplo a deficiência combinada de Fator V e Fator VIII, e nesta situação específica os autores referem não existir intensificação das manifestações hemorrágicas apesar dos defeitos simultâneos.^{18, 41, 46-9}

As mutações espontâneas ou “de novo”, acontecem mais frequentemente nas células com alto poder de divisão como na fase embrionária do próprio hemofílico, de sua mãe quando ela era ainda um embrião, do alelo do avô materno, durante a espermatogênese (mutação do intron 22 durante a meiose) ou de um ancestral distante¹⁸. Ilustrando estas informações encontrou-se um relato de casos esporádicos aonde a origem da alteração genética ocorreu em 82% das mães dos probandos. A idade paterna foi referida por outro autor para explicar a maior ocorrência de mutação entre os hemofílicos B, o número de divisões das células germinativas masculinas aumenta com a idade.⁵⁰⁻²

Novas mutações acometem 30% dos hemofílicos.^{4,5,18} Nesta casuística de 161 hemofílicos, 47 (29,2%) apresentavam história familiar negativa. Ao estratificar em A e B houve uma diferença significativa na probabilidade de terem uma nova mutação: 37 (26,6%) dos hemofílicos A e 10 (45,4%) dos hemofílicos B (Figura 12), demonstrando a possibilidade de uma maior incidência das mutações “de novo” para os hemofílicos B.

É possível que tenha ocorrido uma mudança no padrão genético muito recente e talvez a região gênica implicada seja a mesma para a maioria destes hemofílicos. O estudo molecular contribuiria para elucidar tal questão. Com este intuito, amostras destes 22 portadores foram submetidas à extração de DNA, na perspectiva de investigação futura (Anexo II).

A característica clínica marcante da hemofilia é o sangramento intra-articular. O sangramento agudo é precedido por sensação de peso, crepitação, formigamento, queimação, edema e dor. O sangramento repetitivo no sistema osteo-articular e muscular levam a artropatia hemofílica, há casos de formação de pseudo cisto ou pseudo tumores.^{4,18,43}

A hemorragia intra-articular pode ocorrer duas a três vezes por semana nas crianças em crescimento. Pacientes com hemofilia severa tem 20 a 30 episódios ano de sangramento espontâneo ou excessivo a traumas menores.⁵³

Baseada na clínica de edema, deformidade, fixação em flexão, crepitação, instabilidade e atrofia muscular com deformidade axial é possível avaliar o grau de comprometimento articular

crônico e que implicará em perda funcional da estrutura, incluída no capítulo 7 da Classificação Internacional de Funcionalidade (*International Classification of Functioning Disability and Health*) da Organização Mundial de Saúde (OMS).⁵⁴

A artropatia crônica com hemorragia de repetição foi constatada em 60 hemofílicos e a quantidade de articulações afetada em um mesmo indivíduo variou de uma a sete (Figura 13).

Na Índia um trabalho sobre artropatia apresentou 35 pacientes com média de idade 20,5 anos encontrando 94% com o joelho afetado, mas não refere quantas articulações por hemofílico estavam lesadas.⁵⁴ Um estudo espanhol sobre o impacto na qualidade de vida de 60 hemofílicos apontou 84,3% com seqüelas ortopédicas, destes 76,1% tiveram comprometimento físico e social.⁵⁵ Nos 161 hemofílicos deste trabalho, a redução da amplitude de movimentos ocorreu em 89 casos (52,2% casos) demonstrado nas figuras 14 e 15. Observado que 56 hemofílicos apresentaram hemorragia de repetição em mesma articulação e que em 27 já havia incapacidade para atividades laborativas, com o maior percentual de intercorrências para os hemofílicos A.

Decorrentes de múltiplas hemorragias, as deformidades articulares envolvem principalmente as articulações dos joelhos, seguida as dos tornozelos ou cotovelos. Para este estudo confirmou-se o joelho como a articulação mais comprometida, com uma representatividade de 46% (Figuras 16 e 17).

A despeito de maior segurança e efetividade dos concentrados de fatores para o tratamento e prevenção dos episódios de sangramento agudo, alguns pacientes já apresentavam alterações articulares ao iniciar o tratamento profilático de reposição, demonstrando que sangramentos subclínicos podem desencadear a artropatia. Em pacientes com hemofilia grave e com antígeno HLA presente, o risco de sinovite crônica aumenta em mais de 30 vezes.⁵⁶

Quando o dano articular torna-se irreversível, com sinovite crônica, o tratamento indicado é a radiosinoviotese.⁵⁸ A remoção cirúrgica da sinóvia requer maior quantidade de fator e não evita completamente a disfunção articular. Referências à prevenção do envolvimento articular ressaltam o sucesso com a profilaxia apesar do risco de desencadear a formação de anticorpos.^{59,60}

Os mecanismos de formação de um inibidor, como mencionado, são determinados pela natureza da mutação gênica e em parte pela constituição imune do paciente. Pode ser também determinado pela raça e pelo fenótipo HLA classe II. Algumas regiões são mais imunogênicas

como as regiões A2, C2 e A3, respectivamente na ordem de importância, da molécula do fator VIII.^{5, 61,62} Isto se torna relevante ao permitir a produção do fator VIII recombinante com modificações destas regiões.

Os tipos de alteração genética a conferir maior chance de desenvolver inibidor, são as deleções e mutações nonsense.^{5,32} Cerca de 20% a 35% dos hemofílicos graves, obviamente por serem mais expostos a estes antígenos, produzem inibidores. Em uma série, 25% com hemofilia A e 3 a 5 % hemofilia B eram grave, formaram anticorpos seguindo a exposição ao concentrado de fator.^{14,63}

Estudos utilizando Fator VIII recombinante demonstraram que 60% dos pacientes desenvolveram inibidor de alto título. O Registro Nacional de Coagulopatias, de 2000, publicou que no Brasil 11,6% dos hemofílicos A e B possuíam inibidores.²⁶ Uma taxa semelhante de 11,8 % foi encontrada para os participantes desta pesquisa, no entanto não foi possível estabelecer maior risco para o desenvolvimento de inibidores conforme maior gravidade ou não da hemofilia, o valor maior nos hemofílicos graves, com intervalo de confiança (-95%) não mostra valores acima de 1. p.ex: 0,30 para hemofilia moderada e 0,16 para hemofilia grave como observado na tabela 3 e a maioria era inibidor de baixa resposta ou baixo título (Figura 18).

Os inibidores são classificados como baixo título e alto título (≤ 5 UB ou > 5 UB respectivamente). Os de baixo título podem desaparecer gradativamente e não requerem tratamento. Os pacientes com alto título (resposta anamnésica) não respondem ao concentrado de fator e precisam de agentes para ultrapassem a seqüência habitual de ativação dos fatores coagulantes, por exemplo, o complexo protrombínico ativado (que ultrapassa a via do fator VIII) FEIBA® ou Fator VII recombinante (rFVII).^{64, 67}

O desenvolvimento de inibidor para o fator IX é menos freqüente, 1% a 3%, mas com pior resposta aos tratamentos, estes anticorpos estão mais associados à anafilaxia com o uso do próprio fator IX recombinante ou a desenvolver síndrome nefrótica com o tratamento de indução da imunotolerância (ITI). Nesta situação o Fator VII recombinante é uma opção.⁶⁷ Uma área de grande interesse é a prevenção de inibidores, alguns investigadores acreditam que, além do componente genético, o número de exposição ao fator exógeno e a espécie de substância terapêutica empregada (derivado de plasma humano, porcino ou recombinante) podem estar associados à formação dos anticorpos, principalmente nos primeiros anos de vida.¹⁹

Nos últimos 15 anos, as técnicas moleculares têm aprimorado a produção de fatores recombinantes alcançando um maior controle no desenvolvimento dos anticorpos. Estes novos produtos permitem instituir a profilaxia primária sistemática considerada a terapia ouro na prevenção de seqüelas.⁶⁹ O Brasil não conseguiu até o momento desenvolver um programa de profilaxia para seus hemofílicos sustentável economicamente, o próprio tratamento por demanda (liberação de fator para o tratamento de cada processo hemorrágico) não tem o alcance necessário.

Quanto ao tipo de substância referindo-se ao teor do fator específico contida no liofilizado, pesquisadores atribuem ao grau de pureza dos fatores o surgimento de aloanticorpos contra os fatores VIII:C ou IX:C, principalmente os denominados de alta pureza. O grau de pureza denota a quantidade de moléculas do fator presente, expressa em unidades por miligrama, categorizado como de baixa pureza, pureza intermediária e alta pureza.⁷⁰

Objetivando também minimizar os riscos à exposição freqüente dos liofilizados de fator VIII ou IX alternativas terapêuticas para os sangramentos de pequena monta ou procedimento cirúrgicos menores podem ser realizadas através de medidas específicas como: crioterapia, compressão local, emprego de trombina tópica ou de agentes anti-fibrinolíticos (ácido trenaxâmico ou aminocapróico).^{71,72}

A terapia gênica em andamento é promessa de uma melhor qualidade de vida a estes indivíduos, muito embora, não possa determinar se a cura será definitiva ou se os problemas com inibidores serão resolvidos.

Apesar dos avanços ocorridos nos últimos anos desde a descoberta do HIV, até as terapias recombinantes, os pacientes portadores de hemofilia continuam a apresentar estatística preocupante em relação às infecções hemotransmissíveis.

A Organização Mundial de Saúde estima que 170 milhões de pessoas estejam infectados com o vírus da hepatite C, uma prevalência de 3%. Existe grande variação entre os países na percentagem dos indivíduos acometidos com HIV e hepatite C. Na Índia a soro-positividade para o HIV variou de 4,4% a 12%.⁷³

A despeito dos testes sorológicos pré-transfusionais e o tratamento de inativação viral dos concentrados de fator, a transmissão do HBV não foi eliminada, aproximadamente 3 a 5% dos hemofílicos no Reino Unido são HBsAg positivos.⁷⁴

A Federação Mundial de Hemofilia (WFH) em 2003 registrou 8% dos hemofílicos com HIV e 36% com HCV. Em 2004, eram portadores do HCV 21% e do HIV 5% para uma população total de hemofílicos de 120.812.²³ Os números sintetizados dos marcadores sorológicos para os hemofílicos nesta pesquisa indicam um índice de 1,8% para os portadores de HIV. A incidência inferior deve ser secundária ao uso exclusivo de fator liofilizado nos últimos 10 anos, conforme determina a legislação brasileira, mais seguros em relação ao hemocomponentes e a predominância de hemofílicos moderados que se expuseram as quantidades menores destes produtos.

É elevada a positividade para a hepatite C 34%, se comparada com o referido pela Federação Mundial de Hemofilia. Não se detectou hemofílicos reagentes aos testes de triagem para sífilis, doença de Chagas ou vírus HTLV I e II.

O vírus para hepatite B é 100 vezes mais infectante do que o vírus HIV, acredita-se que 0,0004 ml de sangue infectado pelo HBV seja o suficiente para transmissão da infecção em pessoas susceptíveis.⁷⁵ O Brasil é considerado um país de endemia intermédia (2 a 8%), a região de Santa Catarina tem, no entanto, uma das mais altas prevalências com 10,2% de anti-HBc e 1,01 % de HBsAg reagentes.⁷⁶

Encontrou-se uma taxa ainda mais elevada para o grupo de hemofílicos residentes neste Estado, confirmando o alto risco para hepatite B com 46 casos de anti-HBc diagnosticados entre a população hemofílica.

A reatividade passiva ou ativa e isolada para o anti-HBs, considerado o marcador de imunoproteção para o HBV, foi positiva para 72 hemofílicos (Tabela 4). Como portadores crônicos, com o HBsAg reagente, foram identificados dois hemofílicos.

Haviam recebido a vacina anti-hepatite B 95 indivíduos dos quais 56,8% eram hemofílicos A e 58,1 % eram hemofílicos B (Figura 19). A efetividade da vacina foi considerada boa, com uma taxa de soro conversão do anti-HBs de 76,5%. Esta análise foi determinada pelo número total de hemofílicos vacinados anti-Hbc não reagentes e com anti-HBs reagente (62) divididos pelo número total dos hemofílicos vacinados anti-HBc não reagentes (81).

Os hemofílicos não vacinados eram, portanto 66, o que correspondeu a 41% da população total. É importante interrogar quais destes eram anti-HBc não reagentes e que não estavam ainda imunoprotetidos, e quais, a despeito da vacinação, não soroconverteram o anti-HBs. O resultado

encontrado foi um total de 30 hemofílicos (18,6%) não protegidos, com anti-HBs indeterminado ou não reagentes, e que deveriam receber a vacina específica para o vírus B, como reforço (*booster*) ou com o esquema completo de acordo com as orientações do Programa Nacional de Imunização.³¹

Entre aqueles que foram vacinados, 10,8 % tiveram o anti-HBc reagente. Não é possível estabelecer se foram expostos ao vírus B previamente à imunização, ou se não houve cobertura vacinal suficiente para impedir uma contaminação posterior.

Todos os pacientes com anti-Hbs e anti-Hbc não reativos foram orientados a realizarem vacinação contra o vírus HBV na unidade sanitária mais próxima de sua residência.

A imunização contra o HBV é um marco importante para a redução significativa da hepatite B. A produção nacional de vacinas recombinantes como a Butang® do Instituto Butantan vem contribuindo para reduzir os custos com o programa de imunização e permitir a extensão da profilaxia a toda população, não apenas aos menores de 19 anos ou aqueles com risco acrescido, com direito aos imunobiológicos, incluindo os hemofílicos (Ministério da Saúde, Programa Nacional de Hepatites Virais).⁷⁷

A pesquisa de anti-Hbs quantitativa deve ser rotineira em pessoas mais susceptíveis para investigar o nível protetor da vacina aceita como igual ou maior a 10 UI/ml. Este grau é estabelecido através da resposta individual, da redução dos níveis de anti-Hbs e de erros na sua determinação quantitativa. O anticorpo Anti-Hbs é detectado na fase aguda e nos portadores crônicos, é importante ser mencionado a existência das variantes mutantes do vírus da hepatite B que podem não produzir o antígeno de superfície S e com isso, o teste anti-HBs torna-se não reativo, apesar da infecção presente.⁷⁸

A hepatite C tem uma significativa expressão entre os pacientes que receberam transfusão de sangue o que não é diferente para a população hemofílica. Para dimensionar esta diferença toma-se como exemplo a prevalência de 0,34 % para o vírus C entre doadores de sangue em Santa Catarina publicado no ano de 2003, referindo-se ao ano de 2001, a qual já se considerava elevada.⁷⁶

Dos 161 hemofílicos, a pesquisa de anti-HCV foi positiva em 56 indivíduos, o anti-HCV indeterminado ocorreu em 4 hemofílicos. Todos estes resultados motivaram a realização dos seguintes testes: o confirmatório para o anticorpo (imunoblot RIBA 3.0) e o teste complementar

para o antígeno RNA viral por PCR o que resultou em 55 hemofílicos infectados pelo vírus C como assinala o fluxograma da figura 20. O marcador anti-HCV foi não reagente em 101 das amostras analisadas.

O risco de mortalidade para doença hepática em pessoa com hemofilia é 16,7 % maior do que para a população geral. A descompensação hepática 20 anos após a primeira exposição ao fator de coagulação é elevada (390 por 1000 pessoas/ano). Com a introdução da terapia anti-retroviral a sobrevida dos hemofílicos infectados com HIV mais HCV é melhor do que a dos HIV mais HCV sem tratamento. A presença do HIV é o mais importante fator preditivo do estágio final de doença hepática em hemofílicos com HCV com risco três vezes maior do que a população em geral.⁷⁹

A co-infecção para hepatite B e C aumenta o risco de complicações hepáticas para os hemofílicos, principalmente cirrose e neoplasias. A figura 21 refere-se a presença de duas ou mais infecções virais concomitantes na população estudada. Foi observada que a soro positividade simultânea para os vírus da hepatite B e C ocorreu em 30 (18,63%) dos hemofílicos, a co-infecção para HIV, HCV e HBV foi detectada em apenas um indivíduo.

Todos os sujeitos submetidos à pesquisa e com marcadores positivos para a hepatite B e C foram encaminhados para acompanhamento adequado. Os pacientes portadores do vírus HIV já estavam em tratamento e controle clínico regulares.

A relevância desta pesquisa estendeu-se além do caráter técnico científico para a aproximação da atividade médica à realidade dos hemofílicos, possibilitando disseminar o conhecimento a respeito da doença, favorecendo o diagnóstico precoce e o aconselhamento genético.

Constatou-se a necessidade de um programa mais efetivo no controle clínico epidemiológico e laboratorial dos hemofílicos no Estado de Santa Catarina e de novas estratégias a fim de contribuir com a melhor distribuição dos fatores liofilizados e conseqüentemente propiciar uma qualidade de vida condigna aos seus portadores.

6. CONCLUSÕES

1. A grande maioria dos hemofílicos do Estado de Santa Catarina tem déficit moderado de atividade anticoagulante dos fatores VIII e IX.
2. O entendimento sobre a transmissão genética é considerado bom.
3. A artropatia crônica é freqüente e a articulação de joelhos é a mais comprometida. A prevalência da infecção pelo vírus HCV é elevada e os inibidores de baixa resposta são os mais comuns.
4. A maioria dos Hemofílicos está imunizada contra hepatite B.

NORMAS ADOTADAS

Ficha catalográfica (descritores)

BIREME – Centro Latino-Americano e do Caribe de Informações em Ciências da Saúde, descritores em ciências da saúde, www.bireme.br/decs acessado em 6/02/2006.

Relatório:

Normas para elaboração de dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Mestrado em Ciências Médicas Florianópolis -SC, 2001

Referências:

Normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver).
International Committee of Medical Journal Editors, Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Inter Med* 1997; 126: 36-47.

REFERÊNCIAS

1. A História da Hemofilia. <http://www.hemophilia.npg.ig.com> último acesso 12 de janeiro de 2006.
2. Ingram GIC. The history of haemophilia. *J Clin Path.*1976; 29:469-79.
3. Mannucci PM, Tuddenham EGD. The Hemophilias - From royal Genes to Gene Therapy. *N Engl J Med*, 2001; 344(23): 1773-79.
4. Bick RL. Hereditary Coagulation Protein Defects in Disorders of Thrombosis and Hemostasis. 3^a ed. Lippincott, W.W. 2002:121-124.
5. Graw J, Brackmann HH, Oldenburg J, Schneppenheim R, Spannagl M, Schwaab R. Haemophilia A: from mutation analysis to new therapies. *Nat Rev Genet.*2005; 6(6):488-501.
6. Kitchens CS. Dealing with Acquired Hemophilia. *Blood.*2004; 103(12):4375.
7. Rizza CR, Spooner JD, Giangrande PLF Treatment of haemophilia in the United Kingdom 1981-1996. *Haemophilia Centre Doctor's Organization (UKCDO). Haemophilia* 2001; 7: 349-359.
8. Bolton-Maggs PHB, Pasi KJ. Haemophilias A and B. *Lancet* 2003; 361: 1801-9.
9. Manucci PM, Tuddenham EGD. The Hemophiliac: Progress and Problem. *Semin Hematol* 1999;36 (4):104-17.
10. Cohen AJ, Dessler CH. Hemophilia A and B. in Kitchens CS, Alving BM, Kessler CM. *Consultative Hemostasis and Thrombosis.*1ed Philadelphia: WB Saunders Company 2002; 43-56.
11. Hoffman M, Monroe DM. A Cell-based Model of Hemostasis. *Throm Haemost* 2001; 85:958-65.
12. Butenas S, Mann KG. Blood Coagulation. *Biochemistry* 2002;67 (1):3-12.

13. Bates SM, Weitz JI. Coagulation Assays. *Circulation* 2005;112: e53-e60.
14. Kasper CK. Principles of Clotting Factor Therapy in Hemophilia. 2002;1-16.
15. Isarangkura P. Haemophilia Care in the Developing World: Benchmarking for Excellence. *Haemophilia* 2002; 8, 205-10.
16. Soucie JM, Nuss R, et al. Mortality among Males with Hemophilia: Relations with Source of Medical Care. *Blood* 2000; 96:437- 442.
17. Rabkin CS, Hilgartener KW, Aledort LM, Hatzakis A, Eichinger S, Eyster ME, et al. Incidence Cancer in HIV- infect and HIV-uninfected Patients with Hemophilia. *JAMA* 1992; 267: 1090-4.
18. Hedner U, Ginsburg D, Lusher JM, High KA. Congenital Hemorrhagic Disorders: New Insights into the Pathophysiology and Treatment of Hemophilia. *Hematology (Am Soc. Hematol Educ Program)* 2000;(1) : 241-65.
19. Saint-Remy JMR, Lacorix-Dexmazes S, Oldernbur J. Inhibitors in Haemophilia: Pathophysiology. *Haemophilia* 2004;10 (4):146-51.
20. Sahud, MD. Laboratory Diagnosis of Inhibitors. *Semin Thromb Hemost* 2000;26 (2):195-203.
21. Rodriguez-Merchan EC, Heim M. Hemophilia Orthopedic Management with Emphasis on Developing Countries. *Semin Thromb Hemost* 2005;31(5):518-26.
22. Evatt BL. Demographics of Hemophilia in Developing Countries. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31(5):489-94.
23. Federation Intenation Haemophilia. Report on the Global Survey 2004 www.wfh.org, acesso 04 de fevereiro 2006.
24. Antunes SV. Haemophilia in the Developing World: the Brazilian Experience. *Haemophilia* 2002; 8: 199–204.

25. Brasil, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística **IBGE** www.datasus.gov.br , último acesso 27 janeiro de 2006.
26. Antunes SV, Murao M, Oliveira MHC, Vasconcelos RA, Gomes VMB, Pinto MCM, Almeida JOS. Relatório Estatístico do Cadastro de Coagulopatias Hereditárias. Ministério da Saúde 2000.
27. Lourenço DM. Avaliação Laboratorial da Hemostasia in Zago, MA, Falcão RP; Pasquini R. Hematologia: Fundamentos e Prática. São Paulo. Atheneu; 2004; 749-55
28. White GC, Rosendaal F, Aledort LM, Lusher JM, Rothschild C, Ingerslev. Scientific and Standardization Committee. *Communication: Definitions in Hemophilia: Subcommittee on Factor VIII and factor IX of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis – ISTH.* [Thromb Haemost.](#) 2001; 85(3):560.
29. Sahud MD. Coagulation Tests in Differential Diagnosis. Clin Lab Haem 2000; 22(1):2-8.
30. Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Sangue, Outros Tecidos e Órgãos - Resolução de Colegiado, ANVISA, Ministério da Saúde, RDC 153, 13 de dezembro de 2004.
31. Brasil, Ministério da Saúde, Portaria nº597, de 8 de abril de 2004, publicada no DOU de 18 de abril de 2004, que versa sobre as normas sobre o Programa Nacional de Imunizações e a instituição, em todo território nacional os calendários de vacinação.
32. Bowen, DJ. Haemophilia A and haemophilia B: molecular insights. Br Med J 2002; 55(1):1-18.
33. Kasper CK. The Hemophilia Bulletin. 2005; Fev 1.
34. Manno, CS. Management of Bleeding Disorders in Children. Hematology 2005; 416-21.

35. T.W. Barrowcliffe. Monitoring Haemophilia Severity and Treatment: New or Old Laboratory Tests? *Haemophilia* 2004;10 Suppl 4:109-14.
36. Yuste UJ, Villas A, Quintana M, Gago J, Navarro. Estadarización de la Titulación de FVIII: C. *Haematologica* 2002; 87suppl 1:157-61.
37. T.W. Barrowcliffe. Standardization FVIII & assays. *Hemophilia* 2003; 9: 397-402.
38. F. E. Preston, S.Kitchen, I. Jennings, T. A. L. Woods and M. Makris. SSC/ISTH Classification of Hemophilia Center Laboratories Achieve the New Criteria? *J of Thromb and Haemost* 2004; 2: 271-4.
39. Shapiro AD, Korth – Bradley J, Poon MC. Use of Pharmacokinetics in the Coagulation Factor Treatment of Patients with Haemophilia. *Haemophilia* 2005; 11:571-82.
40. Srivastava A. Dose and Response in Haemophilia-Optimization of Factor Replacement Therapy. *Br J Haematol.* 2004; 127:12-25.
41. Thompson AR, Johnson M, Fujimura FK. Hemophilia A www.geneclinics.org Gene Reviews. último acesso 20 de dezembro de 2005.
42. Peyvandi F. Carrier Detection and Prenatal diagnosis of Hemophilia in Developing Countries. *Semin Thromb Hemost.* 2005; 31(5): 545-54.
43. Chalmers EA. Haemophilia and the Newborn. *Blood Rev.*2004; 18: 85-92.
44. Jacquemin M, De Maeyer M, D'Oiron R, Lavend'Homme, Peerlinck K, Saint-Remy JM. Molecular Mechanisms of Mild and Moderate Hemophilia A. *J Thromb Haemost.* 2003; 1: 1456-63.
45. Kasper C. Hereditary Plasma Clotting Factor disorders and Their Management. *Haemophilia.* 2000; 6: 13-27.
46. Federici AB, Castaman G, Mannucci PM. For The Italian Association of Hemophilia Centers. Guidelines for the Diagnosis and Management of von Willebrand Disease in Italy. *Haemophilia* 2002; 8:607-21.

47. Bolton-Maggs PH, Perry DJ, Chalmers EA, Parapia LA, Wilde JT, Williams MD, Collins PW, Kitchen S, Dolan G, Mumford AD. The Rare Coagulation Disorders- Review with Guidelines for Management From the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia* 2004; 10:593-628.
48. Peyvandi F, Duga S, Akhavan S, Mannucci PM. Rare Coagulation Deficiencies. *Haemophilia* 2002; 8:308-321.
49. Thompson AR, Johnson M, Fujimura FK. Hemophilia B. www.geneclinics.org última consulta 17 de dezembro de 2005.
50. Ljung RCR, Sjörin E. Origin of Mutation in Sporadic Cases of Haemophilia A. *Br J Haematol.* 1999; 106:870-74.
51. Oldenburg J, Schwaab R. Molecular Biology of Blood Coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27:313-24.
52. Roberts, Harold, Monroe DM, White GC. The Use of Recombinant Factor VIIa in the Treatment of Bleeding Disorder. *Blood* 2004; 109(13):3858-64.
53. Mannucci Pm. Hemophilia and Related Bleeding Disorders: A Story of Dismay and Success. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2002; 1-9.
54. WHO. Internacional Classification of Functioning Disability and Health (ICF) Disponível em: <http://www.who.int/icidh/último> Acesso 15 de Fevereiro de 2006.
55. Poonnoose PM, Manigandan C, Thomas R, Shyamkumar NK, Kavitha ML, Srivastava A. Funcional Independence Score in Haemophilia: a New Performace-based Instrument to Measure Disability. *Haemophilia* 2005; 11:598-602.
56. Dolan G.ESOS: a European Study on Orthopaedic Status of Patients with Haemophilia and Inhibitors. *Hemophilia* 2005; 11(1):24-25.

57. Manco-Johnson MJ, Riske V, Kasper CK. Advances in Care of Children with Hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29(6):585-93.
58. Hilgartner MW. Current Treatment of Hemophilic Arthropathy. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14:46-49.
59. Manco-Johnson MJ, Nuss R, Funk S, Murphy J. Joint Evaluation Instruments for Children and Adults with Haemophilia. *Haemophilia* 2000; 6:649-57.
60. Rodriguez-Merchan EC, Management of Musculoskeletal Complications of Hemophilia. *Semin Thromb Hemost*. 2003; 29(1):87-95.
61. Key NS. Inhibitors in Congenital Coagulation Disorders. *BJH Rev* 2004; 127:379-91.
62. Klinge J, Ananyeva NM, Hauser CA, Saenko EL. Hemophilia A - From Basic Science to Clinical Practice. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28:309-22.
63. Paisley S, Wight J, Currie E, Knight C. The Management of Inhibitors in Haemophilia A: Introduction and Systematic Review of Current Practice. *Haemophilia* 2003; 9:405-17.
64. Scandella DH. Properties of Anti Factor VIII, inhibitor Antibodies in Hemophilia A patients. *Sem.Throm.Hemost*. 2000; 26(2):137-42.
65. Turecek PL, Váradi K, Gritsch H, Schwarz HP. FEIBA: Mode of Action. *Hemophilia* 2004; 10(2):3-9.
66. White GC, Kempton CL, Grimsley A, Nielsen B, Roberts HR. Cellular Immune Responses in Hemophilia: Why do Inhibitors Develop in Some, but not all Hemophiliacs? *J Thromb Haem* 2005; 3:1676-81.
67. Veldman A, Hoffman M, Ehrenforth S. New Insights into the Coagulation System and Implications for New Therapeutic Options With Recombinant Factor VIIa. *Curr Med Chemist* 2003; 10:797-811.
68. Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F. Recessively Inherited Coagulation Disorders. *Blood* 2004; 104(5):1243-52.

69. Ljung R. Paediatric Care of the Child with Haemophilia. *Haemophilia* 2002; 8:178-82.
70. Tavares RS, Barbosa AP, Teles SA, Carneiro MAS, Lopes CLR, Silva SA, et al. Infecção pelo Vírus da Hepatite B em Hemofílicos em Goiás: Soro-Prevalência, Fatores de Risco Associados e Resposta Vacinal. *Rev Bras Hemoter* 2004;26(3):183-88.
71. Mannucci PM. Haemostatic drugs. *N Eng J Med*. 1998; 339: 245-53.
72. Rick EM, Walsh CE, Key NS. Congenital Bleeding Disorders *Hematology* 2003; 1: 559-71.
73. Yee TT, Lee CA. Transfusion Transmitted Infection in Hemophilia in Developing Countries. *Semin Thromb Hemost*. 2005; 31(5):527-37.
74. Makris M, Baglin T, Dusheiki G, Ginagrande PLF, Lee CA, Ludlam, et al. Guidelines on the Diagnosis, Management and Prevention of Hepatitis in Haemophilia. *Haemophilia* 2001; 7: 339-45.
75. Koziol DE, Henderson DK. Risk analysis and occupational exposure to HIV and HBV. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 1993, 6: 506-510.
76. Rosini N, Mousse D, Spada C, Treitinger A. Soroprevalence of HbsAg, anti-HBc and anti-HCV in Southern Brazil, 1999-2001. *Braz J Infect Dis*. 2003; 7:262-67.
77. Brasil, Ministério da Saúde, Programa Nacional de Hepatites Virais. <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/hepatite> último acesso 30 de janeiro de 2006.
78. Relatório de Consenso. Problemas Diagnósticos Causadas por Mutantes HbsAg – Encontro de Especialistas. *Intervirolgy* 2004; 47:310-1.
79. Rumi MG, Filippi F, Santagostinho E and Colombo M. Hepatitis C in Haemophilia: Lights and Shadows. *Haemophilia* 2004; 10(4):211-15.

APÊNDICE 1
CONSENTIMENTO INFORMADO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
SERVIÇO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
HEMOFILIA EM SANTA CATARINA – ESTUDO CLÍNICO

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMATIVO

Fui informado(a) que o projeto de pesquisa intitulado “HEMOFILIA EM SANTA CATARINA – ESTUDO CLÍNICO” tem por objetivo coletar e armazenar informações sobre os pacientes portadores de Hemofilia A ou B, com o intuito de promover e melhorar o conhecimento sobre esta doença e seu tratamento.

Para tanto me foi esclarecido que:

1. Informações médicas, que incluem diagnósticos e resposta ao tratamento, a meu respeito serão enviadas periodicamente à sede do projeto por meu médico assistente.
2. A sede do projeto será no Hospital Universitário da UFSC - Florianópolis – SC.
3. Não receberei benefícios diretos e imediatos pela minha participação ou de meu filho(a) no programa tendo como único compromisso a autorização para revisão de registros médicos e o fornecimento das informações para o projeto.

Estou ciente também de que minha participação é voluntária e que poderei a qualquer momento desistir de continuar no programa sem prejuízo do atendimento que eu ou meu filho(a) já recebemos. Igualmente me foi garantido total sigilo sobre minha identificação ou a de meu (minha) filho(a).

Concordo, baseado nas informações acima descritas e que me foram claramente expostas, que eu ou meu filho(a) participe deste projeto.

Nome do paciente: _____

Nome do pai ou responsável: _____

_____, _____ de _____ de _____

HEMOFILIA EM SANTA CATARINA – ESTUDO CLÍNICO
SERVIÇO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO – UFSC CAMPUS UNIVERSITÁRIO – TRINDADE –
FLORIANÓPOLIS – SC
CEP 88049-702 – FAX: (0XX48) 3319114 / 234-3014
E-MAIL: hoepers@hu.ufsc.br

APÊNDICE 2
FORMULÁRIO DE PESQUISA

ESTUDO DA HEMOFILIA EM SANTA CATARINA

Ingresso de Paciente

Formulário 1

Data: ____/____/____

Nome: _____
Código: _____ nº prontuário _____ Instituição: _____
Data de nascimento: ____/____/____ Médico: _____
Filiação: _____
CPF: _____
Endereço Completo: _____
Cidade: _____ Estado: _____
CEP: _____ Telefone: _____

Diagnóstico: Hemofilia A Hemofilia B

Classificação clínica: leve moderada grave

Data do diagnóstico: ____/____/____

Dosagem de fator: Fator VIII ____ (U/dl) Fator IX ____ (U/dl)

Dosagem inibidor: ____ (UB) data ____/____/____

Hemofilia B= extração DNA nº amostra ____ data ____/____/____

Apresentação clínica: Observações

Hemorragia de repetição S N local _____

Alterações ósseas S N local _____

Incapacidade funcional para o trabalho S N

Articulações comprometidas

1 2 3 4 5 6 mais

Intervalo média para tratamento com fator liofilizado, em dias:

7 15 30 60 120 180 270 365 mais 365 nunca usou

Entendimento sobre Transmissão genética

- 1) Sabe que a hemofilia é uma doença genética? S N
- 2) Sabe que um dos seus descendentes poderão ser afetados? S N
- 3) Quem? meninos portador hemofílico normal
- meninas portador hemofílico normal
- netos portador hemofílico normal

Avaliações laboratoriais: (data ___/___/___):

HIV I e II: 1ª= 2ª=

HTLV I e II

HEPATITE B anti-HBc Anti-HBs HbsAg

HEPATITE C

VDRL

CHAGAS

1= reagente 2 = não reagente 3 = próximo ao cut-off

Imunização anti Hepatite B:

S N

Data da 1ª dose: ___/___/___ 2ª dose: ___/___/___ 3ª dose: ___/___/___

Data reforço ___/___/___

APÊNDICE 3

LISTA DOS MARCADORES, TÉCNICA E *KITS* PARA OS ESTUDOS SOROLÓGICOS

Lista dos marcadores, técnica e kits comerciais utilizados no estudo para determinação do perfil sorológico dos hemofílicos A ou B.

MARCADORES	TÉCNICA	FABRICANTE®
Anti-HBc	EIA 3ª geração	OrthoDiagnostics Systems
Anti-HBs	EIA 3ª geração	Biomeriuex
HBsAg	EIA 3ª geração	Biomerieux
Anti-HCV	EIA 3ª geração	Murex Abbott
Anti-HCV	Immunoblot SIA/RIBA	CHIRON
Antígeno HCV	PCR	Amplicor – Roche
Anti-HTLV I e II	EIA 3ª geração	Murex Abbott
HIV I e II Ag/Ac	EIA Ag/Ac 4ª geração	Biomerieux
Anti-HIV I, II e O	EIA 3ª geração	Ortho Diagnostics Systems
Anti-HIV confirmatório	Western Blot assay	Genelabs Diagnostics
Anticorpo não treponêmico-Sífilis	RPR antígeno reagente	Laborclin
FTAabs anticorpo treponêmico	imunofluorescência	WAMA
Anti- T cruzi	EIA 2ª geração	Bios Chile

EIA=enzyme immuno assay, imunoenzimático

PCR= reação cadeia polimerase

SIA = strip immunoblot assay RIBA HCV 3.0

EIA 4ª geração HIV ,teste imunoenzimático para a detecção dos anticorpo contra o vírus da imunodeficiência humana adquirida do tipo 1 e ou 2 (anti HVI 1, anti- HIV 1 grupo O anti –HIV 2 e antígeno HIV1.P24 muito sensível pouco específico

RPR rapid reagin plasmatic teste não treponêmico não precisa inativação, técnica de microfloculação derivado do venereal disease VDRL

HbsAg antígeno de superfície, anti-HBs anticorpo de superfície anticorpo core anti -HBc

Anti-HCV Anticorpo anti vírus Hepatite C

FTAabs- pesquisa de anticorpos treponêmicos específico

Ati T cruzi- anti-Tripanossoma cruzi.

APÊNDICE 4

QUADRO COM OS RESULTADOS DOS ESTUDOS DE COAGULAÇÃO

TTPa	TTPa		TAP	FATOR VIII	FATOR IX	INIBIDOR
T/seg	T/seg	D/N	D/N	% atividade	% atividade	U Bethesda
1	57.00	2.25	0.95	118.71	7.06	0.00
2	55.10	2.18	0.98	4.16	87.11	0.00
3	46.30	3.28	0.93	0.90	82.80	0.00
4	86.50	3.07	0.95	4.96	113.44	0.00
5	49.20	1.74	1.13	9.81	57.13	0.00
6	50.10	1.78	1.22	11.89	83.63	0.00
7	66.40	2.35	0.98	3.50	131.03	0.00
8	60.20	2.13	1.04	6.34	55.88	0.00
9	50.40	1.79	0.94	18.13	63.00	0.00
10	46.20	1.64	1.09	13.16	74.67	0.00
11	45.90	1.63	1.02	15.06	907.30	0.00
12	128.00	4.54	0.93	2.59	82.81	0.00
13	80.70	2.86	1.02	112.36	3.36	0.00
14	52.50	1.86	0.98	5.59	83.01	0.00
15	59.00	2.09	1.05	104.96	4.04	0.00
16	89.20	3.16	1.04	65.80	3.07	0.00
17	112.70	4.00	1.04	2.79	85.00	0.00
18	93.60	3.32	0.91	126.42	3.11	0.00
19	83.80	2.97	1.01	2.78	92.81	0.00
20	66.00	2.34	1.02	2.34	91.53	0.00
21	100.70	3.57	1.06	3.11	112.41	1.70
22	90.40	3.21	1.16	2.85	128.00	0.00
23	68,7	2.44	0,98	3,63	157,85	0,00
24	79.30	2.81	1.02	3.48	126.40	0.00
25	53,3	1,93	0,94	11,04	107,82	0,00
26	101.50	3.60	1.07	3.77	92.35	0.00
27	64.70	2.29	0.97	4.68	148.59	0.00
28	61.50	2.38	1.05	1.26	107.82	0.00
29	94.60	3.35	0.95	6.56	107.26	0.00
30	80.20	2.84	0.90	3.00	113.44	0.00
31	81.60	2.89	1.06	5.50	86.61	0.00
32	85.20	2.84	1.16	5.85	103.00	0.00
33	81.70	2.90	1.05	4.01	99.80	0.00
34	80.10	2.70	1.19	1.00	84.14	0.00
35	86.30	3.06	0.92	3.84	100.70	6.00
36	110.90	3.93	1.04	3.52	89.93	0.00
37	80.10	2.84	1.03	2.89	137.53	0.00
38	122.90	4.36	0.90	2.31	75.49	0.00
39	91.50	3.20	1.01	1.50	147.60	0.00
40	99.10	3.51	0.97	2.69	81.79	0.00
41	95.60	3.39	0.96	2.60	108.24	0.00
42	75.50	2.68	0.91	3.22	141.11	0.00
43	57.10	2.26	1.08	4.04	113.37	0.00
44	51.00	2.02	0.92	3.63	51.76	30.40

	TTPa		TAP	FATOR VIII	FATOR IX	INIBIDOR
	T/seg	D/N	D/N	% atividade	% atividade	U Bethesda
45	54.50	2.15	1.03	5.00	75.33	0.00
46	52.40	2.07	0.92	4.80	93.14	0.00
47	52.30	2.07	0.98	4.19	94.44	0.00
48	72.80	2.58	0.99	3.22	113.48	0.00
49	52.30	2.07	0.92	4.54	105.61	0.00
50	46.20	1.83	0.95	6.33	9.25	0.00
51	72.90	2.88	1.03	126.46	4.67	0.00
52	47.60	1.88	0.88	5.58	98.27	0.00
53	52.20	2.06	0.95	4.43	92.77	0.00
54	55.30	2.19	0.94	4.61	127.69	0.00
55	50.53	2.00	0.91	4.29	105.83	0.00
56	42.50	1.92	0.94	5.37	122.78	0.00
57	62.80	2.48	0.92	4.44	83.29	0.00
58	59.40	2.35	1.01	4.03	115.93	0.00
59	50.50	2.00	1.04	4.82	90.60	0.00
60	54.30	2.15	0.98	4.61	73.48	0.00
61	56.30	2.23	1.07	4.24	82.97	0.00
62	53.10	2.10	1.00	4.97	63.40	0.00
63	73.50	2.61	0.98	2.01	98.86	1.30
64	72.90	2.88	1.06	3.55	64.84	0.00
65	50.20	1.98	0.97	4.13	97.88	0.00
66	49.90	1.97	0.92	4.61	74.33	0.00
67	61.60	2.64	1.04	1.94	63.64	0.00
68	82.00	2.91	0.95	2.90	123.74	0.00
69	119.30	4.23	1.05	2.72	64.06	4.40
70	102.30	3.63	1.01	2.58	79.98	1.40
71	83.50	2.96	0.96	2.83	116.91	0.00
72	57.40	2.04	0.88	2.09	54.60	0.00
73	99.80	3.54	0.98	2.44	76.42	0.00
74	83.30	3.00	0.90	2.80	74.80	0.00
75	103.40	3.67	1.01	3.33	48.41	0.00
76	90.10	3.20	0.92	1.37	84.42	0.00
77	74.80	2.65	0.93	3.38	71.97	4.00
78	84.40	2.99	0.89	1.13	69.43	17.60
79	64.20	2.28	0.98	2.54	78.57	1.00
80	48.70	1.73	0.94	51.46	24.63	0.00
81	96.70	3.43	0.84	124.29	10.11	0.00
82	84.30	2.99	0.97	2.07	119.74	0.00
83	104.70	3.71	1.01	1.39	90.87	0.00
84	43.50	1.54	1.10	119.69	8.27	0.00
85	104.20	3.70	1.50	79.20	0.79	0.00
86	99.40	3.52	0.99	62.64	64.00	0.00
87	49.8	1.80	0.98	13.20	115.20	0.98
88	68.90	2.44	0.97	0.93	130.35	0.00

	TTPa		TAP	FATOR VIII	FATOR IX	INIBIDOR
	T/seg	D/N	D/N	% atividade	% atividade	U Bethesda
89	79,1	2,8	0.60	3.66	112.59	0.60
90	100.60	3.57	1.04	2.43	87.54	0.00
91	121.20	4.30	1.14	3.70	127.56	0.00
92	70.50	2.50	1.01	6.27	110.40	0.00
93	79.70	2.66	1.36	0.78	136.07	0.00
94	40.30	1.40	0.97	109.40	34.20	0.00
95	81.60	2.89	0.98	2.78	177.40	1.80
96	62.70	2.10	0.92	75.10	5.00	0.00
97	122.00	4.33	1.03	4.28	76.51	0.00
98	106.00	3.80	1.07	1.50	82.10	0.00
99	54.80	1.94	0.95	12.21	164.23	0.00
100	87.00	3.10	1.22	4.00	80.40	0.00
101	69.80	2.50	1.10	4.90	110.90	0.00
102	71.30	2.50	0.98	4.20	104.40	0.00
103	76.00	2.70	0.99	3.70	82.80	0.00
104	73.20	4.30	1.18	4.30	92.22	0.00
105	68.90	2.40	0.90	2.70	164.40	0.00
106	86.40	3.10	1.01	2.00	114.90	0.00
107	84.50	3.00	1.06	1.30	59.20	0.00
108	87.10	3.10	1.11	111.46	2.24	0.00
109	55.70	1.98	1.09	3.80	60.00	0.00
110	60.20	2.13	1.12	2.64	68.50	0.00
111	78.05	2.80	1.01	2.00	170.00	8.80
112	53.60	1.90	1.03	193.50	12.00	0.00
113	107.70	3.80	1.06	2.61	66.68	0.00
114	101.70	3.32	1.01	0.39	136.04	1.00
115	49.90	1.80	1.01	11.50	127.56	0.00
116	65.40	2.30	1.07	2.72	128.60	0.00
117	61.50	2.18	1.13	2.16	144.50	0.00
118	63.30	2.24	0.98	131.60	12.60	0.00
119	132.10	4.68	0.93	1.30	89.54	0.00
120	120.40	4.27	0.99	1.80	62.62	0.00
121	51.50	1.80	1.01	9.40	113.30	0.00
122	71.70	2.50	1.15	4.00	97.44	0.00
123	71.00	2.50	1.06	118.16	11.40	0.00
124	55.70	2.00	0.99	183.80	14.92	0.00
125	85.20	3.02	0.94	3.16	132.62	0.00
126	77.60	2.80	1.09	1.40	99.57	0.00
127	48.10	1.70	1.14	14.50	128.32	0.00
128	52.90	1.90	1.07	3.90	57.00	0.70
129	96.80	3.30	0.92	2.94	89.00	0.00
130	65.10	2.31	0.86	3.22	175.93	0.00
131	70.40	2.50	1.12	2.00	80.20	0.00
132	66.90	2.40	1.03	8.70	135.60	0.00

	TTPa		TAP	FATOR VIII	FATOR IX	INIBIDOR
	T/seg	D/N	D/N	% atividade	% atividade	U Bethesda
133	59.40	2.10	1.00	6.90	136.30	0.00
134	573.00	2.03	1.01	4.61	104.70	0.00
135	50.00	1.80	0.99	12.00	122.70	0.00
136	48.90	1.70	1.01	11.50	149.10	0.00
137	75.10	2.70	0.97	4.90	128.10	0.00
138	58.90	2.09	0.85	2.23	76.17	0.00
139	114.90	3.75	1.16	0.65	54.03	12.80
140	68.80	2.40	0.99	6.20	111.80	0.00
141	78.10	2.77	1.01	1.59	65.62	28.80
142	60.80	2.10	0.94	156.54	2.60	0.00
143	57.20	2.00	1.02	2.30	158.80	0.00
144	49.20	1.74	0.87	4.40	185.88	0.00
145	104.80	3.70	0.95	1.70	164.80	0.00
146	76.10	2.70	1.27	5.42	103.67	0.60
147	44.50	1.60	0.84	9.30	195.60	0.00
148	77.50	2.80	0.87	5.50	157.20	0.00
149	79.50	2.80	0.94	1.70	159.50	0.00
150	76.10	2.70	1.10	2.80	51.00	0.80
151	87.90	3.10	1.05	77.30	2.80	0.00
152	82.10	2.90	1.29	3.60	65.20	0.00
153	73.80	2.60	1.15	2.40	59.50	0.00
154	76.20	2.70	1.29	1.97	26.90	0.00
155	60.80	2.20	1.15	0.70	59.30	0.00
156	70.00	2.50	1.07	2.00	74.50	0.00
157	55.40	2.00	1.13	6.10	45.60	0.00
158	54.10	1.80	0.91	94.00	4.65	0.00
159	93.60	3.06	1.20	0.98	101.00	0.00
160	37.40	1.25	0.95	17.10	113.35	0.00
161	85.00	3.00	0.98	128.20	0.34	0.00

APÊNDICE 5
DISTRIBUIÇÃO E PREVALÊNCIA DOS HEMOFÍLICOS
POR REGIÃO NO ESTADO DE SANTA CATARINA

CIDADE	REGIÃO	POPULAÇÃO TOTAL	HEMOF.	HEMOF.	Nº DE HEMOFÍLICOS	PREVALÊNCIA	PREVALÊNCIA	PREVALÊNCIA
			A	B		P 100.000 Hab. HEMOF. A	100.000 Hab. HEMOF. B	POR 100.000 Hab. TOTAL
FLORIANOPOLIS	Grande Fpolis	342.315	13	1	14	3,80	0,29	4,09
PALHOÇA	Grande Fpolis	102.742	11	0	11	10,71	0,00	10,71
SÃO JOSÉ	Grande Fpolis	173.559	2	1	3	1,15	0,58	1,73
SANTO A IMPER.	Grande Fpolis	15.708	0	2	2	0,00	12,73	12,73
TOTAL		634.324	26	4	30	4,10	0,63	4,73
TANGARÁ	Meio Oeste	8.754	3	0	3	34,27	0,00	34,27
CAÇADOR	Meio Oeste	63.322	1	0	1	1,58	0,00	1,58
VIDEIRA	Meio Oeste	41.589	0	1	1	0,00	2,40	2,40
FRAIBURGO	Meio Oeste	32.948	1	0	1	3,04	0,00	3,04
HERVAL D'OESTE	Meio Oeste	20.044	1	0	1	4,99	0,00	4,99
SANTA CECÍLIA	Meio Oeste	14.802	1	0	1	6,76	0,00	6,76
MONTE CARLO	Meio Oeste	8.579	1	0	1	11,66	0,00	11,66
ÁGUA DOCE	Meio Oeste	6.843	1	0	1	14,61	0,00	14,61
TOTAL		196.881	9	1	10	4,57	0,51	5,08
JOINVILLE	Norte	429.604	6	3	9	1,40	0,70	2,09
JARAGUA DO SUL	Norte	108.489	0	1	1	0,00	0,92	0,92
SÃO FRANC DO SUL	Norte	32.301	1	0	1	3,10	0,00	3,10
BARRA VELHA	Norte	15.530	1	0	1	6,44	0,00	6,44
TOTAL		585.924	8	4	12	1,37	0,68	2,05
CONCÓRDIA	Oeste	63.058	13	0	13	20,62	0,00	20,62
ITÁ	Oeste	6.764	5	0	5	73,92	0,00	73,92
CHAPECO	Oeste	146.967	2	1	3	1,36	0,68	2,04
ROMELÂNDIA	Oeste	6.491	4	0	4	61,62	0,00	61,62
XANXERÊ	Oeste	37.429	3	0	3	8,02	0,00	8,02
ITAPIRANGA	Oeste	13.998	3	0	3	21,43	0,00	21,43
PINHALZINHO	Oeste	12.356	2	1	3	16,19	8,09	24,28
XAXIM	Oeste	22.857	2	0	2	8,75	0,00	8,75
LINDÓIA DO SUL	Oeste	4.877	2	0	2	41,01	0,00	41,01
ARABUTÃ	Oeste	4.160	2	0	2	48,08	0,00	48,08
FAXINAL GUEDES	Oeste	10.767	0	1	1	0,00	9,29	9,29
IPUAÇU	Oeste	6.122	1	0	1	16,33	0,00	16,33
PASSOS MAIA	Oeste	4.763	1	0	1	21,00	0,00	21,00
JABORÁ	Oeste	4.194	1	0	1	23,84	0,00	23,84
PLANALTO ALEGRE	Oeste	2.452	0	1	1	0,00	40,78	40,78
JUPIÁ	Oeste	2.220	1	0	1	45,05	0,00	45,05
TOTAL		349.475	42	4	46	12,02	1,14	13,16
LAGES	Planalto Serrano	157.682	8	0	8	5,07	0,00	5,07
CAMPOS NOVOS	Planalto Serrano	28.729	3	0	3	10,44	0,00	10,44
SÃO JOAQUIM	Planalto Serrano	22.836	1	0	1	4,38	0,00	4,38
CORRÊA PINTO	Planalto Serrano	17.026	1	0	1	5,87	0,00	5,87
TOTAL		226.273	13	0	13	5,75	0,00	5,75
MAFRA	Planalto Norte	49.940	0	1	1	0,00	2,00	2,00
TRÊS BARRAS	Planalto Norte	17.124	1	0	1	5,84	0,00	5,84
TOTAL		67.064	1	1	2	1,49	1,49	2,98
CRICIUMA	Sul	170.420	6	2	8	3,52	1,17	4,69
SOMBRIO	Sul	22.962	2	1	3	8,71	4,36	13,07
IÇARA	Sul	48.634	2	0	2	4,11	0,00	4,11
LAURO MULLER	Sul	13.604	0	2	2	0,00	14,70	14,70
GAROPABA	Sul	13.164	2	0	2	15,19	0,00	15,19
TUBARÃO	Sul	88.470	1	0	1	1,13	0,00	1,13
ARARANGUÁ	Sul	54.706	1	0	1	1,83	0,00	1,83
LAGUNA	Sul	47.568	1	0	1	2,10	0,00	2,10
CAPIVARI DE BAIXO	Sul	18.561	1	0	1	5,39	0,00	5,39
JAGUARUNA	Sul	14.613	1	0	1	6,84	0,00	6,84
SIDERÓPOLIS	Sul	12.082	1	0	1	8,28	0,00	8,28
GRAVATAL	Sul	10.799	1	0	1	9,26	0,00	9,26
MELEIRO	Sul	7.080	0	1	1	0,00	14,12	14,12
TOTAL		522.663	19	6	25	3,64	1,15	4,78
BLUMENAU	Vale	261.808	7	0	7	2,67	0,00	2,67
ITAJAÍ	Vale	147.494	3	0	3	2,03	0,00	2,03
CAMBORIÚ	Vale	41.445	3	0	3	7,24	0,00	7,24
BRUSQUE	Vale	76.058	2	0	2	2,63	0,00	2,63
RIO DO SUL	Vale	51.650	1	0	1	1,94	0,00	1,94
INDAIAL	Vale	40.194	1	0	1	2,49	0,00	2,49
TIMBÓ	Vale	29.358	1	0	1	3,41	0,00	3,41
TIJUCAS	Vale	23.499	0	1	1	0,00	4,26	4,26
SÃO JOÃO BATISTA	Vale	14.861	0	1	1	0,00	6,73	6,73
NOVA TRENTO	Vale	9.852	1	0	1	10,15	0,00	10,15
VÍTOR MEIRELES	Vale	5.519	1	0	1	18,12	0,00	18,12
LEOBERTO LEAL	Vale	3.739	1	0	1	26,75	0,00	26,75
TOTAL		705.477	21	2	23	2,98	0,28	3,26
TOTAL GERAL		3.288.081	139	22	161	4,23	0,67	4,90

ANEXO I

PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

ANEXO 2

EXTRAÇÃO DO DNA DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Adicionar 300 ul de sangue total ou *Buffy Coat* em Eppendorff em 1,5 ml contendo 900 ml de *RBC Lysis Solution*, Inverter a mistura por 3’;
- Centrifugar por 20’’ a 14.000 rpm, remover o sobrenadante com pipeta, deixando resíduo de 10 a 20 ml;
- Agitar vigoramente o resíduo com auxílio do vórtex;
- Adicionar 300 ul de *Cell Lysis solution* e ressuspender com auxílio da pipeta;
- Adicionar 100ml de solução de precipitação de proteínas e agitar vigorosamente no vórtex por 20’’;
- Centrifugar a 14.000rpm por 1’;
- Retirar o sobrenadante e adicioná-lo a outro microtubo de 1,5ml contendo 300ml de álcool isopropílico absoluto, centrifugar a 14.000rpm por 1’;
- Dispensar o sobrenadante e inverter o tubo sobre o papel toalha;
- Adicionar 300ml de álcool etílico 70% e agitar no vórtex até desprender o DNA do tubo;
- Centrifugar a 14.000 rpm por 1’;
- Dispensar o sobrenadante e inverter o tubo sobre o papel toalha;
- Adicionar 100ml de solução e hidratação de DNA, agitar no vórtex por 5’;
- Incubar por 5’ em banho seco de 65°C;
- Agitar novamente no vórtex até o DNA diluir na solução hidratante;
- Deixar a amostra *over night* à temperatura ambiente.

