



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PLASMA HUMANO: COMPONENTES E DERIVADOS
CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA EM
AMBIENTE HOSPITALAR**

Trabalho submetido por
Gonçalo Cravo de Oliveira
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Mestre António Eduardo Carrasco Serrano

março de 2016

"Be curious always.

For knowledge will not acquire you,

You must acquire it."

Sudie Back

Agradecimentos

Este trabalho encerra uma longa e importante etapa da minha formação académica e profissional. Desta forma, gostaria de exprimir algumas palavras de gratidão a todos aqueles que contribuíram para a sua realização.

Começo por dar uma palavra de reconhecimento ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz e a todos os professores que contribuíram para a minha formação, com um agradecimento particular ao Professor António Eduardo Carrasco Serrano, que me orientou neste trabalho.

Um agradecimento especial à Dra. Sandra Isabel da Silva Queimado, do Hospital Amato Lusitano de Castelo Branco, por toda a disponibilidade e ajuda prestada. A sua dedicação e sede de conhecimento foram sem dúvida contagiantes.

A todas as pessoas que tive a oportunidade de conhecer, e cujos laços de amizade se reforçaram dia após dia, obrigado por terem tornado esta longa etapa, uma que vale apenas recordar.

À minha namorada, Joana, pela compreensão, carinho e encorajamento constante, um agradecimento muito especial por ter sido o apoio emocional de que eu precisei.

Por último, um muito obrigado à minha família. Nomeadamente aos meus pais, por me terem educado na pessoa que sou hoje, pela preocupação, incentivo e apoio incondicional, especialmente nas fases mais difíceis da minha vida; e aos meus avós, que terei sempre no meu coração, pela importância que tiveram na minha vida e por sempre terem desejado, acima de tudo e todos, o meu bem-estar.

Resumo

A medicina transfusional é um ramo muito importante da medicina de hoje, tendo evoluído de um serviço centrado principalmente no laboratório, tratando dos aspetos sorológicos do sangue, para uma disciplina clinicamente orientada, focalizada na assistência ao paciente.

O uso dos componentes do sangue varia de simples complicações obstétricas e anemia materna e infantil, a deficiências crónicas desses componentes, cirurgias cardiovasculares complexas, traumas ou sepsis, entre outras ocorrências fatais.

A presença de componentes do sangue na medicina de hoje é tão importante, que uma pequena escassez esporádica de sangue e seus componentes (por exemplo, concentrado de hemácias, produtos de plaquetas, albumina, imunoglobulina intravenosa, e concentrados de fatores de coagulação) são ocorrências potencialmente fatais.

O trabalho que aqui se apresenta centra-se no plasma humano, seus componentes e derivados, bem com na sua conservação e utilização terapêutica em ambiente hospitalar.

Faz-se a contextualização histórica da origem e desenvolvimento geral do plasma e seus derivados, bem como a apresentação do atual quadro legislativo em Portugal e na União Europeia.

Apresenta-se uma breve introdução de cada componente e das doenças relacionadas, tendo em conta a sua relevância clínica e uso.

Também se abordam os hemocomponentes, mas dando uma visão mais profunda dos produtos hemoderivados. São tratados alguns fatores recombinantes utilizados na hemofilia em Portugal e dá-se uma visão mais detalhada da doença.

Por fim, é feita uma descrição do processo industrial de fabrico de produtos hemoderivados.

Palavras-chave: sangue total, plasma humano, componentes e derivados.

Abstract

Transfusion medicine is a very important branch of today's medicine, having evolved from a mostly laboratory-centered service with a focus on the serological aspects of blood, into a clinically oriented discipline that emphasizes patient care.

The usage of blood components ranges from simple obstetric complications and maternal and infant anemia, to chronic deficiency of such components, complex cardiovascular surgery, trauma or sepsis, among other life-threatening occurrences.

The presence of blood components in today's medicine is so important, that a small sporadic shortage of blood and its components (e.g. packed red cells, platelet products, albumin, intravenous immunoglobulin, and clotting factor concentrates) are potentially life-threatening occurrences.

The present work focuses on human plasma and its components and derivatives, as well as their conservation and therapeutic usage in hospitals.

An historical background of the origin and general development of plasma and its derivatives is given, as well as the current legislative framework in Portugal and in the European Union.

A brief introduction of each component and related diseases is made, taking into account their clinical relevance and usage.

We also approach hemocomponents but give a deeper insight into hemoderived products. Some recombinant factors used in hemophilia in Portugal are also tackled, accompanied by a more detailed insight of the disease.

Finally, a description of the industrial process of making hemoderived products is made.

Keywords: human blood, human plasma, components and derivatives.

Índice Geral

Capítulo 1 – Introdução	15
Capítulo 2 – Enquadramento Legislativo	17
Capítulo 3 – O Sangue e seus Componentes	24
3.1. Sangue.....	24
3.2. Identificação dos Constituintes do Sangue.....	25
3.2.1. Eritrócitos.....	25
3.2.2. Leucócitos	25
3.2.3 Plaquetas	27
3.3. Hemóstase	28
3.3.1. Hemóstase Primária.....	28
3.3.2. Hemóstase Secundária.....	30
Capítulo 4 – Plasma Humano e seus Derivados	33
4.1. O Plasma	33
4.2. Identificação dos Derivados do Plasma.....	33
4.2.1. Albumina.....	33
4.2.2. Fatores de Coagulação	38
4.2.3. Proteínas anticoagulantes	49
4.2.4. Imunoglobulinas.....	53
Capítulo 5 – Hemocomponentes	63
5.1. Sangue Total.....	63
5.2. Concentrado de Hemácias.....	64
5.3. Suspensão de Hemácias	64
5.4. Hemácias Leucodepletadas	65
5.5. Concentrado de Plaquetas	65
5.6. Plasma Humano / Plasma Fresco Congelado	67
5.7. Crioprecipitado.....	69
Capítulo 6 – Distúrbios da Coagulação	71
6.1 - Terapêutica de Hemofilia.....	72
6.2 - Desmopressina	74
6.3 - Desenvolvimento de inibidores.....	75
6.3.1 - Agentes Bypass.....	77
6.4 - Fármacos recombinantes usados em Portugal	79
6.4.1 - Eptacog alfa	79
6.4.2 - Octocog alfa.....	79
6.4.3 - Moroctocog alfa.....	80

6.4.4 - Nonacog alfa	81
Capítulo 7 – Fabrico de Hemoderivados	82
7.1 - Métodos Precipitação	84
7.1.1 - Físicos	84
7.1.2 - Físico-Químicos	84
7.2 - Métodos Cromatográficos	84
7.3 - Inativação viral	85
7.3.1 - Procedimentos de remoção viral	86
7.3.2 - Procedimentos de inativação viral	86
Capítulo 8 – Conclusão	89
Bibliografia	90
Anexos	

Índice de Figuras

Figura 1 - Condições de armazenamento, transporte e distribuição de sangue e componentes sanguíneos	21
Figura 2 - Representação esquemática da cascata de coagulação sanguínea e respectivos fatores de coagulação.	31
Figura 3 - Representação da função inibitória da Antitrombina III, na presença das diferentes frações de heparina.....	52
Figura 4 - Processo e etapas padrão do fracionamento de plasma, para a produção de proteínas terapêuticas.....	83

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Resumo do Enquadramento Legislativo relativamente ao sangue, plasma e seus derivados em Portugal	23
Tabela 2 - Classificação da doença de von Willebrand.....	43
Tabela 3 - Herança, prevalência e propensão de sangramento em pacientes com DvW	43
Tabela 4 - Guideline de dosagens de Ig G consoante as respetivas indicações clínicas	61
Tabela 5 - Derivados plasmáticos e respetivos tempos de semi-vida presentes numa bolsa de crioprecipitado com volume de 10-15 ml	69
Tabela 6 - Características genéticas e laboratoriais dos distúrbios de coagulação herdados	71
Tabela 7 - Guia terapêutico da Hemofilia A	73
Tabela 8 - Guia terapêutico da Hemofilia B.....	74
Tabela 9 - Guia de dosagens de acordo com o tipo de hemorragia	77

Lista de Abreviaturas

anti-HBs	Anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
ADP	Adenosina difosfato
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
AT-III	Antitrombina III
BHK	Células de Fígado de Hamster Bebé (Baby Hamster Kidney cells)
CHO	Células de Ovário de Hamster Chinês (Chinese Hamster Ovary cells)
CIVD	Coagulação Intravascular Disseminada
COELL	Certificado Oficial Europeu de Libertação de Lote
DDAVP	Desmopressina (1-desamino-8-D-arginina vasopressina)
DGS	Direção-Geral de Saúde
DHPN	Doença Hemolítica Perinatal
DvW	Doença de von Willebrand
EMA	Agência Europeia de Medicamentos (European Medicines Agency)
F(Nº)	Fator (Nº) ex: FVIII - Fator de coagulação VIII
F(Nº):Ag	Nível de antígeno do fator coagulante
F(Nº):C	Nível de atividade do fator de coagulação
F(Nº)a	Fator (Nº) ativado ex: FVIIIa - Fator de coagulação VIII ativado
F(Nº)r	Fator (Nº) recombinante ex: FVIIIr - Fator de coagulação VIII recombinante
FDA	Food and Drug Administration
FT	Fator Tecidual
FvW	Fator von Willebrand
FvW:CofR	Cofator de Ristocetina
GP	Glicoproteína
Ig anti-D	Imunoglobulina humana contra o antígeno D
Ig anti-HBV	Imunoglobulina humana contra a Hepatite B
Ig anti-T	Imunoglobulina humana contra o Tétano
IM	Intramuscular
IPST	Instituto Português do Sangue e da Transplantação
ITI	Indução de Tolerância Imunológica
IV	Intravenosa
OMS	Organização Mundial de Saúde
PD	Plasma Descongelado
PFC	Plasma Fresco Concentrado
SD	Solvente/Detergente
PREMAC	Plano de Redução e Melhorias da Administração Central
PTI	Púrpura Trombocitopénica Idiopática
PTT	Púrpura Trombocitopénica Trombótica
RhD	Antígeno D do sistema Rh
TAAN	Teste de Amplificação de Ácido Nucleico
TP	Tempo de Protrombina
TRALI	Lesão Pulmonar Aguda Associada à Transfusão (Transfusion related acute lung injury)
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial ativado
UI	Unidade Internacional
VHC	Vírus de Hepatite C
HIV	Vírus de imunodeficiência humano
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C

Capítulo 1 – Introdução

Ao longo dos últimos cem anos, a medicina transfusional passou da transfusão de pequenas quantidades de sangue total, a uma das práticas terapêuticas mais comuns, abrangendo também o plasma e os seus derivados (Shaz, Hillyer, Roshal, & Abrams, 2013).

Foi na década de 1940, durante a segunda guerra mundial, que Edwin Cohn desenvolveu um processo à base de etanol frio para separar as proteínas do plasma humano, conhecido como o "processo de fracionamento de Cohn". Ainda hoje, este processo constitui a base da maior parte das instalações modernas de fracionamento de plasma humano, permitindo o uso generalizado de medicamentos extraídos do mesmo (EMA, 2011; Internacional Blood Plasma News, 2016; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

Originalmente, o objetivo de Cohn era separar a albumina para a utilizar em soldados com perda de sangue. O uso bem-sucedido desta proteína levou a uma rápida disseminação do seu uso terapêutico do setor militar para os hospitais civis e para as salas de operação em todo o mundo (Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

Ao longo do tempo, outras proteínas foram separadas de diferentes frações do plasma e utilizadas a nível clínico, destacando-se aqui as imunoglobulinas e os fatores de coagulação. A partir de meados dos anos 1950, com a purificação de imunoglobulinas têm sido desenvolvidas inúmeras aplicações para pacientes com deficiências congénitas de anticorpos. Atualmente, as imunoglobulinas representam cerca de 40-50% do mercado mundial de proteínas plasmáticas. Na década de 1960, a descoberta de que a fração de crioprecipitado de plasma é enriquecida com o fator VIII e, já na década de 1970, a possibilidade de purificação dos fatores VIII e IX a partir do plasma permitiram a introdução da terapia de infusão de concentrado de fatores, revolucionando o tratamento de Hemofilia A e B (Internacional Blood Plasma News, 2016; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013).

Nos anos 1980, o potencial de transmissão viral (especialmente nas *pools* de plasma) teve um grande impacto neste sector da saúde, visto ter sido reconhecido que os medicamentos derivados do plasma (nomeadamente os concentrados de fatores de coagulação) causaram a transmissão generalizada do vírus da imunodeficiência humana

(VIH) e da hepatite C (VHC). Esta crise levou a uma completa transformação no setor de colheita de plasma e na indústria de fracionamento com a introdução de medidas específicas para assegurar o controlo de qualidade na produção destes medicamentos (EMA, 2011; Robert, 2011; Shaz et al., 2013).

Desde então, passaram a ser adotados procedimentos padrão como a seleção de dadores, o rastreio de doações individuais e de “pools” de plasma com marcadores de infeção, os testes de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN) e os métodos de inativação e remoção viral. Estes procedimentos ajudaram a reduzir o risco residual da transmissão de agentes infecciosos para valores menores que 1: 2.000.000 de unidades rastreadas. Tanto que, de acordo com Amy L. Dunn, praticamente não foram relatados casos de transmissão viral em pacientes por concentrados de fatores de coagulação nas duas últimas décadas. Os riscos foram ainda mais reduzidos com o sucesso da produção dos fatores recombinantes VIII e IX (ambos licenciados na década de 1990). A tecnologia recombinante continua em constante desenvolvimento e a sua produção abrange cada vez mais proteínas plasmáticas (EMA, 2011; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013).

No entanto, nos últimos 25 anos, as complicações não infecciosas de transfusão tornaram-se evidentes. Estas incluem, entre outras, as reações febris (reduzidas substancialmente com a implementação de métodos de leucoredução); as transfusões incompatíveis; a sobrecarga circulatória associada à transfusão e a lesão pulmonar aguda relacionada com a transfusão (TRALI). Para muitas destas complicações, já foram implementadas estratégias de mitigação com sucesso a nível hospitalar (Shaz et al., 2013).

No Capítulo 2, apresenta-se o enquadramento legislativo; no Capítulo 3, o sangue e seus componentes; no Capítulo 4, plasma humano e seus derivados; no capítulo 5, hemocomponentes; no capítulo 6, distúrbios de coagulação e no capítulo 7, fabrico de hemoderivados. Por fim, o capítulo 8 com as conclusões, seguidos da bibliografia e dos anexos.

Capítulo 2 – Enquadramento Legislativo

De acordo com a Diretiva 2001/83/CE, os medicamentos derivados do sangue ou do plasma humano, são medicamentos à base de componentes de sangue, preparados industrialmente por estabelecimentos públicos ou privados, os quais compreendem nomeadamente a albumina, os fatores de coagulação e as imunoglobulinas de origem humana.

Os medicamentos derivados do sangue ou do plasma humano sofrem de uma restrição relativamente ao seu fornecimento e utilização. A alínea b) do artigo 118.º do Estatuto do Medicamento diz-nos que estes medicamentos são sujeitos a receita médica restrita, sendo a sua utilização reservada ao meio hospitalar. Esta restrição é imposta uma vez que estes medicamentos destinam-se a patologias cujo diagnóstico é apenas efetuado em meio hospitalar com meios de diagnósticos adequados, ainda que a sua administração e o acompanhamento dos pacientes possa ser realizado fora desses meios (Decreto-lei nº 176/2006, 2006).

Tanto os medicamentos derivados do sangue ou plasma humano como as vacinas, são também considerados pelo Estatuto do Medicamento como produtos de origem biológica, os quais apresentam variabilidade enquanto produtos, relativamente à sua origem. Assim sendo, todos os lotes requerem um Certificado Oficial Europeu de Libertação de Lote (COELL) segundo o Estatuto do Medicamento e de acordo com as *guidelines* europeias para Libertação de Lote (OCABR - Official Control Authority Batch Release), os quais são reconhecidos em toda a União Europeia e Espaço Económico Europeu (Directiva 2001/83/CE, 2001; Directiva 2003/63/CE, 2003; Infarmed, 2014a).

Os mesmos princípios e regras se aplicam para as “*pools*” de plasma, as quais para além da emissão do COELL, têm de ser devidamente identificadas com o código “*pool*”, produtor, data de produção, volume, número de dádivas, assim como toda a informação de cada dádiva individual, testes efetuados e resultados adquiridos (Informed, 2014b)

Para assegurar a segurança deste tipo de medicamentos biológicos, é obrigatório um controlo rigoroso e documentação de todos os processos de tratamento do material de origem, os quais se entendem por todas as substâncias a partir dos quais a substância ativa é fabricada ou dos quais é extraída, até ao produto final. Dentro deste tipo de documentação, a existência de um arquivo mestre do plasma, também conhecido por

ficheiro principal do plasma (PMF – Plasma Master File), não se inclui no dossiê de Autorização de Introdução no Mercado (AIM). No entanto, a sua utilização assegura que o fabrico de medicamentos derivados do plasma estejam ao abrigo das Boas Práticas de Fabrico, permitindo controlar toda a informação relativamente ao material de origem (Decreto Lei nº 176/2006, 2006; Directiva 2003/63/CE, 2003).

O artigo 102.º do Estatuto do Medicamento cita que os medicamentos derivados do sangue ou plasma humano regem-se por uma Legislação especial, a qual se aplica nomeadamente às medidas de segurança e de controlo mencionadas nos artigos 134.º e 135.º respetivamente. As medidas de segurança referem que “as normas relativas à qualidade e segurança da colheita, análise, processamento e armazenamento de sangue ou do plasma humanos e de componentes sanguíneos são definidas por legislação especial”, devendo ser adotadas as medidas presentes nas Farmacopeias Portuguesa e Europeia, assim como as recomendações dadas pelo Conselho da Europa e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a fim de evitar a transmissão de doenças infecciosas. O artigo 135.º dita que deve existir um controlo especial na produção destes medicamentos, nomeadamente a fim de evitar contaminação viral específica, ficando o fabricante obrigado a comunicar ao INFARMED todos os métodos utilizados para reduzir ou eliminar os agentes patogénicos suscetíveis que possam ser transmitidos pelos medicamentos derivados do sangue ou do plasma humano. Deve também haver uma validação devida de todos os processos de fabrico e purificação utilizados na produção de medicamentos derivados do sangue ou do plasma, de forma a assegurar a conformidade dos lotes e garantir a ausência de contaminação viral específica (Decreto-lei nº 176/2006, 2006).

As medidas de segurança e controlo anteriormente referidas devem ser atingidas para que o medicamento produzido possa ser submetido a uma AIM, a qual apresenta como critérios de submissão, a capacidade do fabricante demonstrar de forma contínua, a conformidade dos lotes e, na medida em que o desenvolvimento técnico o permita, a ausência de contaminação viral específica. Um conhecimento mais aprofundado sobre as regras de submissão a AIM pode ser adquirido através da leitura do Anexo I da Directiva 2003/63/CE (Directiva 2001/83/CE, 2001; Directiva 2003/63/CE, 2003; EMA, 2011).

O Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I. P. (IPST) é um organismo que tem por missão regular a nível nacional, toda a atividade da medicina transfusional e de

transplantação, participando na política nacional relativamente aos respetivos setores. Desta forma garantindo, a devida dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, disponibilidade e acessibilidade da distribuição de sangue humano e dos seus componentes, assim como de órgãos, tecidos e células de origem humana (Decreto-Lei n.º 124/2011, 2011).

De acordo com o artigo 7.º, os serviços de sangue são estruturas responsáveis pela colheita e análise sangue humano ou de componentes sanguíneos, independentemente de ser para fracionamento ou transfusão, assim como pelo seu processamento, armazenamento e distribuição quando estes se destinarem à transfusão (Decreto-Lei n.º 267/2007, 2007).

No seguimento destes organismos, o artigo 10.º define os serviços de medicina transfusional como unidades hospitalares que armazenam, distribuem e disponibilizam sangue e os seus componentes, podendo efetuar testes de compatibilidade para a utilização exclusiva do hospital e incluir outras atividades de transfusão no suporte hospitalar (Decreto-Lei n.º 267/2007, 2007).

Os serviços de medicina transfusional podem também incluir e exercer os processos que caibam na definição de serviços de sangue, desde que seja feita um pedido de autorização prévio à Direcção-Geral da Saúde (DGS) (Decreto-Lei n.º 185/2015, 2015)

A pessoa responsável por estes serviços deve ser um médico devidamente identificado perante a DGS, que detenha a especialidade de imuno-hemoterapia e possua pelo menos dois anos de experiência na mesma área. A sua função reflete-se em assegurar o cumprimento dos requisitos de formação de pessoal, sistemas da qualidade, documentação, conservação dos registos e rastreabilidade, assim como a notificação e proteção de dados confidenciais. Este, juntamente com o pessoal empregado, deveram receber formação adequada e regular de modo a garantir um desempenho de qualidade dentro dos serviços (Decreto-Lei n.º 185/2015, 2015; Decreto-Lei n.º 267/2007, 2007).

A rastreabilidade é um conceito logístico cuja utilização nos serviços de sangue e medicina transfusional é obrigatória, de forma a se poder identificar a origem de um produto (desde o dador) e todo o seu percurso até ao recetor. Este processo assegura um devido controlo de qualidade, possibilitando uma melhor farmacovigilância e a possibilidade de recolha de lotes quando necessária. Desta forma, os serviços de sangue e medicina transfusional devem implementar um sistema de informação que permita a

identificação individual de cada dador, de cada unidade de sangue colhida e cada componente preparado, assim como uma posterior verificação da correta administração da unidade disponibilizada ao doente. Todos os dados necessários para um registo integral de rastreabilidade podem ser encontrados no Anexo I do presente trabalho, os quais devem ser conservados pelas respetivas organizações por um período mínimo de 30 anos (Decreto-Lei nº 267/2007, 2007; DGS, 2015).

De acordo com o artigo 15.º do Decreto-Lei n.º 185/2015 de 2 de setembro, os serviços ou instalações, onde sejam efetuadas transfusões, devem notificar todas as reações adversas graves observadas durante ou após a transfusão, ao serviço de sangue donde procedeu a unidade administrada e ao IPST. Este procedimento deve ser feito utilizando os modelos de notificação presentes no anexo X do mesmo Decreto-Lei. O mesmo processo de notificação deve ser feito na presença de incidentes adversos graves (artigo 16.º) relacionados com a colheita, análise, processamento, armazenamento e distribuição de sangue, plasma e dos seus componentes, que possam ter influência na sua qualidade e segurança. Neste último caso, são utilizados os modelos de notificação presentes no anexo XI do mesmo Decreto-Lei.

Os serviços de sangue devem assegurar as devidas condições de armazenamento, transporte e distribuição dos produtos sanguíneos e seus derivados, descritas pelo anexo XIII do Decreto-Lei nº 267/2007 de 24 de Julho representado na Figura 1. Cada passo destes procedimentos deve ser previamente validado e realizado de forma a manter a integridade dos produtos. O sangue e os seus derivados, com consideração especial aos componentes autólogos, devem ser devidamente identificados e armazenados em locais específicos e separados, sendo mantido um registo adequado dos mesmos, referente ao inventário e distribuição.

ANEXO XIII

Condições de armazenamento, transporte e distribuição de sangue e componentes sanguíneos

1 — Armazenamento:

1.1 — Armazenamento de componentes líquidos:

Componente	Temperatura de armazenamento	Duração máxima do armazenamento
Preparações de eritrócitos e de sangue total (se usado em transfusões como sangue total).	+ 2°C a + 6°C	28-49 dias consoante os processos usados na colheita, processamento e armazenamento.
Preparações de plaquetas	+ 20°C a + 24°C	Cinco dias; podem ser armazenadas durante sete dias em combinação com a deteção ou redução de contaminação bacteriana.
Granulócitos	+ 20°C a + 24°C	Vinte e quatro horas.

1.2 — Criopreservação:

Componente	Condições e duração do armazenamento
Eritrócitos	Até 30 anos, consoante os processos usados na colheita, processamento e armazenamento.
Plaquetas	Até 24 meses, consoante os processos usados na colheita, processamento e armazenamento.
Plasma e crioprecipitado	Até 36 meses, consoante os processos usados na colheita, processamento e armazenamento.

Os eritrócitos e as plaquetas criopreservados devem ser formulados numa solução adequada após descongelação. O período de armazenamento permitido após descongelação dependerá do método utilizado.

Figura 1 - Condições de armazenamento, transporte e distribuição de sangue e componentes sanguíneos, de acordo com o anexo XIII do Decreto-Lei n.º 267/2007 de 24 de Julho

A identificação individual de cada produto farmacêutico através do sistema de rotulagem é crucial para um devido manuseamento dos mesmos durante o processo de fabrico, armazenamento, transporte e administração, assim como de rastreabilidade. A informação descrita nos rótulos deve-se apresentar em conformidade com o anexo VIII do Decreto-Lei nº 267/2007 de 24 de Julho, sendo necessário:

- Designação oficial do componente;
- Volume, peso ou número de células do componente (consoante o caso);
- Identificação única, numérica ou alfanumérica, da dádiva;
- Nome do serviço de sangue de produção;
- Grupo ABO e RhD, especificando «Rh D positivo» ou «Rh D negativo» (não necessária para o plasma destinado exclusivamente a fracionamento);
- Data ou prazo de validade (consoante o caso);
- Temperatura de armazenamento;
- Nome, composição e volume do anticoagulante e ou solução aditiva (caso exista).

De acordo com a Directiva 2001/83/CE de 6 de Novembro de 2001, é necessário exercer um controlo de toda a cadeia de distribuição dos medicamentos, desde o fabrico ou importação na Comunidade Europeia, até ao fornecimento ao público. Como tal, qualquer pessoa que intervenha na distribuição por grosso dos medicamentos, deve ser titular de uma autorização específica, dispensando os farmacêuticos e indivíduos habilitados a fornecer medicamentos ao público, sendo necessário que todos eles mantenham registos de todas as transações.

Atualmente, a aquisição de produtos derivados do plasma humano por parte dos serviços e estabelecimentos do Ministério da Saúde é feita por concurso em cada Unidade Local de Saúde. O Despacho n.º 28356/2008, de 13 de Outubro, dita que os júris dos concursos destinados à aquisição de fator VIII e fator IX da coagulação devem ser médicos especializados em imuno-hemoterapia ou hematologia clínica com a presença dos respetivos representantes dos doentes hemofílicos em questão.

Todos os atos de requisição clínica, distribuição aos serviços e administração aos doentes de todos os medicamentos derivados do plasma humano utilizados nos estabelecimentos de saúde públicos ou privados, devem ser registados. Este registo é feito em duas fichas modelo, a “Via Farmácia” (Anexo 2) e a “Via Serviço” (Anexo 3), as quais são fornecidas (mediante requisição) e produzidas com número de série pela Imprensa Nacional-Casa da Moeda, S. A. (Despacho n.º 1051/2000, 2000).

Para o desenvolvimento de boas práticas de distribuição de medicamentos de uso humano, deverá ser nomeado um farmacêutico devidamente habilitado pela Ordem dos Farmacêuticos, que exerça a sua função presencialmente no local de distribuição. O pessoal responsável pelo armazenamento de medicamentos deve ter competência e experiência para assegurar que os produtos ou materiais sejam adequadamente armazenados e manuseados, recebendo uma formação adequada sob a responsabilidade do diretor técnico (Portaria n.º 348/98, 1998).

Tabela 1 - Resumo do Enquadramento Legislativo relativamente ao sangue, plasma e seus derivados em Portugal

Data	Documento	Conteúdo
15 de junho de 1998	Portaria n.º 348/98, do Ministério da Saúde	Boas práticas de distribuição de medicamentos de uso humano e medicamentos veterinários
30 de outubro de 2000	Despacho conjunto n.º 1051/2000, dos Ministérios da Defesa Nacional e da Saúde	Registo Distribuição e Administração e libertação de lotes de medicamentos derivados do plasma
6 de novembro de 2001	Diretiva 2001/83/CE, do Jornal Oficial das Comunidades Europeias	Código comunitário relativo aos medicamentos para uso Humano
25 de junho de 2003	Diretiva 2003/63/CE, do Jornal Oficial das Comunidades Europeias	Atualização da Diretiva 2001/83/CE
30 de agosto de 2006	Decreto-Lei n.º 176/2006 Estatuto do Medicamento	Legislação do medicamento, designadamente nas áreas do fabrico, controlo da qualidade, segurança e eficácia, introdução no mercado e comercialização dos medicamentos para uso humano
24 de julho de 2007	Decreto-Lei n.º 267/2007, do Ministério da Saúde	Qualidade e segurança do sangue humano e dos componentes sanguíneos, respectivas exigências técnicas, requisitos de rastreabilidade, notificação de reacções e incidentes adversos graves, normas e especificações relativas ao sistema de qualidade dos serviços de sangue
12 de outubro de 2008	Despacho n.º 28356/2008, do Ministério da Saúde	Aquisição dos produtos derivados do plasma
21 de julho de 2011	<i>Guideline on plasma-derived medicinal products</i> , da <i>European Medicines Agency</i> (EMA)	Todos os procedimentos para a colheita de material, fabrico e controlo dos medicamentos derivados do plasma qualidade
29 de dezembro de 2001	Decreto-Lei n.º 124/2011, do Ministério da Saúde	Aprovação da Lei Orgânica com instituição do Plano de Redução e Melhoria da Administração Central (PREMAC)
23 de Junho de 2015	Portaria n.º 185/2015, do Ministério da Saúde	Atualização do Estatuto do Medicamento após instituição da PREMAC e atribuição de novas funções do IPST e DGS anteriormente detidas pela Autoridade para os Serviços de Sangue e Transplantação (ASST)

Capítulo 3 – O Sangue e seus Componentes

Neste capítulo iremos debruçar-nos sobre o sangue e seus componentes. Começaremos por clarificar o que é o sangue, identificando de seguida os seus constituintes, terminando com uma explicação da hemóstase.

3.1 - Sangue

O sangue é um tecido vivo, caracterizado como um líquido vermelho e espesso que se encontra num compartimento fechado a que chamamos aparelho circulatório, e, consiste numa diversidade de células em suspensão num meio líquido, denominado plasma, as quais se denominam por elementos figurados do sangue (Carneiro & Junqueira, 2008; Young, Lowe, Steven, & Heath, 2008).

Os componentes do sangue podem ser classificados essencialmente em duas categorias: as partículas sólidas, ou elementos figurados, nos quais se integram os eritrócitos (glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas, e a parte líquida denominada por plasma, onde os elementos figurados se encontram suspensos (McDougal, 2015).

O sangue é o fluido que contacta com todos os sistemas do corpo humano, característica esta que se mostra vital quando o sangue tem como função principal a de transporte. É pelo sangue que os leucócitos desempenham a sua ação imunitária, percorrendo constantemente o corpo e atravessando tecidos por diapedese para proteger o nosso organismo de micro-organismos e infeções (Young et al., 2008).

Sendo o sangue um meio de transporte é também por este que se transporta O_2 , CO_2 , metabolitos, hormonas e outras substâncias a todas as células do corpo. O oxigénio liga-se principalmente à hemoglobina dos eritrócitos, sendo muito mais abundante nos vasos arteriais do que nos venosos. Por sua vez, o dióxido de carbono é transportado em solução no sangue como CO_2 ou HCO_3^- , para além de se ligar também à hemoglobina (Mescher, 2013).

Quando o sangue sai do sistema circulatório, seja por extração manual e introdução num tubo de ensaio, ou por lesão e extravasão do sangue para a matriz extracelular que envolve os vasos sanguíneos, as proteínas plasmáticas reagem umas com as outras formando coágulos. Esta reação confere ao líquido propriedades biológicas diferentes das do plasma a que se dá o nome de soro (Mescher, 2013).

Os nutrientes são distribuídos a partir dos seus locais de absorção, sendo estes o estômago ou o intestino. Os resíduos metabólicos, por sua vez, são recolhidos das células de todo o corpo, transportados pelo sangue e removidos pelos órgãos excretores. A distribuição de hormonas no sangue permite a troca de mensageiros químicos entre órgãos distantes, de forma a regular o funcionamento dos mesmos. O sangue também participa na regulação da temperatura, manutenção do pH e balanço osmótico (Mescher, 2013).

3.2 - Identificação dos Constituintes do Sangue

3.2.1 - Eritrócitos

A concentração normal de eritrócitos no sangue é aproximadamente entre 3.9 - 5.5 e entre 4.1 - 6.0 milhões por microlitro nas mulheres e nos homens respetivamente. Os eritrócitos são células diferenciadas em forma de discos bicôncavos flexíveis, anucleadas e preenchidas com a proteína transportadora de oxigénio, a hemoglobina. São também as únicas células sanguíneas que, para a realização da sua função, não são obrigadas a sair da vasculatura sanguínea (Mescher, 2013).

A forma bicôncava oferece uma grande relação de superfície-volume, facilitando assim a troca de gás, enquanto a elasticidade e a flexibilidade conferem à célula a habilidade de passar mesmo pelos capilares mais estreitos. O citoplasma eritrocitário carece de todos os organelos de uma célula normal, mas está densamente preenchido com hemoglobina, a qual, combinada com O₂ ou com CO₂ resulta em oxihemoglobina ou carboxihemoglobina respetivamente. A reversibilidade destas combinações é a base para o funcionamento do transporte de gás por parte desta proteína. No entanto, a combinação de hemoglobina com monóxido de carbono (CO) é irreversível, diminuindo assim, o fornecimento de oxigénio ao corpo e podendo ser letal em casos de intoxicação (Mescher, 2013).

3.2.2 - Leucócitos

Os leucócitos, ou glóbulos brancos, fazem parte do nosso sistema imunitário e, como tal, agem com o propósito de protegerem o nosso organismo contra infeções. A fim de desempenharem as suas funções, os leucócitos deslocam-se para a zona de infeção através da quimiotaxia, processo que atrai os leucócitos em direção ao local com maior concentração de agentes quimiotáxicos. Uma vez no local, os leucócitos têm a

habilidade de atravessar do sangue para o tecido conjuntivo (diapedese) de forma a combater a infecção no local de origem (Young et al., 2008).

A concentração de leucócitos num adulto saudável ronda 4,500-11,000 unidades por microlitro. O aumento ou redução deste número no sangue denomina-se por leucocitose e leucopenia respetivamente. Dependendo do tipo de grânulos citoplasmáticos e da morfologia nuclear, os leucócitos poderão ser divididos em dois grupos: granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos (monócitos, linfócitos B e linfócitos T). Ambos são esféricos enquanto suspensos no plasma mas tornam-se amebóides e dotados de mobilidade ao sair dos vasos sanguíneos e ao invadirem os tecidos adjacentes pelo processo a que damos o nome de diapedese (Mescher, 2013; Vivas, 2008).

Os granulócitos possuem múltiplos núcleos unidos por densos filamentos delgados de cromatina. O número de núcleos pode variar, razão pela qual também são chamados de polimorfonucleares. O citoplasma destas células contém lisossomas e outros grânulos específicos, cujas características diferem entre os diferentes tipos de granulócitos. Os neutrófilos são o tipo de leucócitos mais abundantes. Têm núcleos multilobulados e polimórficos, com grânulos citoplasmáticos contendo múltiplos fatores eficientes na fagocitose – destruição e remoção de bactérias. Os eosinófilos têm núcleos bilobados e grânulos específicos eficazes na destruição de parasitas helmíntias e moduladores de inflamação. Os basófilos são os leucócitos mais raros na circulação sanguínea, com núcleos irregulares bilobados e assemelham-se aos mastócitos com grânulos específicos contendo fatores importantes no combate de alergias e inflamações crónicas, incluindo histamina, heparina, quimiocinas e várias enzimas hidrolíticas (Mescher, 2013; Vivas, 2008).

Os agranulócitos não têm grânulos específicos no entanto contêm lisossomas. O núcleo é único, esférico ou arredondado, mas não lobulado, justificando o nome alternativo para esta família de leucócitos – mononucleares. Os monócitos são agranulócitos de grande porte com um núcleo distinto em forma de “C” que circulam pelo corpo como percursores de macrófagos entre outras células do sistema fagocitário mononuclear. Os linfócitos são o tipo de agranulócitos mais abundante no corpo humano e, embora sejam morfológicamente semelhantes, dividem-se em duas categorias funcionais: Linfócitos B e Linfócitos T (Mescher, 2013; Vivas, 2008).

Todos os leucócitos são elementos chave na defesa do organismo contra microorganismos invasores e na reparação de tecidos, especialmente nos tecidos perto da microvasculatura lesada, inflamação ou tecidos infetados. Nestes locais, proteínas chamadas Citocinas e P-Selectina (proteína de adesão celular) são libertadas. As citocinas desencadeiam o “*loosen up*” da junção celular nas células endoteliais, enquanto os neutrófilos, e outros leucócitos contendo p-selectina nas suas superfícies celulares, vão interagir com outras células promovendo o abrandamento do fluxo nas vénulas. Estes processos são fundamentais para promover a diapedese, onde os leucócitos se fixam ao endotélio através da expressão de integrina (proteína de adesão) e mandam extensões entre as aberturas das células endoteliais (causadas pelas citocinas) de forma a migrarem para o espaço lesado e combaterem a infeção (Mescher, 2013).

3.2.3 - Plaquetas

As plaquetas, ou trombócitos, são células sanguíneas libertadas pelos megacariócitos da medula óssea e circulam pelo sangue com um tempo de vida útil de aproximadamente 10 dias. Tem como função principal promover a coagulação do sangue através da formação de coágulos. A sua contagem normal varia entre os 150 a 400 mil unidades/ μL , embora este número represente apenas dois terços das plaquetas disponíveis uma vez que o baço sequestra as restantes (Fritsma, 2014; Gale, 2011).

Em condições de necessidades hemostáticas, as plaquetas movem-se a partir do baço para o sangue periférico, respondendo a estímulos celulares e humorais. Uma lesão na parede do vaso sanguíneo por exemplo, rompe o colagénio da matriz extracelular, o que induz as células endoteliais danificadas a libertar fator de Von Willebrand (FvW), o qual vai interagir com as plaquetas tornando-as irregulares. Esta reação com as plaquetas induz a produção de extensões pseudoplasmáticas por parte das mesmas, a que damos o nome de pseudopodia, permitindo a adesão a estruturas vizinhas ao agregarem-se entre si (Eales, 2003; Fritsma, 2014).

3.3 - Hemóstase

Hemóstase é o processo fisiológico que pára hemorragias, formando um tampão hemostático no local de lesão, mantendo o fluxo do sangue normal no resto da circulação, ajudando na reparação do vaso. O sistema de coagulação, proteínas pro e anticoagulantes, sistema fibrinolítico, plaquetas e endotélio vascular fazem parte dos processos fundamentais na regulação da hemóstase (Gale, 2011).

O endotélio nos vasos sanguíneos mantém uma superfície anticoagulante conservando o sangue no seu estado líquido, mas em caso de lesão, os compostos da matriz subendotelial ficam expostos ao sangue. Muitos destes compostos ativam os dois principais processos de hemóstase iniciando a formação de coágulos sanguíneos, compostos principalmente por plaquetas e fibrina. Este processo inicia-se numa questão de segundos após lesão do vaso restringindo-se ao sítio em questão (Gale, 2011).

Existem dois tipos de hemóstase: hemóstase primária, a qual se refere à agregação de plaquetas na formação do tampão plaquetário, e hemóstase secundária, responsável pela formação da fibrina insolúvel, gerada pela cascata de coagulação, reforçando e estabilizando o coágulo (Gale, 2011).

3.3.1 - Hemóstase Primária

O primeiro passo na hemóstase primária é a vasoconstrição, de forma a apertar o vaso sanguíneo, diminuindo a quantidade de sangue que passa no local de lesão e consequentemente reduzindo as perdas de sangue. Esta ação ocorre por estimulação dos nervos simpáticos e por mediadores químicos na parede do vaso (Jacobs & Towne, 2013).

As células saudáveis do endotélio, secretam Óxido Nítrico (NO), prostaciclina e endotelina, sendo as duas primeiras vasodilatadoras e a última vasoconstritora. Numa situação normal, a vasodilatação costuma ser predominante, mas em casos de lesões o contrário acontece. A vasoconstrição é também mediada por outros fatores químicos tais como o tromboxano, um potente vasoconstritor, que provém de endotélio lesado e de plaquetas ativas presentes no trombo através de um conjunto de reações da via metabólica da cascata do ácido araquidónico (Jacobs & Towne, 2013).

O segundo processo da hemóstase primária denomina-se por adesão plaquetária. Num endotélio saudável, a produção de vasodilatadores (NO e prostaciclina) impede a adesão de plaquetas ao mesmo, no entanto em caso de lesão, a concentração destes

vasodilatadores diminui e o colagénio subendotelial fica exposto ao sangue, dando o início à adesão plaquetária. Isto permite que uma proteína plasmática libertada pelo subendotélio lesado, com o nome de Fator von Willebrand, se ligue ao colagénio exposto na lesão, sofrendo mudanças conformacionais na sua extremidade de modo a se poder ligar ao recetor/glicoproteína (GP) I_b das plaquetas. Este processo inicia a ativação das plaquetas, dando início ao terceiro passo: ativação e desgranulação das plaquetas (Deloughery, 2004; Eales, 2003; Jacobs & Towne, 2013; O'Connell, 2013).

A ativação das plaquetas consiste em três processos principais: a libertação dos grânulos, síntese de tromboxano A_2 e mudança conformacional. No interior das plaquetas existem dois tipos de grânulos que após ativação libertam o seu conteúdo. Os grânulos alfa libertam fibrinogénio, FvW e fator V (FV). O fibrinogénio é responsável pela ligação interplaquetar ligando-se aos recetores $II_b III_a$, resultando num coágulo. Este será mais tarde estabilizado pela formação de fibrina através da cascata de coagulação. O FvW irá promover adesão e ativação das restantes plaquetas, e o FV será utilizado como cofator enzimático na hemóstase secundária. Os grânulos delta, mais conhecidos por densos, contem adenosina difosfato (ADP) que após libertação liga-se ao recetor ADP da própria plaqueta, e adjacentes, induzindo a expressão da GP II_b/III_a na superfície plaquetária. A expressão deste recetor, juntamente com o fibrinogénio libertado pelos grânulos alfa, permite a ligação entre as plaquetas promovendo agregação. Os grânulos densos também libertam cálcio ionizado (Ca^{2+}) para ser utilizado nas reações da cascata de coagulação, e serotonina, desempenhando o papel de vasoconstritora (Deloughery, 2004; Jacobs & Towne, 2013; O'Connell, 2013).

Outro processo ocorrente na ativação plaquetária é a produção de tromboxano A_2 . As plaquetas contem no seu interior fosfolipase A_2 , enzima responsável pela catalisação de fosfolípidos, neste caso das membranas plaquetárias, a fim de promover a criação de ácido araquidónico. Este irá sofrer um conjunto de reações envolvendo a ciclooxigenase (COX) e tromboxano-A sintetase formando o produto final de tromboxano A_2 , que para além de ser um potente vasoconstritor, promove a agregação plaquetária (Fritsma, 2014; Jacobs & Towne, 2013).

O terceiro processo na ativação plaquetária é a alteração conformacional nas lipoproteínas da membrana das plaquetas, fazendo com que a superfície das mesmas se torne esférica. A esta forma adquirida pelas plaquetas é designada por fator plaquetar 3, que haje como plataforma para a formação do complexo de protrombinase e complexo

de fatores VIII-IXa-X na cascata de coagulação, mais à frente referido (Jacobs & Towne, 2013).

Por último, temos a agregação plaquetária, resultando na ligação de plaquetas entre si (em oposição a adesão plaquetária onde as plaquetas aderem à vasculatura). A agregação ocorre pela ativação do recetor GP II_bIII_a. O fibrinogénio liga-se a este lugar, juntando as plaquetas e formando o coágulo, parando a hemorragia (Deloughery, 2004; Gale, 2011; Jacobs & Towne, 2013).

3.3.2 - Hemóstase Secundária

A hemóstase secundária consiste na formação de fibrina, através da cascata de coagulação de forma a estabilizar o coágulo, acontecendo ao mesmo tempo que a agregação plaquetária (Gale, 2011).

A cascata de coagulação sanguínea é o sistema responsável pela produção de fibrina através de uma sequência de ativações de glicoproteínas que circulam no plasma livremente, denominadas de fatores de coagulação. Estes fatores de coagulação encontram-se em forma de zimógeno ou proenzima, isto é, são precursores enzimáticos inativos que necessitam de uma alteração bioquímica ou ativação induzida por outrem (muitas vezes por parte de outro fator de coagulação) para que se tornem numa enzima ativa. A formação de fibrina pode ser iniciada quer por exposição de um vaso lesado ao sangue (extrínseca) ou por “blood-borne factors” (intrínseca) (Renné, Schmaier, Nickel, Blombäck, & Maas, 2012).

3.3.2.1. Via intrínseca

A via intrínseca de coagulação é iniciada pela fase de contacto, a qual integra a ação combinada do fator XII (FXII), precalicreína e do cininogénio de alto peso molecular, que em contacto com superfícies carregadas negativamente desencadeiam uma série de reações proteolíticas que resultam na ativação do fator XII (FXIIa), que por sua vez, irá ativar o fator XI (FXI > FXIa). O fator XII é tipicamente ativado por iões negativamente carregados. Para ativar a via intrínseca *in vitro*, o que se faz é expor o FXII a vidro ou outro composto rico em sílica como caulino ou celite, que são carregados negativamente. No entanto, *in vivo*, existem algumas substâncias que podem ter a mesma ação. O cininogénio de alto peso molecular, o fosfato inorgânico (PO₄⁻) secretado por plaquetas ativas, ou em caso de lesão, o colagénio subendotelial que é exposto ao sangue, todos estes ativam o FXII. O fator XIIa ativa o FXI convertendo-o

em FXIa, mas também converte precalicreína em calicreína, que exerce o seu papel no sistema fibrinolítico (Chiuso, Ferrari, & Santos, 2005; Farahany, 2014; Jacobs & Towne, 2013; Maas, Oschatz, & Renné, 2011).

Os mecanismos exatos envolvidos na ativação destes fatores pela fase de contato, não são completamente compreendidos na atualidade, no entanto, deficiências do FXII, precalicreína ou cininogénio de alto peso molecular demonstram condições assintomáticas. Estes resultados parecem indicar que a fase de contacto na ativação da coagulação *in vivo*, não é significativa (Gailani & Renné, 2007; Jacobs & Towne, 2013).

A segunda fase da via intrínseca resume-se à ativação do fator IX (FIX) pelo FXIa na presença de Ca^{2+} . FIXa combina posteriormente com os cofatores (FVIIIa, fator plaquetar 3) para converter o FX em FXa. A ativação do FIX pode ser feita pelo FXIa na presença de íões de cálcio, ou, pelo complexo formado por FT – FVIIa da via extrínseca. Uma vez formado FIXa, este juntamente com FVIIIa (ativado na presença de trombina) e Ca^{2+} , utilizam o fator plaquetar 3 como plataforma formando um complexo capaz de ativar o FX. A formação do FXa é o ponto de convergência final das vias intrínsecas e extrínsecas (Farahany, 2014; Gailani & Renné, 2007; Jacobs & Towne, 2013).

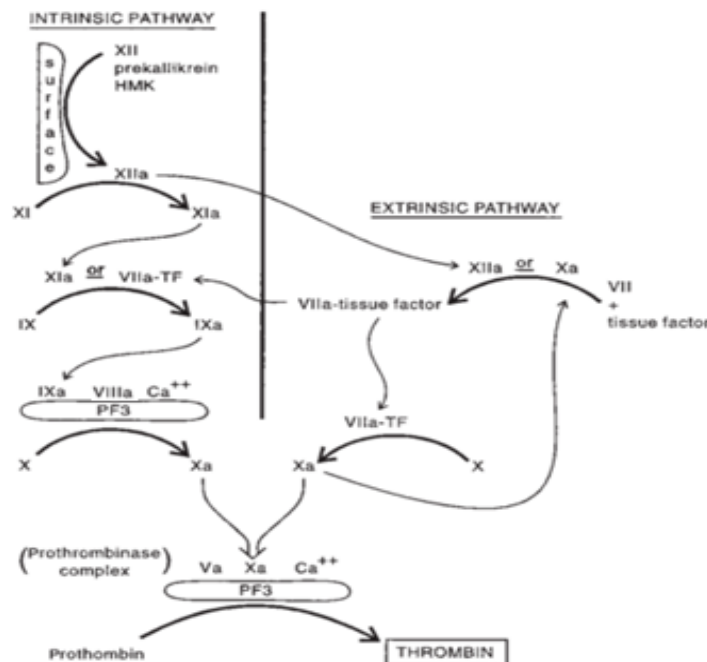


Figura 2 - Representação esquemática da cascata de coagulação sanguínea e respetivos fatores de coagulação, onde as letras romanas representam os fatores de coagulação e a junção da letra "a" representa a forma ativada dos mesmos (Jacobs & Towne, 2013).

3.3.2.2. Via Extrínseca

Esta via começa com o fator tecidual (FT – também denominado por fator III ou tromboplastina). Este fator é uma molécula transmembranar que se encontra na grande maioria das superfícies celulares exceto nas células sanguíneas e endoteliais. Desta forma, o sangue em condições normais nunca é exposto ao FT. No entanto em caso de trauma, o sangue que sai do vaso entra em contacto com o subendotélio, o qual ao expressar FT, promove o início da cascata de coagulação (Deloughery, 2004; Jacobs & Towne, 2013; O’Connell, 2013).

A partir deste momento segue-se uma pequena cadeia de ações, na qual o FT liga-se ao FVII formando um complexo entre os dois e ativando o FVII (FVIIa). Na presença de cálcio e fosfolípidos membranares, o complexo FT - FVIIa converte FX em FXa, que vai participar na formação do complexo protrombinase, marcando o primeiro passo da via comum (Deloughery, 2004; Jacobs & Towne, 2013).

3.3.2.3. Via Comum

Como é possível ver na Figura 2, a formação de trombina é feita através da clivagem de protrombina em trombina por ação combinada do fator Xa, fator Va e cálcio numa plataforma fosfolipídica formando o complexo protrombinase. Esta plataforma fosfolipídica é normalmente fornecida por plaquetas ativas na forma de fator plaquetar 3, mas podem ser dadas pelo tecido lesado, endotélio ou leucócitos, localizando assim este processo no local de lesão. Uma vez formada a trombina, esta irá participar em 4 processos. Os dois primeiros resumem-se à ativação dos fatores de coagulação V e VIII de forma a potenciar uma maior formação de trombina por feedback positivo. Os dois últimos traduzem-se na ativação do fator XIII (FXIII) e na conversão de fibrinogénio em monómeros de fibrina solúveis. Uma vez ativo, o FXIIIa converte os monómeros de fibrina solúveis em monómeros de fibrina insolúveis, criando ligações cruzadas (“*crosslink*”) entre eles de forma a criar uma rede, estabilizando o tampão plaquetário formado na hemóstase primária (Farahany, 2014; Jacobs & Towne, 2013).

Capítulo 4 – Plasma Humano e seus Derivados

4.1 - O Plasma

O Plasma é um líquido tecidual sendo o maior componente do sangue (55%). É constituído principalmente por água (92%), agindo como solvente a pH 7.4, e contém substâncias de diversos pesos moleculares que perfazem 7% do seu volume. Os componentes dissolvidos são maioritariamente proteínas plasmáticas, mas também se incluem nutrientes, gases respiratórios, hormonas e iões inorgânicos aos quais damos o nome de eletrólitos (Mescher, 2013).

Quanto às proteínas plasmáticas, destacam-se a albumina, por ser a proteína mais abundante no plasma e ter como função principal a regulação da pressão osmótica do sangue; as imunoglobulinas G com papel ativo no sistema imunitário; fibrinogénio e fatores de coagulação que desempenham um papel crucial na hemóstase. Uma vez recolhido pelo processo de doação, o plasma humano pode ser usado em transfusões como um produto terapêutico conhecido como plasma fresco congelado, ou, como material de fonte para a produção de produtos farmacêuticos fracionados, também chamados de derivados de plasma (Burnouf, 2007; Mescher, 2013; Shaz et al., 2013).

4.2 - Identificação dos Derivados do Plasma

4.2.1 - Albumina

A albumina é uma proteína plasmática, que representa mais de metade das proteínas totais presentes no soro (3,5-5 g/L), e tem um tempo de semi-vida médio de 18 a 21 dias. É sintetizada exclusivamente pelo fígado, a uma taxa de 150 a 250 mg/kg/dia em indivíduos saudáveis, resultando na produção de 10 a 18 g de albumina diária num indivíduo de 70 kg. Em condições fisiológicas normais, apenas 20 a 30% dos hepatócitos estão envolvidos na produção diária de albumina, havendo portanto, uma grande reserva funcional por parte do fígado, de modo a aumentar a síntese desta proteína por 3 a 4 vezes, se necessário (Bernardi, Maggioli, & Zaccherini, 2012; Falcão & Japiassú, 2011; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

A principal função da albumina é a regulação da pressão oncótica, uma forma de pressão osmótica mas exercida apenas por proteínas. Aproximadamente 30 a 40% do conjunto total de albumina corporal encontra-se no compartimento intravascular,

enquanto mais de metade se encontra no compartimento extravascular, localizando-se nos espaços intersticiais nomeadamente músculo e pele (Bernardi et al., 2012; Busher, 1990; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

Para perceber a importância deste facto é necessário rever o conceito de pressão osmótica, onde a água flui para os locais de maior osmolaridade, ou locais com maior concentração de solutos e proteínas. Como a albumina dificilmente atravessa a maioria dos capilares, esta permanece na corrente sanguínea, sendo responsável por cerca de 70 a 80% da pressão oncótica no plasma, evitando assim a perda de água para os espaços intersticiais. Na cirrose, por exemplo, o fígado encontra-se lesado e os hepatócitos deixam de produzir a quantidade de albumina necessária para a manutenção da pressão oncótica. Isto leva a uma menor concentração de albumina nos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, a uma fuga da água para os espaços intersticiais criando ascite, uma manifestação patológica caracterizada pela acumulação de líquidos na cavidade peritoneal. Sem esta propriedade osmótica, o sangue seria incapaz de reabsorver o fluido tecidual para as extremidades venosas dos capilares (Bernardi et al., 2012; Kasper et al., 2015; Mescher, 2013; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

Para além do balanço da pressão oncótica, a albumina apresenta funções como a de ligação, transporte e metabolismo de várias substâncias (por exemplo, iões, drogas e hormonas) no sangue, propriedades antioxidantes, modulação de óxido nítrico e manutenção da integridade vascular mas a sua importância na saúde e na doença são menos documentadas (Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014; Yang, Zhang, & Liang, 2014).

A albumina é a proteína em maior quantidade no plasma, no entanto tem outra propriedade que reforça a sua posição como proteína reguladora da pressão oncótica. Ela tem uma carga negativa que atrai e retém catiões no compartimento vascular, especialmente Na^+ . Este é o chamado efeito Gibbs-Donnan. A albumina liga-se também um número menor de iões Cl^- , que aumenta a sua carga negativa e a sua capacidade de reter iões Na^+ no interior dos capilares. Esta força osmótica aumentada faz com que a pressão osmótica seja 50% maior, do que seria por concentração proteica normal sozinha (Busher, 1990).

Relativamente às propriedades antioxidantes, estas estão relacionadas com a habilidade de a albumina se ligar a substâncias como o ferro, o cobre, o cromo e o níquel, reduzindo a disponibilidade destes compostos para reações pró-oxidantes. Estas ligações estão relacionadas com um grupo tiol exposto no resíduo de cisteína livre da albumina, que actua como um eliminador ou sequestrador de radicais livres. Este grupo tiol da albumina é também capaz de interagir com espécies reativas de oxigénio e de azoto, incluindo o óxido nítrico, um mediador vasodilatador chave em muitas doenças como a sepsis, mediando assim uma ação anti-inflamatória (Falcão & Japiassú, 2011; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

Em adição a estas ligações, a albumina também transporta múltiplas substâncias. Ulldemolins e colegas, em 2011, relataram que a ligação de albumina a antibacterianos, incluindo ceftriaxona, ertapenem, teicoplanina e aztreonam, era diminuída em pacientes com hipoalbuminémia, com valores anormalmente aumentados no volume de distribuição e “clearance” dos fármacos. Podendo-se afirmar assim, que alterações nas concentrações ou estrutura da albumina não só destabilizam a hemóstase como o metabolismo, transporte e eficácia de certos fármacos (Ulldemolins, Roberts, Rello, Paterson, & Lipman, 2012; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014; Yang et al., 2014).

A nível medicinal, as soluções de albumina sérica humana são obtidas através do fracionamento de “pools” de plasma. As medidas atuais no processamento e criação de medicamentos derivados do sangue ou plasma humano envolvem: a seleção de dadores; o controlo individual de cada dádiva assim como dos “pools” de plasma com marcadores específicos de infeção; e a realização de métodos de inativação e remoção viral, no processo de fabrico dos mesmos. A OMS afirma que não existe risco de transmissão de infeções virais se estes medicamentos forem corretamente fabricados, no entanto, tendo em conta a possibilidade de ocorrer um erro e do produto ser de origem humana, por muito controlo que seja feito, não se pode excluir na totalidade o risco de transmissão de doenças infecciosas. Podendo ser por um vírus ou um outro agente patogénico de natureza desconhecida (Infarmed, 2014c; World Health Organization, 2002).

Atualmente já existe produção de albumina recombinante. Nos ensaios clínicos conduzidos no Japão, Kobayashi concluiu que a albumina recombinante era virtualmente idêntica à albumina derivada do plasma humano. Em adição, traz grandes benefícios

visto que elimina ou reduz o potencial de transmitir agentes infecciosos. Um dos problemas que a indústria encontra é conjugar a produção em larga escala, de uma molécula estruturalmente complexa a um preço unitário acessível (Kobayashi, 2006).

Em Portugal são comercializadas preparações de albumina séricas humanas a 5% (50mg/ml) e a 20% (200mg/ml), existindo também de 25% (250mg/ml). Estas preparações não podem ser diluídas com água para injetáveis uma vez que pode ocorrer hemólise (Infarmed, 2015a; World Health Organization, 2002).

De acordo com a OMS, a albumina está indicada no tratamento de edemas diurético-resistentes em pacientes com hipoproteinémia, como no caso de síndrome nefrótica e ascite, especialmente no caso de ser necessário uma paracentese de grande volume. Embora a albumina, nomeadamente a 5%, seja utilizada por profissionais de saúde em situações como a de reposição de volumes, queimaduras e hipoalbuminémia, não há nenhuma evidência de que a eficácia desta seja superior aos cristaloides ou restantes coloides na substituição de volume plasmático aguda. Para além disso, a albumina é mais dispendiosa do que todos os outros fluidos de ressuscitação, determinando assim a necessidade de justificação para o seu uso (Infarmed, n.d.; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Ferrer, et al., 2014; World Health Organization, 2002).

No entanto estudos mais recentes como o de Bernardi et al., dizem que a capacidade da albumina em expandir o volume sanguíneo central na cirrose é superior a vários outros expansores. O uso combinado de vasoconstritores com albumina provou-se ser eficaz na reversão do síndrome hepatorenal. Vincent et al. referem que administração de albumina deve ser considerada em pacientes com cirrose e peritonite bacteriana espontânea e, em pacientes de choque hipovolémico com síndrome da angústia respiratória aguda. Outras situações como grandes queimados, e situações pós-operatórias de transplante de fígado com albumina sérica inferior a 2,5%, também são recomendadas a utilização imediata de albumina (Bernardi et al., 2012; Falcão & Japiassú, 2011; Kasper et al., 2015; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014)

O uso de albumina como fluido de ressuscitação em pacientes críticos com traumatismo craniano grave, é altamente desaconselhado visto haver uma maior taxa de mortalidade associada que na utilização de soluções salinas. É também contraindicado o uso de albumina em nutrições parentéricas devido à sua concentração insuficiente de

aminoácidos essenciais e alto custo monetário (Kasper et al., 2015; Liberati, Moja, Moschetti, Gensini, & Gusinu, 2006; Vincent, Russell, Jacob, Martin, Guidet, Wernerman, Roca, et al., 2014).

A administração de albumina pode levar ao aparecimento de efeitos adversos numa larga gama de sistemas de órgãos, sejam eles do foro imunitário, respiratório, gastrointestinal, cardiopatias, como também vasculopatias e perturbações gerais e alterações no local de administração. Estes efeitos manifestam-se sobre a forma de reações anafiláticas e hipersensibilidade, dispneia, náuseas, taquicardia, hipotensão e febre e arrepios (Infarmed, 2014c).

A sobredosagem pode originar hipervolemia, na qual a perfusão terá de ser imediatamente interrompida. Sinais de sobrecarga cardiovascular podem ser descritos por cefaleias, dispneia e congestão da veia jugular, assim como o aumento da pressão sanguínea, pressão venosa central e edema pulmonar (Infarmed, 2014c).

O transporte e a conservação de albumina deve ser feito ao abrigo da luz a temperaturas inferiores a 25°C, com cuidado para não congelar o produto. Se estes requisitos forem correspondidos, o prazo de validade dos injetáveis será de 3 anos. Existem no entanto, alguns produtos que devem ser armazenados entre 2 a 8°C com um prazo de validade variável entre 3 a 5 anos, quando mantidos nestas condições (Infarmed, 2014c, 2015a).

4.2.2 - Fatores de Coagulação

4.2.2.1. Fator I

O Fator I (FI) ou fibrinogénio é uma glicoproteína plasmática produzida no fígado, a terceira mais abundante no plasma, com uma concentração plasmática que varia entre os 150 a 400 mg/dL, aumentando com a idade do indivíduo, e um tempo de semi-vida de 4 a 6 dias (Bertolini, Goss, & Curling, 2013; Lupin, Amesse, Aubin, Baillargeon, & Lacroix, 2004; Monroe, Hoffman, & Roberts, 2010).

O fibrinogénio é constituído por 6 cadeias polipeptídicas agrupadas em três pares (α , β e γ) ligadas entre si por pontes dissulfeto. O terminal carboxilo de cada cadeia α , β e γ , serve como unidade de reconhecimento molecular, essencial em interações proteína – proteína. Enquanto no terminal –N da cadeia α e β , existe uma pequena sequência de péptidos a que chamamos fibrinopeptídeos A e B respetivamente, sendo estes responsáveis por prevenirem a formação de polímeros de fibrinogénio entre si. O fibrinogénio quando hidrolisado pela trombina perde estes fibrinopeptídeos, transformando-se em fibrina a qual se vai polimerizar em forma de rede, capaz de reter eritrócitos, plaquetas e entre outros, formando o coágulo que vai ser estabilizado mais tarde pelo Fator XIII (Bertolini et al., 2013; Forsberg & Martin, 1991; Lupin et al., 2004; Saldanha, 1996; Stoller, Michota, & Mandell, 2009; Turgeon, 2010).

O gene que codifica o FI localiza-se no cromossoma autossómico 4, o qual pode apresentar certas mutações levando ao desenvolvimento de deficiências de fibrinogénio. Estas deficiências podem-se manifestar como disfibrinogenemia (qualitativa), afibrinogenemia e hipofibrinogenemia (quantitativa). As deficiências quantitativas são designadas de tipo I e são herdadas por transmissão de genes autossómicos recessivos, enquanto as de qualitativas são tipo II e são geralmente autossómicas dominantes. Todas elas potenciam episódios hemorrágicos, que embora precoces, serão na generalidade pós-traumáticos (Lupin et al., 2004; Saldanha, 1996; Vorjohann et al., 2013).

4.2.2.2. Fator II

O fator II (FII) ou protrombina é uma glicoproteína produzida no fígado dependente da vitamina K para a sua síntese, com um tempo de semi-vida aproximado de 65 horas e uma concentração plasmática de 10 a 15 mg/dl. Na presença de cálcio ionizado, a protrombina é convertida em trombina pela acção enzimática do complexo de protrombinase (Hoffbrand & Moss, 2012; O'Connell, 2013; Turgeon, 2010).

4.2.2.3. Fator IIa

A trombina, forma ativa da protrombina, é uma enzima que está presente na via comum da cascata de coagulação. A geração de trombina in vivo, é uma rede complexa de amplificação e “*feedback*” negativo dos ciclos (feito através da libertação de proteína C) para garantir uma produção localizada e limitada da mesma. Esta para além da sua função principal na formação de fibrina, também gera múltiplos efeitos sobre plaquetas, endotélio e vias de anticoagulação (Hoffbrand & Moss, 2012; Jacobs & Towne, 2013; Turgeon, 2010).

4.2.2.4. Fator III

O Fator III (FIII) ou tromboplastina tecidual é o termo dado a toda a substância não plasmática contendo complexos lipoproteicos de origem tecidular. Estes podem originar do cérebro, pulmões, rins, fígado e nos grandes vasos a nível subendotelial. É um fator tecidular (FT) que em caso de lesão vascular é libertado para o plasma, onde actua directamente no sistema de coagulação (Hoffbrand & Moss, 2012; Turgeon, 2010).

4.2.2.5. Fator IV

O fator IV (FIV), ou cálcio ionizado (Ca^{2+}), é a forma fisiologicamente ativa do cálcio no corpo humano. Apenas pequenas quantidades são necessárias para ocorrer coagulação, no entanto não deixa de ser essencial a sua presença na ativação de múltiplos fatores de coagulação. Na presença de anticoagulantes, como o EDTA, citrato ou fluoreto de sódio, o cálcio ionizado é bloqueado por quelação paralisando a cascata de coagulação. Aplicação especialmente útil para exames hematológicos de forma a preservar os componentes celulares do sangue (Pimenta, 2011; Turgeon, 2010).

4.2.2.6. Fator V

O Fator V (FV) ou proacelerina é uma proteína globular termolábil sintetizada no fígado, com um tempo de semi-vida de 16 horas. O FV é consumido na sua totalidade no processo de coagulação. A sua função principal é agir como cofator no complexo de protrombinase ajudando na formação da trombina (Jacobs & Towne, 2013; Turgeon, 2010).

4.2.2.7. Fator VII

O Fator VII (FVII), ou proconvertina, é uma glicoproteína produzida no fígado e é vitamina K – dependente. A concentração plasmática de FVII é de 2 mg/dl com um tempo de semi-vida de 4 a 6 horas (Hoffbrand & Moss, 2012).

Apenas cerca de 2% de todo o FVII circulante se encontra na forma ativa, mas só quando se liga ao fator tecidual é que expressa atividade proteolítica. A sua função é a ativação do FT e complexar-se com o mesmo, ativando posteriormente o FIX e FX (Hoffbrand & Moss, 2012).

O gene que codifica o FVII encontra-se no cromossoma 13 (13q34). A redução da sua concentração plasmática é manifestada através de uma rara doença hereditária autossômica recessiva que atinge 1 em cada 300 a 500 mil pessoas. A frequência desta doença é significativamente mais alta em zonas onde o casamento consanguíneo é praticado (Perry, 2002).

4.2.2.8. Fator VIII

O fator VIII (FVIII) é uma glicoproteína essencial na via de coagulação intrínseca, estabelecido atualmente como sendo o cofator do FIX ativado no complexo de ativação do FX da via intrínseca da coagulação. O seu gene está situado no cromossoma X e este é sintetizado no fígado e nas células endoteliais, tendo um tempo de semi-vida aproximado de 10 horas. O FVIII circula como um complexo firmemente ligado não covalentemente, ao fator de von Willebrand, sendo o FVIII/FvW um dos maiores complexos proteicos existentes (Bertolini et al., 2013; Lenting, van Mourik, & Mertens, 1998).

Este fator é um reagente de fase aguda, consumido durante o processo de coagulação e não é encontrada no soro. O fator VIII é extremamente lábil, com uma perda de 50% no prazo de 12 horas a 4 ° C *in vitro* e uma perda semelhante de 50% *in vivo*, dentro de 8 a

12 horas após a transfusão. Quando produzido e secretado pelos hepatócitos. O FVIII requer uma ligação imediata com o FvW, que haze como estabilizador da estrutura heterodinâmica do FVIII. A relevância fisiológica da formação do complexo é particularmente evidente em pacientes com doença de von Willebrand, cuja falta ou deformação do FvW, manifesta no paciente não só uma deficiência secundária de fator VIII, mas também um tempo de semi-vida consideravelmente reduzido do FVIII, quando administrado por via intravenosa (Bertolini et al., 2013; Lenting et al., 1998; Miao et al., 2004; Turgeon, 2010).

Deficiências quantitativas ou qualitativas do FVIII resultam em distúrbios hemorrágicos hereditários – Hemofilia A, e por esse motivo, o FVIII é também designado como Fator Anti-Hemofílico. A hemofilia A pode ter origem adquirida ou congênita, pelo que é uma doença hemorrágica hereditária recessiva ligada ao cromossoma X (localização do gene do FVIII) que representa cerca de 80% da população hemofílica, afetando 1 em cada 5000 homens. A classificação de hemofilia A varia conforme o nível de antigénio (FVIII:Ag) e/ou atividade coagulante (FVIII:C), sendo os níveis normais considerados de 1 UI/ml e 100%, respetivamente. De acordo com a International Society of Thrombosis, a hemofilia A é considerada como grave, moderada e leve, sendo os níveis padrão de cada classificação $< 0,01\text{UI/ml}$ ou $< 1\%$, $0,01\text{-}0,05\text{UI/ml}$ ou $1\text{-}5\%$, e $> 0,05$ e $< 0,40\text{IU/ml}$ ou $> 5\%$ a $< 40\%$, respetivamente (Coppola, 2010; Konkle, Josephson, & Fletcher, 2014; Ministério da Saúde (Brasil), 2009; Turgeon, 2010).

Em pacientes mais graves, as primeiras hemorragias ocorrem antes do segundo ano de vida, sendo que as manifestações características desta doença se dão pela forma de hematomas e hemartroses, podendo também ocorrer hematúria, epistaxe, hematémese e sangramentos internos a nível da cavidade abdominal, torácica, retroperitoneal e intracraniana. A longo prazo, a repetição destas patologias, nomeadamente as hemartroses, tem como consequência o desenvolvimento de sequelas motoras, contraturas e deficiências físicas em geral (Coppola, 2010; Konkle et al., 2014).

O diagnóstico laboratorial da hemofilia é feito com o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) para a determinação de FVIII:C (ou FIX no caso de hemofilia B) e pesquisa e quantificação de inibidores pelo teste Bethesda (Ministério da Saúde (Brasil), 2010).

A hemofilia não tem cura e a base do seu tratamento consiste na infusão de concentrados do fator deficiente, seja de origem plasmática ou recombinante. Uma complicação decorrente, e a mais temida no tratamento de hemofilia, é o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes da função coagulante dos fatores infundidos, mais geralmente conhecidos por inibidores. Este acontecimento dificulta a indução de hemostasia terapêutica, e deve-se fazer um doseamento dos mesmos, para que uma melhor aplicação terapêutica possa ser feita, seja por indução de tolerância imunológica (ITI) ou “agentes *bypass*” (Chaves & Rodrigues, 2008).

4.2.2.9. Fator Von Willebrand

O FvW é uma glicoproteína plasmática, codificada por um gene no cromossoma 12, com um tempo de semi-vida aproximado de 12 horas. É sintetizado principalmente no endotélio vascular, sendo posteriormente armazenado nos corpos de Weibel-Palade. Estes podem libertá-lo quando induzidos por stresse ou fármacos como a desmopressina. O outro tipo de célula produtora deste fator é o megacariócito na medula óssea, sintetizando cerca de 15 % de todo o FvW circulante, armazenando o FvW nos grânulos alfa das plaquetas (Hoffbrand & Moss, 2012; NHLBI, 2007; Turgeon, 2010).

Este fator desempenha dois grandes papéis na hemóstase: primeiro como molécula de adesão principal, promove a adesão das plaquetas ao subendotélio exposto, com sítios de ligação para o FVIII, GP_{Ib}, glicosaminoglicanos, heparina e colagénio; segundo, como proteína transportadora do fator VIII, protege o FVIII da degradação proteolítica no plasma, resultando num prolongamento significativo do seu tempo de semi-vida na circulação e, assim contribuindo indiretamente para o processo de coagulação (Bertolini et al., 2013; Hoffbrand & Moss, 2012; Kasper et al., 2015; Turgeon, 2010).

A doença de von Willebrand (DvW) é uma doença hereditária autossómica dominante, com mutação no cromossoma 12, que se define por defeitos na concentração ou estrutura e função do FvW. É conhecida por ser um dos distúrbios hemorrágicos hereditários mais comuns no ser humano. Embora a incidência exata seja difícil de determinar uma vez que as formas mais leves da doença muitas vezes não são clinicamente reconhecidas, diferentes estudos estimaram ter uma prevalência de 0,1 a 1% na população geral (Bertolini et al., 2013; Kasper et al., 2015; Turgeon, 2010).

A doença de von Willebrand é classificada em três tipos principais, sendo a sua classificação e propriedades de cada tipo demonstradas nas Tabelas 2 e 3. O tipo 1, o mais comum representando cerca de 80% dos casos, descreve-se por uma redução dos níveis proteicos de FvW e, conseqüentemente, na atividade de FvW e FVIII. Os pacientes do tipo 2 caracterizam-se por deficiências funcionais do FvW, dividindo-se em 4 subcategorias: 2A, 2B e 2M com atividade diminuída na ligação a plaquetas e ao colagénio por parte do FvW, e 2N afetando a ligação ao FVIII. A doença de von Willebrand tipo 3, ou severa, descreve pacientes com ausência praticamente completa de FvW e níveis de FVIII <10%, os quais apresentam maior pré-disponibilidade em desenvolver inibidores na terapia de reposição de FvW. Além disso, devido à grave carência de FVIII, hematomas, hemartroses e outros tipos de hemorragias profundas, têm maior probabilidade de ocorrer (Bertolini et al., 2013; Kasper et al., 2015; NHLBI, 2007; Turgeon, 2010).

Tabela 2 - Classificação da doença de von Willebrand (traduzido e adaptado de NHLBI, 2007)

Tipo	Descrição
1	Deficiência quantitativa parcial de FvW
2	Deficiência qualitativa de FvW
2A	Diminuição da adesão plaquetar FvW-dependente, com deficiência seletiva dos multímeros de alto peso molecular
2B	Afinidade aumentada para as plaquetas GPIB
2M	Diminuição da adesão de plaquetar FvW-dependente, sem deficiência seletiva dos multímeros de alto peso molecular
2N	Diminuição acentuada da afinidade de ligação para o FVIII
3	Deficiência quantitativa praticamente completa de FvW

Tabela 3 - Herança, prevalência e propensão de sangramento em pacientes com DvW (traduzido e adaptado de NHLBI, 2007)

Tipo	Herança	Prevalência	Propensão ao Sangramento
Tipo 1	Autossômica Dominante	Até 1%	Ligeira a moderada
Tipo 2A	Autossômica Dominante (ou Recessiva)	Incomum	Variável: normalmente moderada
Tipo 2B	Autossômica Dominante	Incomum	Variável: normalmente moderada
Tipo 2M	Autossômica Dominante (ou Recessiva)	Incomum	Variável: normalmente moderada
Tipo 2N	Autossômica Recessiva	Incomum	Variável: normalmente moderada
Tipo 3 (severo)	Autossômica Recessiva	Raro (de 1:250,000 a 1:1,000,000)	Acentuado (sangramento severo)

Os pacientes afetados com a doença de von Willebrand sofrem facilmente de hemorragias mucocutâneas como equimoses, epistaxe, hemorragias gengivais (especialmente em procedimentos cirúrgicos) e nas mulheres, menorragia. A hemorragia da mucosa após extração dentária é o tipo de hemorragia pós-operatória mais frequente, e no tipo 3, é frequente o aparecimento de hemorragias gastrointestinais e hemartroses. No entanto em casos mais grave, com carência de FVIII, podem-se apresentar hemorragias internas como hemartroses, hematomas intramusculares e manifestações semelhantes à hemofilia. Um dos ensaios usados como diagnóstico é a atividade do cofator da ristocetina (FvW:CofR), uma vez que ajuda na diferenciação entre a DvW e a hemofilia A. Este exame avalia a função da interação do antígeno do FvW com as plaquetas, permitindo que este induza a aglutinação plaquetária na presença do antibiótico ristocetina. Em termos de resultados, apresentam-se diminuídos, em quase todos os casos da DvW enquanto se mostram normais na hemofilia A. (Bertolini et al., 2013; João, 2001; Kasper et al., 2015; NHLBI, 2007).

A base do tratamento na prevenção ou controlo de hemorragias em pacientes com DvW segue-se em tres abordagens. A primeira é aumentar os níveis de FvW plasmáticos, utilizando desmopressina, estimulando a libertação de FvW por parte das células endoteliais. Esta é a terapêutica ideal para paciente com DvW tipo 1. A segunda abordagem é a terapia de reposição através da utilização de concentrados de FvW humano previamente tratados e inativados viralmente para repor os níveis de FvW. Podem ser utilizados medicamentos de concentrados plasmáticos ou crioprecipitados, embora se tente evitar o último devido à possibilidade de acarretar riscos de infeção viral. Em paciente com DvW tipo2, esta terapêutica costuma dar melhores respostas. A terceira estratégia emprega agentes que promovem a hemóstase e a cicatrização de feridas, mas que não alterem substancialmente a concentração plasmática de FvW, como o uso de antifibrinolíticos e agentes tópicos. As três opções de tratamento não são mutuamente exclusivas, ou seja, os pacientes podem receber qualquer uma ou todas as três classes de agentes ao mesmo tempo. Por exemplo, em paciente com DvW tipo 3 é comum conjugar um concentrado ou crioprecipitado com desmopressina. A adequação da escolha terapêutica depende do tipo e gravidade da DvW, e da natureza da hemorragia real ou potencial. A utilização de fator von Willebrand recombinante encontra-se agora na fase II de ensaios clínicos, podendo ser uma opção terapêutica no futuro. Contracetivos orais, como o estrogénio, podem ser utilizados para controlar a

menorragia, no caso das mulheres. Pessoas com DvW devem evitar aspirinas, AINEs e outros fármacos que interfiram com a função plaquetar (João, 2001; Kasper et al., 2015; NHLBI, 2007).

De momento em Portugal são comercializados dois medicamentos com a combinação de FVIII e FvW, sendo estes o Wilate da Octapharma e, o Haemate P da CSL Behring. Estes concentrados apresentam-se sob a forma de pó liofilizado a ser dissolvido no respetivo solvente de forma a ser administrado como injetável. A utilização destes medicamentos está indicada na profilaxia e tratamento de hemorragias, incluindo as cirúrgicas, provocadas pela falta de FvW quando o uso de desmopressina por si só é ineficaz ou contraindicado, assim como no tratamento de hemofilia A (Infarmed, 2011a, 2011b).

As reações adversas são raras mas incluem alergia e reações anafiláticas como urticária, aperto de peito, prurido e edema. Caso tais sintomas apareçam, a infusão deve ser parada e o paciente deve ser assistido. Estes produtos devem ser utilizados com cuidado em pacientes com fatores de risco a trombose, e monitorizar os níveis de FVIII, visto terem sido reportados casos de tromboembolismo venoso associados a altas concentrações de FVIII (CSL Behring, 2014; Infarmed, 2011a, 2011b; NHLBI, 2007).

O cofator de Ristocetina (FvW:CofR) avalia os níveis de interação entre o FvW do paciente e plaquetas normais. Em termos de posologia, a administração de 1 UI/kg de FvW:CofR/kg consegue aumentar os níveis plasmáticos de FvW:CofR em 0,02 UI/ml (2%). Para se atingir uma hemóstase estável devem ser alcançados níveis superiores a 0,6 UI/ml (60%) de FvW:CofR e níveis superiores a 0,4 UI/ml (40%) de FVIII:C. Para tal, recomenda-se 40 a 80 UI de FvW:CofR/kg e 20-40 UI de FVIII:C/kg (CSL Behring, 2014; Infarmed, 2011a, 2011b; NHLBI, 2007).

Como condições de armazenamento e transportes, estes medicamentos necessitam de estar ao abrigo da luz, a uma temperatura de 2 a 8°C sem serem congelados. Em tais condições o prazo de validade atinge os 3 anos, sendo reduzido para 2 meses se os produtos forem armazenados a temperaturas até 25°C. Após reconstituição do produto em condições de assepsia e, a uma temperatura de 25 °C, este deve ser administrado num período de 24 horas ou descartado no final das mesmas (Infarmed, 2011a, 2011b).

4.2.2.10. Fator IX

O fator IX (FIX) de coagulação humana é uma proteína, vitamina K dependente, muito estável, que não é nem consumida durante a coagulação nem destruída por envelhecimento quando conservada a 4°C durante 2 semanas. É codificada por um gene no cromossoma X, sintetizada no fígado e libertada para a circulação na sua forma inativa. Apresenta níveis plasmáticos entre os 3 a 5 mg/L com um tempo de semi-vida de 24 horas (Bertolini et al., 2013; Hoffbrand & Moss, 2012; Kasper et al., 2015).

O fator IX é ativado tanto pela via extrínseca como intrínseca. Na primeira, pela ação conjunta do fator tecidual com o FVIIa, enquanto na segunda por FXIa. Por sua vez, FIXa ativa FVIII, e os dois juntamente com Ca^{2+} , agem como cofatores numa superfície fosfolipídea (normalmente nas plaquetas – fator plaquetar 3) para ativar o fator X e posteriormente formarem trombina com o auxílio do FVa (Gailani & Renné, 2007; Jacobs & Towne, 2013).

A hemofilia B é um distúrbio hemorrágico hereditário autossômico recessivo, causado pela deficiência ou ausência do fator de coagulação IX. É clinicamente indistinguível da hemofilia A, podendo apenas ser diferenciada por testes laboratoriais, sendo também conhecida por doença de Christmas em nome do primeiro paciente descrito com esta doença. Tal como a hemofilia A, apresenta como sintomas a facilidade de desenvolver hematomas durante a infância, hemorragias excessivas após trauma ou cirurgia, particularmente nas articulações, músculos e tecidos moles. A classificação da Hemofilia B grave, apresenta valores de FIX:Ag menores ou iguais a 1 UI/dl, na moderada entre 1 a 5 UI/dl e na leve entre 5 a 30 UI/dl (Coppola, 2010; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013; Turgeon, 2010).

4.2.2.11. Fator X

O fator X (FX), também conhecido por fator de Stuart, é uma glicoproteína vitamina K – dependente, sintetizada no fígado. O seu tempo de semi-vida compreende um intervalo de aproximadamente 40 horas, e uma concentração plasmática de 1 mg/dl. O fator X quando ativado, juntamente com o fator Va na presença de íões de cálcio e uma plataforma fosfolipídica, formam o complexo protrombinase da via comum, através do qual os produtos de ambas as vias, extrínseca e intrínseca, se fundem para converter protrombina em trombina (Hoffbrand & Moss, 2012; Turgeon, 2010).

4.2.2.12. Fator XI

O fator XI (FXI) é uma proteína sintetizada no fígado com um tempo de semi-vida de 45 horas e uma concentração plasmática de 0.5 mg/dl. A sua função é desempenhada na fase de contacto da via intrínseca (Hoffbrand & Moss, 2012; Turgeon, 2010).

A hemofilia C, caracterizada pela diminuição de FXI, é uma alteração genética localizada no cromossoma 4, não está ligada ao sexo como no caso da hemofilia A e B. Este tipo de hemofilia pode afetar ambos os sexos e tanto um homozigótico como um heterozigótico apresentam os níveis plasmáticos de FXI baixos. Esta mutação genética resulta na alteração da tirosina pela cisteína, o que caracteriza a presença desta patologia. Para se considerar que há um défice dos níveis de FXI, este deve estar abaixo de 20 UI/dl. Na maioria dos casos, a hemofilia C não é diagnosticada, somente quando os doentes têm hemorragias graves ou quando submetidos a procedimentos cirúrgicos. Esta patologia não é muito conhecida por não ser necessário implementar uma terapêutica. A terapêutica é apenas necessária em situações pontuais, como no caso de cirurgias onde se recorre à administração de plasma fresco concentrado (PFC) (Bertolini et al., 2013; Coppola, 2010; Ministério da Saúde (Brasil), 2010).

4.2.2.13. Fator XII

O fator XII (FXII) é uma proteína plasmática que quando na sua forma ativa faz parte da classe de enzimas serina proteases, com um tempo de semi-vida aproximado de 50 horas. Tem o nome de fator Hageman ou de fator de contacto, visto que inicia a via intrínseca após contacto com superfícies negativamente carregadas, seja através do fosfato inorgânico (PO_4^-) secretado pelas plaquetas ou da ação conjunta do colagénio subendotelial exposto ao sangue e o cininogénio de alto peso molecular (Maas et al., 2011; O'Connell, 2013; Turgeon, 2010).

4.2.2.14. Fator XIII

O fator XIII (FXIII) é uma transglutaminase denominada por fator estabilizador de fibrina. Tem um tempo de semi-vida compreendido entre 7 a 10 dias e uma concentração plasmática de 10 a 22 $\mu\text{g/ml}$. É ativada pela trombina e produz ligações covalentes cruzadas (efeito *crosslink*) nos monómeros de fibrina solúveis, de forma a produzir um coágulo estável, mais forte e resistente à fibrinólise (Bertolini et al., 2013; Hoffbrand & Moss, 2012; Pacheco Leal, 2004).

O FXIII é uma molécula tetramétrica composta por duas subunidades catalíticas A, e duas subunidades transportadoras/inibidoras B. Cerca de 50% de toda a atividade estabilizadora de fibrina no sangue, encontra-se nas plaquetas sobre a forma de subunidades A. Estas são hidrofóbicas e são sintetizadas na medula óssea por monócitos e megacariócitos, mas também por hepatócitos. A subunidade B é sintetizada no fígado e é segregada em forma de monómero que se liga à subunidade catalítica A no plasma, com a função de portadora da mesma (hidrofilica). As suas localizações genómicas encontram-se divididas em dois cromossomas diferente, enquanto a sua subunidade A encontra-se transcrita no cromossoma 6, a subunidade B encontra-se no cromossoma 1 (Ariëns et al., 2011; Bertolini et al., 2013; O'Connell, 2013; Shaz et al., 2013).

A ativação do fator plaquetar XIII pela trombina é muito rápida. Em contraste, existe uma fase lag entre a clivagem da trombina e a expressão do FXIII plasmático. Esta fase lag na ativação representa o tempo que leva para as subunidades B, se dissociarem do FXIIIa plasmático, a qual ocorre com a presença de Ca^{2+} . A dissociação das subunidades B é necessária para expor o local ativo do fator XIII: subunidade A (Ariëns et al., 2011).

A deficiência de FXIII está associada a hemorragias graves. É a doença de deficiência plaquetar mais rara, afetando aproximadamente 1 em cada 2 a 3 milhões de pessoas. Embora a incidência pareça mostrar uma variação de resultados entre diferentes populações, esta pode ocorrer devido a diferenças regionais relativamente à consciência da doença e diagnóstico da mesma. O distúrbio pode ocorrer em homens e mulheres e é herdada de forma autossómica recessiva. Assim, os indivíduos podem ser portadores do gene defeituoso e não apresentar deficiências de Fator XIII. Têm sido relatadas mutações espontâneas em indivíduos de famílias não afetadas, e deficiências secundárias as quais podem ocorrer devido ao desenvolvimento de anticorpos. A forma mais grave da doença (definida como atividade do fator XIII inferior a 1% da do plasma normal) é caracterizada por aborto espontâneo, hemorragia umbilical perinatal com risco de vida e hemorragia intracraniana. Sangramento de outros tecidos moles, articulações e músculos, e má cicatrização de feridas também podem ocorrer (Bertolini et al., 2013).

O fator XIII é agora conhecido por ter especificidades mais amplas, com investigadores recentes demonstrarem haver outros substratos com os quais o fator XIIIa interage. Estes incluem proteínas como a osteopontina, FV, colagénio, fibronectina,

trombospondina, vinculina, e recetores de células endoteliais avb3 e VEGFR-2. Estas observações sugerem que a enzima tem uma ampla gama de funções fisiológicas na angiogénese, reparação de tecidos e no desprendimento da placenta durante a gravidez, bem como papéis patológicos em aterosclerose, esclerodermia e inflamação (Bertolini et al., 2013).

4.2.3 - Proteínas anticoagulantes

As proteínas anticoagulantes, embora não referidas no capítulo da hemóstase, desempenham um grande papel na regulação da coagulação, limitando os efeitos da trombina e dos fatores de coagulação ao local da lesão de forma a evitar uma coagulação excessiva e disseminada (Hoffbrand & Moss, 2012).

4.2.3.1. Proteína C humana

A proteína C é uma glicoproteína plasmática da família serina protéase, codificada pelo gene PROC do cromossoma 2, com uma concentração plasmática de 4 µg/dl. A sua função de anticoagulante só é desempenhada após prévia ativação por parte da trombina, a qual é feita principalmente na superfície das células endoteliais através de um mediador chamado trombomodulina. Uma vez ativa, a proteína C ganha a habilidade de clivar e inativar os fatores V e VIII ativados, reduzindo assim a produção de trombina adicional. Esta reação anticoagulante é acelerada na presença da proteína S que, assim como a proteína C, são as duas vitamina K dependentes e sintetizadas no fígado (Hoffbrand & Moss, 2012; Kasper et al., 2015; Knoebl, 2008).

A deficiência quantitativa ou qualitativa de qualquer uma destas proteínas (ou mutação nos locais de ação da proteína C, nomeadamente, FV) traduz-se numa maior predisposição a trombozes e estados de hipercoagulabilidade. A deficiência hereditária de proteína C é autossómica dominante. Pacientes homozigóticos são raros, com uma incidência de 1 em cada 500 000 a 750 000 pessoas. A homozigosidade desta deficiência está associada a uma deficiência grave com uma condição denominada por púrpura fulminante neonatal, geralmente fatal. A prevalência de heterozigosidade na população é de 1 em 200 a 300 pessoas, as quais apresentam concentrações de proteína C, menor ou iguais que 50% do normal. Cerca de 75% dos heterozigóticos apresentam eventos trombóticos venosos, podendo ser espontâneos (70%), ou associados a fatores de risco (30%) como gravidez, terapia hormonal ou cirurgia. Um em cada 20 pacientes

com tromboembolismo venoso acusa deficiência heterozigótica da proteína C. (Jacobs & Towne, 2013; Kasper et al., 2015; Knoebl, 2008; Turgeon, 2010).

A deficiência de proteína C apresenta-se sob duas formas: deficiência quantitativa e qualitativa, onde a primeira é geralmente a mais comum e fácil de diagnosticar. A deficiência de proteína C também pode ser adquirida, sendo principalmente associada a doenças hepáticas visto que o fígado é a fonte da sua síntese. A diminuição desta proteína tem sido relatada na coagulação intravascular disseminada, no síndrome de angústia respiratória aguda, e em pós-operatório (Jacobs & Towne, 2013; Knoebl, 2008).

Outra forma conhecida de deficiência de proteína C é a da necrose induzida por varfarina. Quando a varfarina (anticoagulante oral antagonista da vitamina K), é administrada num paciente com baixos níveis de proteína C, um estado de hipercoagulabilidade paradoxal pode ser induzido. Este acontecimento pode ser explicado pelo reduzido tempo de semi-vida da proteína C (6-8h), cujos níveis baixam muito antes da depressão da protrombina e dos restantes fatores de coagulação vitamina K-dependentes, que têm tempos de semi-vida que podem chegar a mais de 3-4 dias. Assim, por um curto período de tempo, existe perda do efeito anticoagulante da proteína C antes da inibição da via de coagulação, durante o qual o paciente sofre de um estado de hipercoagulabilidade. Para prevenir estes casos recorre-se à utilização de heparina antes e durante a administração inicial de varfarina, ou com suplementação de concentrado de proteína C. A heparina liga-se à antitrombina III, a qual posteriormente inicia um processo de inativação de trombina e outras protéases envolvidas na coagulação nomeadamente o FXa, controlando assim a hipercoagulabilidade (EMA, 2007; Infarmed, 2006; Jacobs & Towne, 2013; Kasper et al., 2015; Knoebl, 2008).

Em casos de deficiência de proteína C ligeira, a terapêutica ideal será o uso de heparina de baixo peso molecular. Em casos de recorrência de eventos tromboembólicos, deve-se aumentar a dose de heparina e iniciar lentamente uma sobreposição da terapêutica por varfarina. Nos casos mais graves de púrpura fulminante e necrose da pele induzida pela cumarina, deve utilizar o concentrado de proteína C (Kasper et al., 2015; Knoebl, 2008).

De momento, o Ceprotin da Baxter A.G. é o único concentrado de proteína C humana comercializado em Portugal com concentrações de 500 UI e 1000 UI. O armazenamento e transporte deste fármaco deve ser feito entre 2 a 8°C (não congelar) ao abrigo da luz,

tendo um prazo de validade de 2 anos se cumprir estes critérios. Pode ser também armazenado a temperaturas inferiores a 25°C, sob as quais terá um prazo de validade de 6 meses (EMA, 2007; Infarmed, 2015a).

4.2.3.2. Antitrombina III

A antitrombina III (AT-III) é uma glicoproteína codificada por um gene no cromossoma 1. É sintetizada principalmente no fígado e tem uma concentração plasmática de cerca de 150 µg/mL. É considerada como o principal inibidor fisiológico da trombina e do FXa, aos quais se liga covalentemente, formando um complexo estável e inibindo-os de forma irreversível. Adicionalmente também é conhecida por inibir outras serina-proteases como os fatores IXa, XIa, XIIa e apresentar propriedades anti-inflamatórias e anti-agregadoras mediadas através da libertação da prostaciclina das células endoteliais (Bertolini et al., 2013; Liumbruno, Bennardello, Lattanzio, Piccoli, & Rossetti, 2009b; Turgeon, 2010).

A função inibitória da AT-III é por norma um processo lento, o qual pode ser catalisado na presença de heparina. A sua ligação com AT-III conduz a um aumento dramático na capacidade formadora de complexos com a trombina e restante serina-proteases, acelerando o processo num fator de 1000. Em condições normais a AT-III apresenta um tempo de semi-vida de 65h, no entanto em condições de deficiência adquirida e ou na presença de heparina, o tempo de semi-vida é consideravelmente mais curto, podendo ser reduzido a apenas algumas horas (Deloughery, 2004; Kasper et al., 2015; Turgeon, 2010).

A diminuição da concentração de AT-III aumenta o risco de desenvolvimento de doenças trombóticas em várias situações clínicas nomeadamente na gravidez, na terapia hormonal e em cirurgias. Esta deficiência de AT-III é herdada de forma autossómica dominante com a prevalência de 1 em cada 2000 a 5000 pessoas, onde a herança autossómica é fatal à nascença. Pode-se ser caracterizada em defeito quantitativo, onde a concentração de AT-III é menor que 70% normal; ou defeito qualitativo, onde os níveis se mostram normais mas existe redução da sua atividade funcional (Hoffbrand & Moss, 2012; Jacobs & Towne, 2013; Kasper et al., 2015).

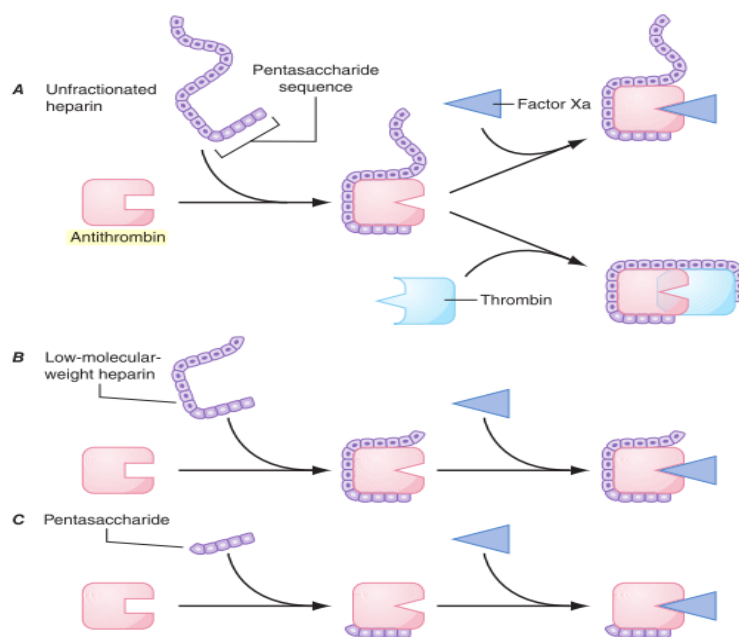


Figura 3 - Representação da função inibitória da Antitrombina III, na presença das diferentes frações de heparina (Shaz et al., 2013).

A deficiência de AT-III também pode ser adquirida por fatores que influenciem a síntese, excreção ou aceleração do seu consumo. A redução da síntese de AT-III pode ser observada em pacientes de cirrose ou em bebês prematuros devido à imaturidade do fígado assim como resultar de tromboes agudas e coagulação intravascular disseminada. Além estas situações, a administração de heparina pode diminuir os níveis de AT-III, como já foi explicado, devido ao aumento da depuração da AT-III após complexação com heparina. Por outro lado, os anticoagulantes orais têm sido relatados por aumentar o nível de AT-III para o intervalo normal em doentes conhecidos por ter deficiência congênita de AT-III (Bertolini et al., 2013; Jacobs & Towne, 2013; Kasper et al., 2015).

Os pacientes com deficiência congênita de AT-III e episódios repetidos de tromboembolismo devem receber terapêutica anticoagulante oral de varfarina ao longo da vida. A varfarina não só alcança anticoagulação, diminuindo a concentração de fatores dependentes de vitamina K, mas aumenta também os níveis de AT-III. Também existem vários concentrados de antitrombina disponíveis no mercado e são atualmente utilizados na profilaxia de tromboembolismo venosos em situações clínicas de risco como, cirurgia, trauma, parto ou aborto. O concentrado de AT-III revela-se útil no tratamento da deficiência de AT-III herdada ou adquirida e noutros estados trombóticos, incluindo coagulação intravascular disseminada e trombose venosa profunda pós-operatória. Existem muitas variantes moleculares de antitrombina e a utilização de cada uma das suas categorias está associada aos diferentes riscos de trombose, assim como a

escolha do seu uso terapêutico conjugado com heparina (Hoffbrand & Moss, 2012; Infarmed, 2015b; Jacobs & Towne, 2013; Liumbruno et al., 2009b)

A forma farmacêutica de AT-III apresenta-se em pó com solvente, que após dissolução deve ser administrada por via intravenosa num período inferior a 3 horas após reconstituição. As infusões de concentrados de antitrombina são no geral bem toleradas, existindo no entanto a possibilidade de reações alérgicas. O uso de concentrados de AT-III simultaneamente com heparina aumentam o risco de hemorragia, sendo necessária monitorização clínica e laboratorial cuidadosa dos níveis séricos de AT-III, particularmente em pacientes com elevado risco hemorrágico (Infarmed, 2015b; Liumbruno et al., 2009b).

Estas formulações de concentrados de AT-III devem ser conservadas no frigorífico entre 2 a 8 °C, evitando congelar e ao abrigo da luz. Dentro destas condições o produto tem uma validade de 3 anos, no entanto este valor pode variar consoante o laboratório. Caso se pretenda armazenar a uma temperatura inferior a 25°C, o prazo de validade muda para cerca de 1 mês e a nova data deve ser escrita na embalagem. A refrigeração do mesmo produto não deve ser feita (Infarmed, 2015a, 2015b).

4.2.4 - Imunoglobulinas

4.2.4.1. Imunoglobulina humana contra o antígeno D

A imunoglobulina humana contra o antígeno D, também denominada por IgRh ou Ig anti-D, é um produto derivado do plasma humano que consiste em anticorpos IgG contra o antígeno D do sistema Rhesus (Rh). A presença deste antígeno define um indivíduo como sendo Rh positivo, enquanto as pessoas que não o apresentam, são Rh negativos. O antígeno D é um aloantígeno muito potente, tanto que, exposição de apenas 0,03 ml de eritrócitos D-positivos num indivíduo Rh-, é o suficiente para induzir sensibilidade e produção de Ig anti-D (Infarmed, 2013b; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013).

A Ig anti-D é tipicamente produzida de dadores masculinos Rh- que foram previamente expostos ao antígeno D. O mecanismo de ação em si, na prevenção de imunização D permanece desconhecido, no entanto, esta imunoglobulina é utilizada principalmente na profilaxia de imunização contra o antígeno D em mulheres Rh (D) negativo, grávidas

de bebés Rh (D) positivos. A partir da 6^a semana de gravidez, o feto Rh + começa a expressar antigénio Rh em circulação, induzido a produção de anticorpos anti-D nas grávidas Rh-. Estes anticorpos tem a habilidade de atravessar a placenta provocando a doença hemolítica perinatal (DHPN), que se permanecer por tratar pode levar a anemia, hiperbilirrubinemia, e morte. A imunização passiva por Ig anti-D previne a imunização RhD em mulheres RhD negativas em 99% dos casos, desde que uma dose suficiente seja administrada atempadamente após a exposição aos eritrócitos fetais RhD positivos (Bertolini et al., 2013; DGS, 2007; Infarmed, 2013b; Kasper et al., 2015; Kent, Farrell, & Soothill, 2014; Shaz et al., 2013).

Como indicação terapêutica a Ig anti-D é usada na profilaxia pré e pós-parto de bebés RhD+ e em complicações da gravidez, nomeadamente em situações de aborto ou ameaça do mesmo, gravidez ectópica ou mola hidatiforme, morte fetal intrauterina, hemorragia transplacentária resultante de hemorragia pré-parto, amniocentese, biopsia coriônica ou procedimentos obstétricos manipulativos. É também indicada no tratamento de pessoas Rh (D) negativo, submetidas a transfusões incompatíveis de sangue Rh (D) positivo ou outros produtos contendo eritrócitos. Novas aplicação estão a ser estudadas, das quais o uso de Ig Anti-D no tratamento de trombocitopenia autoimune parece ser eficaz em 70 a 80% dos casos e o seu uso é aprovado pela FDA (Bertolini et al., 2013; Cheung & Liebman, 2009; Octapharma, 2010b; Shaz et al., 2013).

Modos de administração incluem IV e IM dependendo do fabricante, sendo preferível a administração intravenosa por se atingir biodisponibilidade instantânea, assim como uma eliminação mais rápida do antigénio D comparativamente à administração intramuscular. A dose de imunoglobulina contra o antigénio D deve ser determinada em função da indicação clínica e, do grau de exposição aos eritrócitos Rh (D) positivos, tendo em conta que 0,5 ml de concentrado de eritrócitos Rh (D) positivo ou 1 ml de sangue total Rh (D) positivo é neutralizado por aproximadamente 10 µg (50 UI) de imunoglobulina contra o antigénio D (DGS, 2007; Infarmed, 2013b; Octapharma, 2010b; Shaz et al., 2013).

Assim sendo, na prevenção da imunização Rh (D) em mulheres grávidas Rh D negativo, a dose aconselhada na profilaxia pré-natal é de 300 µg (1500 UI) como dose única, entre a semana 28 e 30 de gestação. No seguimento de complicações durante a gravidez, deve-se administrar a mesma dose de 300 µg logo que possível e no espaço de 72 horas

após a complicação, repetindo as doses se necessário em intervalos de 6 a 12 semanas ao longo da gravidez. Na profilaxia pós-parto, a dosagem varia entre os 200 a 300 µg, dependendo se a via de administração for IV ou IM, respectivamente. Nesta situação, a administração também deverá ser feita logo que possível, mesmo tendo decorrido mais de 72 horas ou já tendo sido administrada como profilaxia pré-natal. Em qualquer dos casos, a administração do fármaco não deve ser excluída (Bertolini et al., 2013; DGS, 2007; Infarmed, 2013b; Octapharma, 2010b; Shaz et al., 2013).

Em situações de transfusões incompatíveis de eritrócitos, a dose recomendada é de 20 µg (100 UI) por cada 2 ml de sangue total RhD positivo ou por cada 1 ml de concentrado eritrocitário transfundido. Como dose máxima podem ser administrados 3000 µg (15000 UI), independentemente do volume de sangue RhD positivo recebido. Após administração desta terapêutica, monitorização dos níveis eritrocitários devem ser feitos a cada 48 horas, e o uso de Ig Anti-D deve ser continuado até eliminação total de eritrócitos RhD positivos. A aloimunização resultante de plasma D-incompatível é raramente reportado, de forma que o uso de Ig Anti-D não é indicado nessas situações (Infarmed, 2013b; Octapharma, 2010b; Shaz et al., 2013).

Cheun e Liebman afirmam que o uso de Ig anti-D na trombocitopenia autoimune parece ser eficaz apenas em pacientes com baço saudável, mas um estudo mais aprofundado necessita de ser feito de forma a obter-se confirmação. Em termos de posologia, deve-se dar preferência à administração IV de forma a prevenir hemorragia intramuscular, sendo a dose recomendada de 50 µg/kg, atingindo-se uma resposta plaquetar máxima num espaço de 72 horas após infusão (Cheung & Liebman, 2009; Shaz et al., 2013).

Reações adversas a doses baixas de Ig Anti-D são geralmente pouco frequentes, no entanto, febre, calafrios, perturbações gerais e alterações no local de administração, e raramente hipersensibilidade (como prurido e exantema), foram reações relatadas. Em grandes doses de Ig anti-D IV, podem resultar em reações hemolíticas leves com febre, arrepios e dor de cabeça em aproximadamente 20% das infusões. Reações mais graves ocorrem em 0,7%, resultando em hemoglobinúria, palidez, hipotensão, taquicardia sinusal, oligúria, anúria, edema, dispneia, equimoses, hemorragias, e raramente morte. Lesões pulmonares agudas relacionadas à transfusão também foram relatadas (Octapharma, 2010b; Shaz et al., 2013).

As unidades de Ig anti-D devem ser conservadas entre 2 a 8 °C ao abrigo da luz, com o cuidado de não congelar. Sobre estas condições o prazo de validade varia entre os 30 a 36 meses consoante o fabricante (Infarmed, 2015a; Octapharma, 2010b).

4.2.4.2. Imunoglobulina humana contra a hepatite B

A imunoglobulina humana contra a hepatite B (Ig anti-HBV) é constituída por IgG com uma concentração elevada de anticorpos específicos contra o antigénio presente na superfície do vírus da hepatite B (anti-HBs). Este produto farmacêutico é obtido através da recolha de plasma de dadores previamente imunizados contra o vírus da hepatite B (HBV), que após imunização, iram apresentar títulos elevados de anti-HBs para recolha e processamento (Bertolini et al., 2013; Mayo Clinic, 2015; Shaz et al., 2013).

A administração desta terapêutica está indicada na imunoprofilaxia da hepatite B. Desta forma a Ig anti-HBV é utilizada em casos de exposição acidental em indivíduos não imunizados cujo programa de vacinação é incompleto ou desconhecido, assim como em indivíduos que não apresentam títulos de anticorpos contra a hepatite B após a vacinação, e cuja prevenção contínua seja necessária devido ao risco permanente de serem infetados com hepatite B; em doentes hemodialisados, os quais devem ser administrados com imunoglobulina humana contra a hepatite B até que a vacinação se torne eficaz e, em recém-nascidos de mães portadoras de hepatite B ou de HBsAG desconhecido (Infarmed, 2013a; RCM, 2009; Shaz et al., 2013).

A dosagem muda consoante a indicação clínica e a administração da Ig anti-HBV deverá ser imediata, uma vez exposta à luz. A prevenção da hepatite B em casos de exposição acidental, a dosagem é de 12 UI/kg, sendo o mínimo de 500 UI, a qual deve ser administrada preferencialmente num espaço de 72 horas após exposição. Na imunoprofilaxia de doentes em hemodiálise, a dosagem deve ser de 8 a 12 UI/kg, sendo o máximo de 500 UI, repetindo-se de 2 em 2 meses até que se verifique seroconversão de anti-HBs após a vacinação. No caso de recém-nascidos com mãe portadora, a administração deve ser feita logo após o parto com uma dose de 30 a 100 UI/kg, geralmente de 1 ml. Dependendo das circunstâncias, poderá ser necessário a administração de volumes mais elevados, sendo que a administração de volumes superiores a 2 ml e a 5 ml, em crianças com peso inferior a 20kg e indivíduos com peso superior a 20 kg respetivamente, deverá ser feito em doses divididas. A profilaxia

poderá ser administrada simultaneamente com a vacina, contudo devem ser administradas em zonas opostas do organismo (RCM, 2009; Shaz et al., 2013).

Após a sua administração a Ig Anti-HBv encontra-se disponível na circulação ao fim de 2 a 3 dias possuindo um tempo de semi-vida de 3 a 4 semanas. Esta é feita por via intramuscular com a solução à temperatura do organismo, mas na presença de perturbações graves de coagulação, a administração deverá ser feita por via subcutânea. É necessário notar que sendo esta uma terapêutica à base de imunoglobulinas humanas, haverá sempre a possibilidade de diminuir a eficácia de vacinas de vírus vivos atenuados, como a do sarampo, rubéola, papeira e varicela. Assim sendo a administração da imunoglobulina humana contra a hepatite B deve ser feita 3 a 4 semanas após a vacinação de vacinas vivas atenuadas (RCM, 2009).

Em termos de efeitos adversos, estes ocorrem raramente mas estão previstos acontecer reações alérgicas, incluindo diminuição da pressão arterial, dispneia, reações cutâneas, podendo em alguns casos chegar a situações de choque anafilático. Reações generalizadas são mais comuns, traduzindo-se por arrepios, febre, cefaleias, mal-estar náuseas, vômitos, artralgias e dores moderadas nas costas. Também foram reportadas reações cardiovasculares, as quais derivam geralmente de uma administração intravascular inadvertida (Infarmed, 2013a; RCM, 2009).

A conservação da Ig anti-HBV deve ser feita obrigatoriamente entre 2 a 8 °C, com o cuidado de não congelar, mantendo as ampolas e as seringas dentro da embalagem exterior de forma a proteger da luz. A validade de cada produto varia entre 2 a 3 anos consoante o fabricante (RCM, 2009; INFARMED, 2015a).

4.2.4.3. Imunoglobulina humana contra o tétano

A imunoglobulina humana contra o tétano (Ig anti-T) é preparada a partir de “pools” de plasma humano proveniente de dadores imunizados, contendo anticorpos específicos contra a toxina *Clostridium tetani* (RCM, 2007).

A Ig anti-T tem como indicações terapêuticas, a profilaxia em pessoas que apresentam lesões recentes nas quais o programa de vacinação se encontra incompleto ou desconhecido, assim como o tratamento de manifestações clínicas de tétano (RCM, 2007; Shaz et al., 2013).

A dosagem profilática é de 250 UI de Ig anti-T, combinada normalmente com 0,5 ml de vacina contra o tétano (ou de vacina combinada contra o tétano e difteria) em locais diferentes do organismo. A dose deve ser aumentada para 500 UI (em simultâneo com a vacinação) em caso de feridas não suturadas ou negligenciadas de tratamento por um período superior a 24 horas. Exemplos destas situações são feridas profundas ou contaminadas (por pó, terra, saliva ou fezes); lesões tecidulares provocadas por corpos estranhos (lacerações, mordeduras, ferimentos provocados por objetos cortantes ou penetrantes como balas); queimaduras profundas ou congelamento; necrose tecidular; aborto septicémico. No caso das queimaduras, é aconselhável uma segunda administração de 250 UI após o término da fase exsudativa, 36 horas após a queimadura. As manifestações clínicas do tétano devem ser tratadas com 3000 a 6000 UI (RCM, 2007; Shaz et al., 2013).

O pico máximo de níveis séricos é atingido 2 a 3 dias após a administração de Ig anti-T, a qual possui um tempo de semi-vida de 3 semanas. O modo de administração desta terapêutica deve ser feito via intramuscular, de preferência na zona ventrogluteal com o paciente deitado, e com a solução de Ig anti-T à temperatura do organismo. Em indivíduos com trombocitopenia grave ou alterações de coagulação, a administração da imunoglobulina deve ser feita pela via subcutânea. Em qualquer dos casos, evitar ao máximo administrações intravasculares as quais podem resultar em choque anafilático. Em casos de doses elevadas, aplica-se a mesma regra mencionada anteriormente na hepatite, sendo aconselhável a administração fracionada quando volumes forem superiores a 2 e 5 ml (RCM, 2007).

Os efeitos adversos que podem ocasionalmente ocorrer são de sensibilidade ou tumefação no local de injeção, aumento de temperatura, assim como reações cutâneas e arrepios. Em casos mais raros poderão surgir náuseas, vômitos, mal-estar geral, cefaleias, reações a nível circulatório e do tipo alergóide/anafilactóide. As reações alergóides/anafilactóides são muito raras, especialmente se a imunoglobulina foi administrada por via IM como recomendado, mas nestes casos a administração deve ser interrompida e iniciar-se tratamento apropriado. Este consiste na utilização de corticosteroides e anti-histamínicos em reações ligeiras, e em casos mais graves, a injeção lenta e imediata de adrenalina ou corticosteroides IV, acompanhada por oxigenoterapia se necessário (RCM, 2007).

A conservação da Ig anti-D deve ser feita entre 2 a 8 °C, evitando-se congelar e ao abrigo da luz. O prazo de validade é por norma de 3 anos podendo variar consoante o fabricante (INFARMED, 2015a).

É de mencionar que alguns países estão a começar a usar produtos antivirais como opções alternativas à imunoglobulina na profilaxia de infeções por hepatite B, e que o consumo desta foi reduzido pelo uso universal de vacinação contra o tétano (Shaz et al., 2013).

4.2.4.4. Imunoglobulina humana normal

A imunoglobulina humana normal para transfusão é um produto composto de Ig policlonais normais, derivados de “pools” de plasma de milhares de doadores saudáveis, altamente purificado, que consiste principalmente em IgG, com um tempo de semi-vida de 21 a 28 dias. Estas preparações contêm anticorpos contra antígenos estranhos (exógenos), auto-antígenos naturais (endógenos) e outros anticorpos (anticorpos idiotípicos). A IgG constitui 75-85% da imunoglobulina total encontrada no soro e é a principal imunoglobulina produzida pelo corpo durante uma resposta imunitária secundária, sendo o único anticorpo com atividade antitoxina. Esta proteína está dividida em quatro subclasses (IgG1, 2, 3 e 4), as quais devem constituir um mínimo de 95% do produto farmacêutico, tal como estipulado pela Farmacopeia Europeia (Bertolini et al., 2013; Durandy et al., 2009; Kasper et al., 2015; Octapharma, 2010a, 2014).

As quatro subclasses de IgG são numeradas em ordem do seu nível sorológico, sendo IgG1 encontrado em maiores quantidades e IgG4 em menores. As suas concentrações no injetável devem ser em proporções semelhantes às encontradas no plasma normal reunido. As subclasses de IgG têm relevância clínica na sua capacidade variada de se vincularem a diferentes recetores Fc de macrófagos e neutrófilos, e na sua função ativadora do complemento, ajudando assim na regulação do sistema imunitário. Certas deficiências seletivas das subclasses de IgG ou, ausência ou deformação funcional destas, podem dar origem a síndromes clínicas em que o paciente fica excessivamente suscetível a infeções bacterianas (Bertolini et al., 2013; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013).

Os níveis séricos normais de IgG variam de 9,5 a 12,5 g/L os quais garantem a eliminação normal de micro-organismos patogénicos, mas, tendo em conta que as

preparações de imunoglobulina humana normal disponíveis atualmente são produzidas a partir de plasma humano, o fornecimento de produtos é finito e muito dispendioso, pelo que o seu uso deve ser cuidadosamente considerado. Lucas et al. concluíram "o objetivo da terapia de reposição deve ser o de melhorar o resultado clínico e não de simplesmente atingir um determinado nível mínimo de IgG" (Kasper et al., 2015; Lucas et al., 2010; Orange et al., 2006).

A imunoglobulina humana normal é utilizada como terapia de substituição em pacientes com síndrome de imunodeficiência primária, como por exemplo agamaglobulinemia e hipogamaglobulinemia congénita, imunodeficiência comum variável, imunodeficiência combinada grave, síndrome de Wiskott Aldrich e em deficiências nas subclasses de IgG com infeções recorrentes. Este produto também é indicado em pacientes com patologias que induzem insuficiência de anticorpos com infeções recorrentes, sejam crianças com HIV congénito, mieloma ou leucemia linfocítica crónica associada a infeções bacterianas. Outras aplicações conhecidas abrangem a prevenção ou tratamento de infeções após transplante de medula óssea e, imunomodulação das seguintes doenças inflamatórias: em adultos e crianças quando o número de plaquetas é insuficiente (púrpura trombocitopénica idiopática) e existe risco elevado de hemorragia ou, antes de cirurgias; quando existe doença que leva à inflamação de diversos órgãos (doença de Kawasaki), e quando existe doença que leva á inflamação de certas partes do sistema nervoso (síndrome de Guillain-Barré) (Feasby et al., 2007; Octapharma, 2010a, 2014; Orange et al., 2006; Shaz et al., 2013).

É administrado com uma dose baixa em intervalos regulares, como terapia de substituição de anticorpos em imunodeficiências primárias tais como agamaglobulinemia e imunodeficiência variável comum, ou imunodeficiências adquiridas em que as concentrações plasmáticas de IgG tornaram-se muito baixa. Por outro lado, com IVIg também pode ser utilizada com uma dose elevada, como um tratamento imunomodulatório, em doenças autoimunes ou autoinflamatórias, dos quais a doença de Kawasaki e trombocitopenia imune são aprovadas no uso deste produto pela Agência Europeia de Medicamentos (Nagelkerke & Kuijpers, 2014)

De momento estão aprovados produtos de imunoglobulina humana normal em forma intramuscular e intravenosa, sendo também disponível em off-label a administração subcutânea, a qual é supostamente mais fácil e conveniente na terapia de autoadministração para uso doméstico. A taxa de infusão para aqueles não previamente

expostos a IVIG deve ser baixa e pode ser gradualmente aumentada, tal como definido pelo produto de IVIG específico utilizado. Taxas de infusão em idosos, pacientes com risco de disfunção renal, ou pacientes com risco de trombose, também deve ser lento. Os sinais vitais devem ser monitorizados em cada 15 minutos durante a primeira hora e, em seguida, a cada 30-60 minutos (Farrugia, Marcella, & Quinti, 2015; Shaz et al., 2013).

A dosagem e regime terapêutico poderá ter que ser individualizado de forma a corresponder à situação em que o paciente se encontra. A Tabela 4 a seguir apresenta um resumo das recomendações de dosagens padrão para as diferentes indicações clínicas de IgIV (Octapharma, 2010a, 2014; Orange et al., 2006)

Tabela 4 - Guideline de dosagens de IgIV consoante as respetivas indicações clínicas (Octapharma, 2014)

Indicação	Dose	Frequência de administração
Terapia de substituição nos síndromas de imunodeficiência primária	Dose inicial: 0,4 - 0,8 g/kg Doses subsequentes: 0,2 - 0,8 g/kg	Cada 2 - 4 semanas para obter níveis mínimos de IgG de pelo menos 4 - 6 g/l
Terapia de substituição nos síndromas de imunodeficiência secundária	0,2 - 0,4 g/kg	Cada 3 - 4 semanas para obter níveis mínimos de IgG de pelo menos 4 - 6 g/l
Crianças com SIDA	0,2 - 0,4 g/kg	Cada 3 - 4 semanas
Imunomodelação:		
Púrpura Trombocitopénica Idiopática (PTI)	0,8 – 1,0 g/kg ou	No primeiro dia, passível de ser repetido no 3º dia.
	0,4 g/kg/dia	Durante 2 a 5 dias
Síndrome de Guillain Barré	0,4 g/kg/dia	Durante 3 a 7 dias
Doença de Kawasaki	1,6 - 2,0 g/kg ou	Em doses divididas por 2 - 5 dias em associação com ácido acetilsalicílico
	2,0 g/kg	Em dose única, em associação com ácido acetilsalicílico
Transplante de Medula Óssea Alogénico:		
- Tratamento de infeções e profilaxia da doença contra o hospedeiro.	0,5 g/kg	Todas as semanas, com início no dia 7 e até 3 meses após o transplante.
- Ausência de produção de anticorpos persistente.	0,5 g/kg	Todos os meses até que seja restabelecido o nível normal de IgG.

A substituição de imunoglobulina é bem tolerada pela maioria dos pacientes, embora a seleção do tipo de preparação de IgG seja necessária em certos casos de forma a ser melhor tolerada. Uma vez que as preparações de IgG contêm uma pequena proporção de IgA, cuidados devem ser tomados em pacientes com capacidade de produção de anticorpos residuais e em caso de deficiência total de IgA, uma vez que estes indivíduos podem desenvolver anticorpos anti-IgA e desencadear choque anafilático. Estes doentes devem ser tratados com preparações de IgG livres de IgA. A terapia de substituição com imunoglobulina é uma terapia para o resto da vida. Para além destas situações, a administração de imunoglobulina humana normal pode comprometer o efeito terapêutico de vacinas de vírus vivos atenuados (Kasper et al., 2015; Nagelkerke & Kuijpers, 2014; Octapharma, 2010a, 2014; Orange et al., 2006).

Produtos de IgG são agora os principais produtos terapêuticos feitos a partir de plasma humano, contribuindo com mais de 50% de vendas de todos os produtos de plasma fracionados. O sucesso do uso de concentrados de IgG a nível clínico na atualidade está documentado pelo número crescente de indicações clínicas registadas e o aumento do seu uso em off-label. Este êxito surge em parte, do perfil de reações adversas, em que a transmissão de agentes patogénicos na última década tem sido controlada e prevenida por completo, através da introdução de uma rede de regulação e normas de qualidade instaladas pela indústria de fracionamento de plasma. No entanto, efeitos adversos não infecciosos, são decorrentes mas ligeiros e não anafiláticos na sua maioria. Estes traduzem-se geralmente por cefaleias, arrepios, dores nas costas, dores no peito, febre, reações cutâneas e náuseas as quais tendem a estar relacionadas com a dose e velocidade de perfusão, podendo ser revertidas com o abrandamento ou paragem de infusão por 15 a 30 minutos, ou administração de aspirina ou ibuprofeno. A utilização de hidrocortizona e hidratação salina é reservada na reversão de casos mais graves. Infelizmente são também comuns, as reações de hemólise e trombozes (Germishuizen et al., 2014; Octapharma, 2010a, 2014; Orange et al., 2006; Späth et al., 2015)

Os parâmetros de armazenamento e respetivos prazos de validade das preparações de imunoglobulina humana normal diferem consoante os fornecedores. No entanto, a maioria segue a mesma norma, sendo a temperatura ideal de conservação entre 2 a 8°C com validades variando entre os 2 a 3 anos, podendo também ser armazenada a temperaturas inferiores a 25°C reduzindo substancialmente o prazo de validade para uma média de 2 a 6 meses (Infarmed, 2015a; Octapharma, 2010a, 2014).

Capítulo 5 – Hemocomponentes

5.1 - Sangue Total

O sangue total é o sangue não separado, diretamente recolhido das doações e armazenado numa bolsa plástica, estéril e descartável. De cada doação, são retirados entre 400 a 500 ml de sangue, a que damos o nome de “unidade” ou “bolsa”, sendo que o valor total recolhido do dador não deve ser superior a 10,5 ml / kg de peso do doador. Durante a recolha, o sangue deve ser bem misturado no saco com soluções anticoagulantes e conservantes, de forma a impedir a coagulação e manter a viabilidade das células do sangue durante o armazenamento. (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

O armazenamento deve ser feito entre 2 a 6°C nos refrigeradores dos bancos de sangue, onde em condições ideais com anticoagulante adequado pode ser armazenado por mais de 35 dias. Uma vez retirado do refrigerador, a transfusão deverá ser iniciada nos primeiros 30 minutos. Não se pode misturar nenhum medicamento com a unidade de sangue, e uma vez iniciada a administração, esta deve ser finalizada num período de até 4 horas após o seu início (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Para a administração de sangue total deve existir compatibilidade entre o dador e o recetor relativamente aos sistemas ABO e Rh. Consequentemente cada unidade deve ter estas informações identificadas no rótulo. Uma vez não existir esterilização do sangue total previamente à sua administração, este é capaz de transmitir qualquer agente infeccioso que não tenha sido detetado nas análises de rotina (HIV 1 e 2; Hepatites, sífilis, malária, parvovírus 19 e Doença de Chagas) (OMS, 2002).

O sangue total está indicado na reposição de hemácias em perdas sanguíneas agudas com hipovolémia e, contra-indicado em paciente de sobrecarga volumétrica com anemia crónica e insuficiência cardíaca incipiente. No entanto, não é comum ser encontrado em grandes quantidades na maioria dos bancos de sangue uma vez que a terapia de concentrados é mais apropriada para atingir indicações específicas de um paciente por transfusão (por exemplo: concentrado de hemácias para anemia sintomática uma vez que leva menos volume que o sangue total o que poderia levar a sobrecarga volumétrica; produtos plasmáticos para múltiplas deficiências de fatores de coagulação; e concentrado de plaquetas para trombocitopenia ou distúrbios de funções plaquetárias). Além disso, no sangue total, a função e a capacidade de sobrevivência das plaquetas após transfusão são perdidas quando o sangue total é armazenado previamente no

frigorífico, assim como a atividade de fatores de coagulação lábeis (fatores V e VIII), que se deteriora com o tempo. Visto que o sangue é um recurso raro e caro, o profissional de saúde deve escolher a terapia que seja mais custo-efetivo para o paciente, e a unidade de saúde em que se encontra (Kasper et al., 2015; Ministério da Saúde do Brasil, 2010; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

5.2 - Concentrado de Hemácias

O concentrado de hemácias é obtido por centrifugação de sangue total seguido pela remoção da maioria da camada plasmática rica em plaquetas, ou, por recolha automatizada de aférese. Uma unidade deste concentrado corresponde a uma doação, com um volume entre 150 a 200 ml, aproximadamente 20g/100ml de hemoglobina e 55-75% de hematócrito. Dependendo do tipo de soluções anticoagulantes e conservantes usados, o concentrado de hemácias pode ser armazenado por períodos de 21 a 35 dias, a uma temperatura de 2 a 6°C, sem um efeito prejudicial significativo na qualidade do concentrado (Ministério da Saúde do Brasil, 2010; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

É usado principalmente no tratamento de anemia sintomática e hemorragias, a fim de aumentar a oxigenação de tecidos, mas também pode ser utilizado na reposição de fluidos. Os parâmetros de administração e o risco de transmissão de agentes infecciosos são iguais ao do sangue total, como tal, deve ser utilizado apenas quando se considerar necessário. O alto hematócrito confere à solução uma viscosidade aumentada, o que aumenta conseqüentemente o tempo necessário para a transfusão. Pode no entanto, ser adicionada uma solução salina (cristaloide) ou soro fisiológico para melhorar o fluxo (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

5.3 - Suspensão de Hemácias

A suspensão de hemácias define-se por uma suspensão de 150 a 200 ml de glóbulos vermelhos, com uma quantidade residual mínima de plasma, em cerca de 100 ml de solução salina com adenina, glicose e solução de manitol, ou, qualquer outra solução equivalente com nutrientes para as hemácias. Contém 15g/100ml de hemoglobina e um hematócrito de 50 a 70%. Assim como o concentrado de hemácias, uma unidade de suspensão provém de uma única doação (OMS, 2002).

Tem como vantagens, uma diminuição de viscosidade facilitando a infusão e, uma melhor preservação dos glóbulos vermelhos durante o armazenamento, conferindo um tempo de semi-vida maior que do sangue total ou concentrado de hemácias (42 dias). Parâmetros de administração, riscos de infecção e indicações terapêuticas, são as mesmas que das unidades descritas anteriormente (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

5.4 - Hemácias Leucodepletadas

O concentrado de hemácias também contém glóbulos brancos do sangue doado, o que em alguns pacientes causa reações febris não hemolíticas. A leucorredução pode ser aplicada através do uso de um filtro especial de depleção leucocitária, reduzindo o risco de reações transfusionais febris não hemolíticas, transmissão de citomegalovírus e imunomodulação, especialmente em pacientes que recebem transfusões repetidas. O filtro é melhor usado no momento da transfusão de forma a evitar qualquer contaminação do sangue estéril antes de este sair do banco de sangue. (OMS, 2002; Shaz et al., 2013)

5.5 - Concentrado de Plaquetas

O concentrado de plaquetas pode ser obtido a partir de unidades individuais de sangue total ou por aférese, coletadas de doador único (OMS, 2002; Shaz et al., 2013)

Os concentrados provenientes de uma unidade de sangue total tem um volume de 40 a 70 ml com uma concentração mínima de plaquetas de $5,5 \times 10^{10}/L$, no entanto, uma dose terapêutica para um adulto, requer um mínimo de $24 \times 10^{10}/L$. Para se obter uma dose terapêutica, é necessário a mistura de 4 a 6 unidades de sangue total a que chamamos de "*pools*"(OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Aférese, em medicina, é um processo estéril e especializado que consiste na recolha seletiva de um determinado componente sanguíneo, normalmente de plasma ou plaquetas. É usado um aparelho automático que recolhe o sangue e, através de um separador celular, retém as plaquetas, e devolve os restantes ao dador através da mesma punção. Os concentrados de plaquetas por aférese apresentam um volume de 150 a 300 ml, com um concentração mínima de $3 \times 10^{11}/L$, podendo ser utilizada como dose terapêutica (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Os concentrados de plaquetas coletados por aférese (plaquetaférese) apresentam grandes vantagens em relação dos provenientes de unidades de sangue total. A necessidade de apenas um dador, evita a formação de “pools”, onde existe um risco aumentado de contaminação bacteriana e, transmissão de infecções devido à mistura de sangue de diferentes dadores. Por outro lado, a obtenção específica de plaquetas, evita o aparecimento de anemia sintomática no dador e permite ao dador fazer este tipo de intervenções mais frequentemente que no caso da doação de sangue normal (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

O uso destes concentrados está indicado no tratamento de hemorragias derivadas de trombocitopenia ou de distúrbios da função plaquetar, e na profilaxia de hemorragias derivadas de trombocitopenia como no caso de falência medular. Como contraindicações apresentam-se os casos de púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), coagulação intravascular disseminada não tratada (CIVD) e trombocitopenia associada a septicémia. Evita-se também utilizar como profilaxia de hemorragias em pacientes cirúrgicos, a menos que se tenha conhecimento da deficiência plaquetária em pré-operatório (OMS, 2002).

As plaquetas são armazenadas à temperatura ambiente (20-24 ° C) com agitação suave durante um máximo de cinco dias. Uma vez que o sistema tenha sido aberto ou reunidas as plaquetas, o produto deve ser transfundido dentro de quatro horas por causa do risco de proliferação bacteriana (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

5.6 - Plasma Humano / Plasma Fresco Congelado

O plasma é separado de uma unidade de sangue total, ou coletado diretamente do dador por plasmaférese, sendo que uma unidade contém um volume de 200 a 300 ml, existindo também bolsas menores para crianças. Os tipos de plasma que são usados nos serviços de transfusão incluem: plasma fresco congelado (PFC), plasma descongelado (PD), crioprecipitado e, mais recentemente desenvolvido pela indústria, PFC viralmente inativado por tratamento de solvente/detergente (plasma-SD) o qual é atualmente comercializado em Portugal pelo nome de Octoplas (Infarmed, 2015a; Liumbruno, Bennardello, Lattanzio, Piccoli, & Rossetti, 2009a; OMS, 2002, 2009).

O plasma deve ser separado do sangue total e congelado, entre 6 a 8 horas após a doação, de maneira a preservar os fatores de coagulação lábeis (Fatores V e VIII). Este pode ser armazenado durante um ano, no mínimo a 18°C negativos, sendo porém, recomendada a temperatura igual ou inferior a 25°C negativos para prolongar o tempo de estante para 1 ano. Em certos casos nos Estados Unidos da América, quando aprovados pela FDA, pode-se conservar a 65°C negativos por uma duração de 7 anos. O congelamento permite a preservação dos fatores da coagulação, fibrinólise e complemento, além de albumina, imunoglobulinas, outras proteínas e sais minerais de forma a manter as suas propriedades constantes (Liumbruno et al., 2009a; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

As indicações para o uso de PFC são restritas à propriedade do plasma conter as proteínas de coagulação. Desta forma, deve ser usado no tratamento de pacientes com distúrbios de coagulação, nomeadamente naqueles com deficiência de múltiplos fatores apenas quando não houver disponível produtos com concentrados estáveis de fatores da coagulação e menor risco de contaminação viral. Tendo esta informação como base, o PFC pode ser usado no tratamento de hemorragias derivadas de distúrbios de coagulação, coagulação intravascular disseminada (CIVD), Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), reversão da sobrecarga de anticoagulantes orais (varfarina) na presença de hemorragia e reposição de fatores de coagulação em doenças hepáticas (Liumbruno et al., 2009a; OMS, 2002).

Não é recomendada a utilização de PFC como fluido de reposição nos casos de hipovolémia: pois existe pouca evidência de benefícios clínicos adicionais sobre a reposição de fluidos comparativamente aos cristaloides e coloides; apresenta o mesmo risco de infeção que o sangue total e, o plasma é muito mais caro comparado com os

crystaloides que não acarretam riscos de infecção transmissíveis. É também contraindicado em situações de hemorragias sem coagulopatias, na correção de testes anormais de coagulação na ausência de hemorragia, perda proteica e imunodeficiências (Liumbruno et al., 2009a; OMS, 2002).

A dose inicial é de 15 ml/kg, onde cada unidade aumenta os níveis dos fatores de coagulação do paciente em 20% a 30%, devendo-se parar assim que os níveis hemostáticos forem atingidos. A unidade deve ser ABO compatível de modo a evitar riscos de hemólise no recetor. O plasma deve ser descongelado à temperatura corporal antes do seu uso, durante cerca de 20 minutos, não excedendo os 37°C de modo a evitar a destruição das proteínas plasmáticas. Uma vez descongelado deve ser mantido sob refrigeração entre 2 a 6°C, temperatura na qual os fatores de coagulação diminuem para 10 a 20% num espaço de 48 horas, devendo assim ser administrado até 6 horas após descongelamento, de forma a evitar a diminuição dos fatores lábeis. Caso contrário fica classificado como PD, podendo ser armazenado a temperaturas de refrigeração até 5 dias, sob a penalidade de grande redução dos fatores lábeis (Liumbruno et al., 2009a; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

A transfusão de plasma apresenta a possibilidade de eventos adversos infecciosos e não infecciosos. Doenças transmitidas por transfusão, tradicionalmente incluem HIV, hepatite B e hepatite C, que são atualmente raros devido aos processos de controlo atuais. Os riscos não infecciosos traduzem-se por reações alérgicas, reações hemolíticas, sobrecarga circulatória associada a transfusão e TRALI (Transfusion-Related Acute Lung Injury) (Shaz et al., 2013)

Na eventualidade de haver instalações disponíveis, o plasma deve ser fracionado e processado garantindo derivados plasmáticos viralmente inativados para aplicações terapêuticas mais seguras (OMS, 2002).

5.7 - Crioprecipitado

O crioprecipitado é preparado a partir do PFC, do qual após descongelado à temperatura de 2 a 6°C, se retira de imediato o plasma sobrenadante para uma bolsa satélite acoplada, deixando um volume residual de precipitado. Este produto é recongelado no período de 1 hora, e armazenado sobre os mesmo parâmetro que o PFC obtendo assim uma validade de 1 ano. Cada unidade de crioprecipitado deve ter um volume aproximado de 15 ml, e valores de fator VIII e fibrinogénio > 80UI e > 150mg respetivamente. Adicionalmente, cada unidade contém 80 a 120 UI de Fator von Willebrand, 40 a 60 UI de Fator XIII e proteínas adesivas de fibronectina (OMS, 2002; Shaz et al., 2013; Silva, 2008).

Tabela 5 - Derivados plasmáticos e respetivos tempos de semi-vida presentes numa bolsa de crioprecipitado com volume de 10-15 ml (Ministério da Saúde do Brasil, 2010)

Fatores de Coagulação	Quantidade/bolsa	Tempo de semi-vida
Fibrinogénio	150-250 mg	100-150
Fator VIII	80-150 UI	12
Fator von Willebrand	100- 150 UI	24
Fator XIII	50-75 UI	100-300

O crioprecipitado é usado como principal fonte de concentrado de fibrinogénio em casos de hipofibrinogenemia (congénita ou adquirida) e disfibrinogenemia, com hemorragias ativas ou procedimentos cirúrgicos, e, em casos de coagulopatias adquiridas como a coagulação intravascular disseminada. Devido ao conteúdo de FVIII, FvW e FXIII, o crioprecipitado pode ser usado em pacientes com hemofilia A, doença de von Willebrand e/ou deficiência de fator XIII, mas apenas quando os produtos indicados a estas patologias se encontram em falta (Kasper et al., 2015; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Na reposição dos níveis de fibrinogénio, uma unidade de crioprecipitado irá aumentar a concentração de fibrinogénio em aproximadamente 50 mg/dl por 10 kg de peso corporal, enquanto os valores normais de fibrinogénio no adulto variam entre os 150 a 400 mg/dl. Isto implica que o crioprecipitado seja habitualmente administrado aos adultos em doses superiores a 6 unidades de dadores, dependendo das necessidades do paciente. Estas podem ser fornecidas por doses múltiplas de dador único ou em bolsas

proveniente de 6 ou mais doadores em forma de “*pool*” (Monroe et al., 2010; OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Para a administração deste produto deve-se descongelar num banho de água a 30 – 37°C durante cerca de 15 minutos e agrupado com as restantes unidades para uma mais fácil administração. A criação de uma “*pool*” de crioprecipitado pré-congelamento também é possível, o que facilita o processo de descongelamento e administração, especialmente em momentos de emergência, tais como trauma ou transplante de fígado. Após descongelamento, uma unidade única de crioprecipitado expira em 6 horas enquanto as “*pools*” em 4 horas, pelo que devem ser infundidas/administradas o quanto possível. Uma vez que o crioprecipitado tem quantidades mínimas de hemácias ou aglutininas, não é necessário usar-se um produto compatível com o sistema ABO no paciente, a não ser por precaução, em transfusões neonatais (OMS, 2002; Shaz et al., 2013).

Capítulo 6 – Distúrbios da Coagulação

Pacientes com deficiências genéticas de fatores de coagulação de plasma, exibem ao longo da vida episódios hemorrágicos recorrentes em articulações, músculos e espaços sinoviais, espontaneamente ou após uma lesão. As deficiências hereditárias mais comuns de fatores de coagulação são as hemofilias, ligadas ao cromossoma X causando deficiência de fator VIII (hemofilia A) ou fator IX (hemofilia B), e a doença de von Willebrand com deficiência ou alteração funcional do fator von Willebrand, associadas ao cromossoma 12. Existem outros distúrbios hemorrágicos raros devido a deficiências de outros fatores, incluindo FII, FV, FVII, FX, FXI, FXIII e fibrinogénio. Estes são geralmente herdados de forma autossómica recessiva (Tabela 6) (Kasper et al., 2015).

Tabela 6 - Características genéticas e laboratoriais dos distúrbios de coagulação herdados

Clotting Factor Deficiency	Inheritance	Prevalence in General Population	Laboratory Abnormality ^a			Minimum Hemostatic Levels	Treatment	Plasma Half-Life
			aPTT	PT	TT			
Fibrinogen	AR	1 in 1,000,000	+	+	+	100 mg/dL	Cryoprecipitate	2–4 d
Prothrombin	AR	1 in 2,000,000	+	+	–	20–30%	FFP/PCC	3–4 d
Factor V	AR	1 in 1,000,000	+/-	+/-	–	15–20%	FFP	36 h
Factor VII	AR	1 in 500,000	–	+	–	15–20%	FFP/PCC	4–6 h
Factor VIII	X-linked	1 in 5,000	+	–	–	30%	FVIII concentrates	8–12 h
Factor IX	X-linked	1 in 30,000	+	–	–	30%	FIX concentrates	18–24 h
Factor X	AR	1 in 1,000,000	+/-	+/-	–	15–20%	FFP/PCC	40–60 h
Factor XI	AR	1 in 1,000,000	+	–	–	15–20%	FFP	40–70 h
Factor XII	AR	ND	+	–	–	^b	^b	60 h
HK	AR	ND	+	–	–	^b	^b	150 h
Prekallikrein	AR	ND	+	–	–	^b	^b	35 h
Factor XIII	AR	1 in 2,000,000	–	–	+/-	2–5%	Cryoprecipitate/FXIII concentrates	11–14 d

^aValues within normal range (–) or prolonged (+). ^bNo risk for bleeding; treatment is not indicated.

Abbreviations: aPTT, activated partial thromboplastin time; AR, autosomal recessive; FFP, fresh-frozen plasma; HK, high-molecular-weight kininogen; ND, not determined; PCC, prothrombin complex concentrates; PT, prothrombin time; TT, thrombin time.

Os testes hemostáticos habitualmente utilizados fornecem uma triagem inicial para a atividade dos diferentes fatores de coagulação, e estes dividem-se em tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa). O TP é um teste que avalia a via extrínseca e comum de coagulação, nomeadamente a atividade dos fatores II, V, VII e X. Este teste consiste na adição de tromboplastina (fator tecidual) ativando o FVII e consequentemente o complexo protrombinase, acabando na produção de trombina. Um TP prolongado pode indicar deficiências hereditárias ou adquiridas, tal como deficiência de vitamina K, doenças hepáticas etc. Já o TTPa é um teste de triagem indicado na avaliação da atividade dos fatores da via intrínseca e comum da coagulação, detetando as deficiências dos fatores VIII, IX, XI e XII, precalicreína e cininogénio de alto peso molecular (Kasper et al., 2015; Ministério da Saúde (Brasil), 2010; Vivas, 2008).

É necessário também monitorizar a presença de inibidores e o uso de heparina não fracionada visto que podem adulterar os resultados obtidos. Um TP anormal isolado sugere deficiência de FVII, enquanto um TTPa indica mais frequentemente hemofilia ou deficiência do FXI (Tabela 6). O prolongamento de ambos TP e TTPa sugerem deficiência de FV, FX, FII ou anormalidades de fibrinogénio. A adição do fator de coagulação em falta para o plasma do paciente, numa dose calculada para superar a deficiência, irá corrigir os tempos de coagulação anormais, sendo o resultado expresso em percentagem relativamente à atividade observada em indivíduos normais (Kasper et al., 2015).

6.1 - Terapêutica de Hemofilia

A profilaxia primária é definida como uma estratégia para manter o fator de coagulação em falta em níveis acima de 1%, até se atingirem níveis fisiológicos normais, a fim de evitar sangramento e, especialmente o aparecimento de hemartroses. As considerações gerais relativamente ao tratamento de sangramentos na hemofilia incluem a urgência de se iniciar a terapêutica o mais cedo possível por causa da eficácia superior de uma intervenção terapêutica precoce, evitando o aparecimento de sequelas; e a necessidade de evitar fármacos que dificultem a função das plaquetas, tais como, aspirina ou anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), com exceção de certos inibidores de COX-2. Para o controlo da dor, é preferível fármacos como paracetamol. Em casos de dor mais fortes e em pós-operatório, morfina ou outros analgésicos narcóticos podem ser dados, seguidos por um opióide por via oral, tais como tramadol, codeína e outros (Kasper et al., 2015; Srivastava et al., 2012).

Os FVIII e FIX são doseados em unidades. Uma “Unidade Internacional” (UI) é definida como a quantidade de FVIII (100 ng/mL) ou FIX (5 ug/ml) em 1 ml de plasma normal (Kasper et al., 2015).

O cálculo da dose necessária de FVIII baseia-se na observação empírica de que 1 UI de FVIII por kg de peso corporal aumenta a atividade do fator de plasma em 2%. Por exemplo, pode-se calcular a dose necessária para aumentar os níveis de FVIII num paciente hemofílico grave (<1%) de 70 kg, para 100% utilizando a fórmula abaixo. Assim, 3500 unidades de FVIII vão elevar o nível de circulação para 100% (Kasper et al., 2015).

Fórmula 1 – Cálculo da Dose Necessária de FVIII (Kasper et al., 2015).

$$\text{Dose FVIII (UI)} = \text{peso corporal (kg)} \times \text{aumento de FVIII desejado (\% ou UI/dl)} \times 0,5$$

As doses para a substituição de FIX diferem das FVIII, uma vez que a recuperação de FIX pós-infusão é geralmente de apenas 50% do valor previsto. Portanto, a fórmula para a substituição FIX é:

Fórmula 2 – Cálculo da Dose Necessária de FIX (Kasper et al., 2015).

$$\text{Dose FIX (UI)} = \text{peso corporal (kg)} \times \text{aumento de FIX desejado (\% ou UI/dl)} \times 1$$

No caso dos seguintes eventos hemorrágicos, a atividade dos fatores VIII e IX não devem cair abaixo dos níveis de atividade plasmática indicados (em “% do normal” ou “UI/dl”) no período correspondente. As tabelas seguintes podem ser utilizadas para orientar as dosagens em episódios hemorrágicos e cirurgias nos pacientes de hemofilia A (Tabela 7) e hemofilia B (Tabela 8) (EMA, 2010a, 2012b; Kasper et al., 2015; Srivastava et al., 2012).

Tabela 7 - Guia terapêutico da Hemofilia A (EMA, 2012b).

Grau de hemorragia / Tipo de procedimento cirúrgico	Nível de fator VIII necessário (% ou UI/dl)	Frequência de administração (horas) / Duração da Terapêutica (dias)
Hemorragias		
Hemartrose precoce, hemorragia muscular ou hemorragia oral	20 – 40	Repetir cada 12 a 24 horas, pelo menos 1 dia até resolução do episódio hemorrágico, indicado pelo desaparecimento da dor, ou até se verificar a cicatrização.
Hemartrose extensa, hemorragia muscular ou hematoma	30 – 60	Repetir a perfusão cada 12 a 24 horas durante 3 - 4 dias ou mais, até resolução da dor e da incapacidade aguda.
Hemorragias com risco de vida	60 – 100	Repetir a perfusão cada 8 a 24 horas até resolução da ameaça.
Cirurgias		
Pequena cirurgia: Incluindo extração dentária	30 – 60	Cada 24 horas, pelo menos 1 dia, até se verificar cicatrização.
Grande cirurgia	80 - 100 (pré- e pós-operatório)	Repetir a perfusão cada 8 - 24 horas, até adequada cicatrização da ferida, seguindo-se pelo menos, mais 7 dias de terapêutica para manter uma atividade de fator VIII entre 30% a 60% (UI/dl).

Tabela 8 - Guia terapêutico da Hemofilia B (EMA, 2010b).

Grau de hemorragia / Tipo de procedimento cirúrgico	Nível de fator IX necessário (%) ou (UI/dl)	Frequência de administração (horas) /Duração da Terapêutica (dias)
Hemorragia		
Hemartrose na fase inicial, hemorragia muscular ou hemorragia oral	20 – 40	Repetir cada 24 horas. Pelo menos 1 dia até resolução do episódio hemorrágico, avaliado pela dor, ou até se verificar a cicatrização.
Hemartrose mais prolongada, hemorragia muscular ou hematoma	30 – 60	Repetir a perfusão cada 24 horas durante 3 - 4 dias ou mais até resolução da dor e da incapacidade aguda.
Hemorragias com risco de vida	60 – 100	Repetir a perfusão cada 8 a 24 horas até resolução da situação de risco.
Cirurgia		
Pequena cirurgia: Incluindo extração dentária	30 – 60	Cada 24 horas, pelo menos 1 dia, até se verificar a cicatrização.
Grande cirurgia	80 - 100 (pré- e pós-operatório)	Repetir a perfusão cada 8 - 24 horas até adequada cicatrização da ferida, seguindo-se, pelo menos, mais 7 dias de terapêutica para manter uma atividade de fator IX entre 30% a 60% (UI/dl).

Sendo o tempo de semi-vida do FVIII de 8-12 horas, este requer injeções duas vezes por dia para manter os níveis terapêuticos, enquanto o tempo de semi-vida do FIX, sendo mais longo, aproximadamente de 24 h, uma injeção por dia é suficiente. A infusão contínua de fator pode ser desejável em situações de pós-cirurgia, devido a uma maior segurança na manutenção dos níveis de fator (Kasper et al., 2015).

6.2 - Desmopressina

Este tipo de terapia consiste na administração de 1-desamino-8-D-arginina vasopressina (DDAVP) mais conhecida por desmopressina. A desmopressina é um análogo sintético da vasopressina que provoca um aumento temporário do FVIII e fator de von Willebrand (FvW) através de um mecanismo que envolve a libertação destes fatores a partir de células endoteliais. Contudo, a desmopressina não tem qualquer efeito no FIX, podendo apenas ser utilizada no tratamento da hemofilia A e na doença de von Willebrand (NHLBI, 2007; OMS, 2002).

Os pacientes com hemofilia A ligeira ou moderada devem ser testados para determinar se respondem ao tratamento de DDAVP antes da sua aplicação terapêutica. Em

pacientes com doença de von Willebrand, o uso de desmopressina é contraindicado no tipo 2B e não tem efeito nos pacientes tipo 3. A repetição de 3 dosagens consecutivas tornam o efeito do fármaco ineficaz, uma vez que a dosagem repetida de DDAVP resulta em taquifilaxia visto que o mecanismo consiste no aumento da libertação dos fatores, e não na nova síntese de FVIII e FvW (Kasper et al., 2015).

A desmopressina pode ser administrada por via intravenosa ou por pulverização intranasal de alta concentração (1,5 mg / mL), sendo esta última via, uma terapia não transfusional prática para administração em casa. O pico de atividade, quando administrada por via intravenosa, é de aproximadamente 30 minutos, enquanto quando administrado por via intranasal é de 2 horas. Para pacientes que não respondem a este tratamento ou em que a desmopressina é contra indicada, é necessário recorrer à terapia de substituição por infusão de concentrado de FvW, VIII-FvW ou de FVIII, consoante o caso. (Bertolini et al., 2013; João, 2001; Kasper et al., 2015; Shaz et al., 2013).

6.3 - Desenvolvimento de inibidores

A administração de fatores de coagulação tornou-se uma terapêutica comum, no entanto, a tolerância imunológica adquirida foi um grave problema que se desenvolveu a qual inibe a efetividade do tratamento. A formação de alo-anticorpos (inibidores) ao FVIII ou ao FIX, por parte do doente, é hoje em dia a maior complicação no tratamento da hemofilia, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade. Pacientes com ausência de produção de FVIII ou FIX, e que usam fatores recombinantes como terapêutica em vez dos concentrados plasmáticos, têm uma maior probabilidade de desenvolverem inibidores. A prevalência dos inibidores de FVIII ronda os 5-10% de todos os casos de hemofilia A e em casos graves chegam aos 20%, enquanto para o FIX da hemofilia B, se limitam a 3-5%. Já o aparecimento dos inibidores desenvolve-se mais facilmente em casos de hemofilia A grave durante os primeiros 150 dias após exposição ao tratamento (Bertolini et al., 2013; Coppola, 2010).

O diagnóstico dos inibidores pode ser feito clinicamente e laboratorialmente. A nível clínico, a redução da eficácia do concentrado de fator infundido, o aumento de ocorrência de episódios hemorrágicos e a necessidade de aumentar o consumo de concentrado de fatores, sugere o desenvolvimento de inibidores por parte do paciente. A nível laboratorial, o teste que confirma a presença é um TTPa misturado com plasma

saudável. Na maioria dos pacientes com hemofilia, a mistura de 1:1 corrige por completo o tempo de coagulação. No entanto, num paciente com inibidores, mesmo após a mistura o tempo de coagulação será sempre anormalmente prolongado devido ao efeito neutralizador nos fatores de coagulação por parte do inibidor. O teste Bethesda é utilizado para a quantificação de inibidores, cujos resultados são expressos em Unidades Bethesda (UB) correspondendo à quantidade de anticorpos circulantes capazes de inativar 50% do fator VIII ou IX existente em 0,1 ml de plasma normal (Baxter, 2013; Bertolini et al., 2013; Chaves & Rodrigues, 2008; Vieira, 2012).

Clinicamente, pacientes com inibidores são classificados como inibidores de baixo título ou alto título, de forma a fornecer orientações para uma terapia ideal. A terapia de inibidores visa o controlo dos episódios hemorrágicos agudos e a erradicação dos inibidores (Bertolini et al., 2013).

Pacientes com baixo título de inibidores (<5 UB) são tratados com doses altas de fator VIII (50-100 U/kg) resultando num aumento reduzido, ou nulo, do título do inibidor. No entanto, em pacientes com inibidores de alto título (>10 UB) não respondem a concentrados de FVIII ou de FIX. Nestes casos, o controlo dos episódios hemorrágicos é alcançado usando “*agentes bypass*” Concentrado de Complexo Protrombínico (CCP), e mais recentemente com FVIIa recombinante, cujo uso terapêutico tem tido mais sucesso do que o uso de CCP ou de CCPa. Para a erradicação dos inibidores, a estratégia mais utilizada é a indução de tolerância imunológica (ITI), baseada na infusão diária das proteínas em falta até ao desaparecimento dos inibidores. Normalmente este tratamento requer períodos superiores a um ano, tendo uma taxa de sucesso de 60%. Resultados promissores foram obtidos na adição de anti-CD20 (anticorpo monoclonal - rituximab) como coadjuvante na erradicação de níveis elevados de inibidores em doentes submetidos a ITI (Bertolini et al., 2013; Coppola, 2010; Shaz et al., 2013).

6.3.1 - Agentes Bypass

Em Portugal como Agente Bypass temos o Feiba®, um complexo Protrombínico ativado contendo FII, FIX e FX inativado e FVII recombinante ativado. É indicado para o tratamento e profilaxia em doentes com hemofilia A e B com inibidores dos seus respetivos fatores e em doentes não hemofílicos com inibidores adquiridos. A administração deste fármaco varia dependendo da indicação. A Tabela 9 abaixo contém resumidamente a “*guideline*” quanto à dose de Feiba NF a administrar consoante o tipo de hemorragia (Baxter, 2011; George, 2015).

Tabela 9 - Guia de dosagens de acordo com o tipo de hemorragia, traduzido e adaptado (Baxter, 2011)

<i>Indicação</i>	<i>UI/kg</i>	<i>Intervalos de dosagem</i>	<i>Informação adicional</i>
<i>Hemorragia articular</i>	50-100	12 horas	Continuar o tratamento até que sinais claros de melhoria clínica apareçam (por exemplo, alívio da dor, redução de inchaço ou a mobilização da articulação). Duas administrações de 100 unidades / kg por dia ou uma dose diária total de 200 unidades / kg, a qual geralmente não deve ser excedida.
<i>Hemorragia das mucosas</i>	50-100	6 horas	Acompanhar atentamente o paciente (ex: examinar até a cessação de hemorragias visíveis) e realizar medições repetidas ao hematócrito do paciente. Duas administrações de 100 unidades / kg por dia ou uma dose diária total de 200 unidades / kg, a qual geralmente não deve ser excedida.
<i>Hemorragia de tecidos moles</i> (<i>ex:retroperitoneal</i>)	100	12 horas	Uma dose diária total máxima de 200 unidades / kg não deverá ser excedida.
<i>Hemorragia Severa</i>	100	6-12 horas	Pode ser indicada em intervalos de 6 horas até que uma melhoria clínica evidente seja alcançada. Doses únicas de 100 unidades / kg e uma dose diária de 200 unidades / kg não devem ser excedidas, a menos que a gravidade da hemorragia fundamente e justifique a utilização de doses mais elevadas.

No caso de hemorragias em articulações, músculos ou tecidos moles, recomenda-se uma dose inicial de 50 – 75 UI/Kg de 12 em 12 horas até à obtenção de sinais de melhoria clínica. Em casos mais grave recomenda-se o aumento da dose para 100 UI/Kg. Em hemorragias da membrana mucosa, como em intervenção cirúrgica, é aconselhado o uso de uma dose de 50 UI/Kg de 6 em 6 horas, podendo-se aumentar para 100 UI/Kg caso a

hemorragia não pare. Em hemorragias severas como a do SNC, é aconselhado iniciar a terapêutica com uma dosagem de 100 UI/Kg de 12 em 12 horas, podendo ser administrada de 6 em 6 horas em situações mais específicas. Em qualquer um dos casos, é imperativo não exceder a dose máxima diária de 200 UI/Kg, pois pode induzir complicações tromboembólicas e em situações mais raras, ocorrência de enfarte do miocárdio (Baxter, 2011, 2013; George, 2015).

Esta formulação deve ser conservada a temperaturas inferiores a 25 °C e não pode ser congelada. Após reconstituição tem validade de 3 horas e em embalagem fechada de 2 anos (Baxter, 2013; Infarmed, 2015a).

6.4 - Fármacos recombinantes usados em Portugal

6.4.1 - Eptacog alfa

O eptacog alfa (ativado) é um fator VIIa recombinante de coagulação humana, que atua diretamente sobre o FX, independentemente da ativação do FVIII e do FIX. O eptacog alfa reduz o risco de transmissão de agente infecciosos, porque é desenvolvido por tecnologia recombinante e não através do plasma humano, (EMA, 2010c).

Em Portugal, esta molécula está disponível com o nome NovoSeven®, sob a forma de um pó e de um solvente, para ser reconstituído numa solução injetável e administrado na forma de bólus. Este medicamento é utilizado no tratamento e profilaxia de crises hemorrágicas, seja em doentes com hemofilia congénita, adquirida ou desenvolvimento de inibidores do FVIII ou FIX (EMA, 2010c).

Os efeitos adversos não são comuns. No entanto, as mais frequentes (com uma incidência de 1 em cada 1000 a 10000 pacientes) incluem a diminuição da resposta terapêutica, pirexia, erupções cutâneas, prurido, urticárias e acontecimentos tromboembólicos venosos. Como contra indicação, o eptacog alfa não pode ser administrado a pessoas com hipersensibilidade a esta substância, ou com alergia a proteínas de rato, hamster ou bovinas (EMA, 2010c).

O NovoSeven® tem um prazo de validade de 3 anos. Deve ser conservado a temperaturas inferiores a 25°C ao abrigo da luz. Pode ser conservado num frigorífico mas não se deve congelar. Uma vez reconstituído, o produto deve ser usado imediatamente. Contudo se por algum motivo não o for, o prazo de validade em temperaturas inferiores a 25°C é de 6 horas, podendo atingir um máximo de 24 horas de validade se for preservado entre 2 a 8°C (EMA, 2010c).

6.4.2 - Octocog alfa

O octocog alfa é um fator de coagulação humano VIII recombinante utilizado no tratamento da hemofilia A. Atualmente existem em Portugal três formulações disponíveis de octocog alfa, Advate, Helixate NexGen e Kogenate. Os três são medicamentos de pó e solvente para solução injetável, utilizados no tratamento e profilaxia de hemorragias em doentes com hemofilia A. Contudo, nenhum deles possui fator von Willebrand, logo não estão indicados para doença de von Willebrand (EMA, 2012a, 2012b, 2012c).

O Advate da Baxter AG. é produzido por tecnologia recombinante em células de ovário de hamster Chinês (CHO), enquanto o Helixate NextGen e o Kogenate, ambos da Bayer Pharma AG., utilizam a mesma tecnologia para obter o FVIII recombinante a partir de células renais de hamster bebé (BHK), contendo o gene humano do FVIII. A dose, frequência e duração da terapêutica de substituição de qualquer um dos produtos referidos, devem ser determinadas de acordo com as necessidades do doente. O tratamento “*on demand*” deve ser feito utilizando a Fórmula 1 e a Tabela 7 como referência. Todos eles apresentam reações adversas, sendo que as mais frequentes se apresentem sob a forma de reações relacionadas com a pele, como prurido e urticária mas também, e mais grave, a formação de inibidor do FVIII (EMA, 2012a, 2012b, 2012c).

Estes produtos devem ser armazenados ao abrigo da luz, entre 2 – 8°C, sendo imperativo não deixar congelar obtendo, desta forma, um prazo de validade médio de 2 anos. Podem no entanto ser conservados à temperatura ambiente (<25°C), com a desvantagem de reduzir o seu prazo de validade para 2 a 12 meses conforme a preparação ou produto. Se tal for o caso, deve ser escrito na embalagem o novo prazo de validade, e o produto não poderá ser posto de volta no frigorífico (Infarmed, 2015a).

6.4.3 - Moroctocog alfa

O moroctocog alfa é também um FVIIIr, comercializado atualmente em Portugal sob o nome de ReFacto AF por parte da Pfizer Ltd. Este produto sob a forma de pó e solvente para solução injetável é produzido por tecnologia recombinante em células de ovário de hamster chinês (CHO). Tal como a molécula octocog alfa, este não predispõe o FvW incluído portanto também não está indicado para a doença de von Willebrand (EMA, 2015; INFARMED, 2015).

Como qualquer terapêutica á base de FVIII no tratamento e profilaxia de hemofilia A, a posologia deste produto deve ter em conta a Fórmula 1 e a Tabela 7 como orientação para a dose a administrar em episódios hemorrágicos e durante cirurgias. Ter em atenção a possibilidade de reações alérgicas por parte do paciente às proteínas de hamster e, caso o paciente estiver com ingestão controlada de sódio, o facto de, após a reconstituição de ReFacto AF, este apresentar 1,23 mmol (29 mg) de sódio por frasco. Semelhantemente ao octocog, o moroctocog apresenta reações adversas frequentes como

cefaleias, náuseas acompanhadas de vômitos, vasculopatias como hematomas e o desenvolvimento de inibidores de FVIII (EMA, 2015).

O ReFacto AF deve se armazenado e transportado dentro da embalagem a uma temperatura de 2 – 8°C, não podendo ser congelado, tendo um prazo de validade de 3 anos. Pode também ser armazenado à temperatura ambiente (<25°C) tendo demonstrado um prazo de validade de 3 meses. Após reconstituição o ReFacto apresenta uma estabilidade física e química durante 3 horas durante as quais deve ser utilizado ou descartado (EMA, 2015; INFARMED, 2015).

6.4.4 - Nonacog alfa

O nonacog alfa é um fator de coagulação humano IX recombinante, indicado no controlo e profilaxia de episódios hemorrágicos de rotina ou cirúrgica em doentes com hemofilia B. Em Portugal esta molécula é comercializada pela Pfizer Ltd., com o nome de BeneFIX. O FIXr é secretado por células mamíferas geneticamente manipuladas derivadas de linhagens celulares do ovário de hamster Chinês (CHO) (EMA, 2010b).

A utilização da terapêutica de substituição depende da gravidade da deficiência de FIX e do estado clínico em geral do paciente. Como tal, para um tratamento “*on demand*” é necessário calcular a dose necessária utilizando a Fórmula 2 como auxílio do Tabela 8 para orientação da posologia em caso de episódios hemorrágicos e cirurgia. A administração deste fármaco por perfusão contínua não é recomendada. As reações adversas mais comuns associadas à administração desta formulação incluem, o desenvolvimento de inibidores, cefaleias náuseas e a formação de trombos (EMA, 2010b; Shaz et al., 2013).

O transporte e armazenamento deste produto deve ser feito ao abrigo da luz, entre os 2 - 8°C, tendo o cuidado de não deixar congelar, mantendo assim uma validade de 2 anos. Caso seja armazenado à temperatura ambiente, se não exceder os 30°C, poderá ser utilizado num período de 6 meses. Após reconstituição, se não utilizado de imediato, o produto irá manter uma estabilidade química e física durante 3 horas a temperaturas até 25°C (Infarmed, 2015a).

Capítulo 7 – Fabrico de Hemoderivados

O plasma humano contém muitas proteínas que após extração, purificação e formulação em medicamentos, são de grande importância médica, mas a quantidade de plasma para fracionamento é limitado pelo número de doadores. A nível industrial, o fabrico de medicamentos derivados do plasma é feito através do fracionamento de grandes “*pools*” de plasma, podendo ser obtido por separação do sangue total ou por aférese. O potencial de transmissão viral é bem reconhecido e agravado por causa do grande número de doações que são reunidas nas “*pools*”. Um único lote contaminado (podendo o agente viral ser proveniente de uma única doação), tem a capacidade de transmitir a doença viral a um grande número de destinatários (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011).

As “*pools*” de plasma humano são preparações estéreis congeladas, não pirogênicas obtidas a partir de plasma humano derivado de doadores pertencentes ao mesmo grupo sanguíneo ABO. As medidas tomadas para prevenir a infeção incluem a seleção de doadores, o rastreio de doações individuais, a utilização de marcadores de infeção em “*pools*” de plasma e, inativação e remoção de viral (Council of Europe, 2011; EMA, 2011).

O fracionamento de proteínas plasmáticas foi primeiro realizado por E. J. Cohn, que estabeleceu um processo onde as proteínas plasmáticas podem ser isoladas com base em diferentes características de solubilidade de cada uma em: condições específicas de pH, concentração de proteína, temperatura, força iónica, e concentração de etanol. Este trabalho pioneiro foi a base para o desenvolvimento de todos os processos de fracionamento atuais, que hoje em dia incluem novas técnicas como a abordagem cromatográfica para uma melhor pureza e recuperação das proteínas terapêuticas derivadas do plasma (Bertolini et al., 2013).

O descongelamento das doações de plasma é o primeiro passo no processo de fracionamento do plasma, agrupando-se num tanque para a formação das “*pools*”. O volume das doações individuais de plasma depende do método de recolha, e varia entre 250 mL para o plasma recuperado (obtido a partir de sangue total) a 700 - 800 ml de plasma “fonte” (obtido por plasmaférese) (Bertolini et al., 2013).

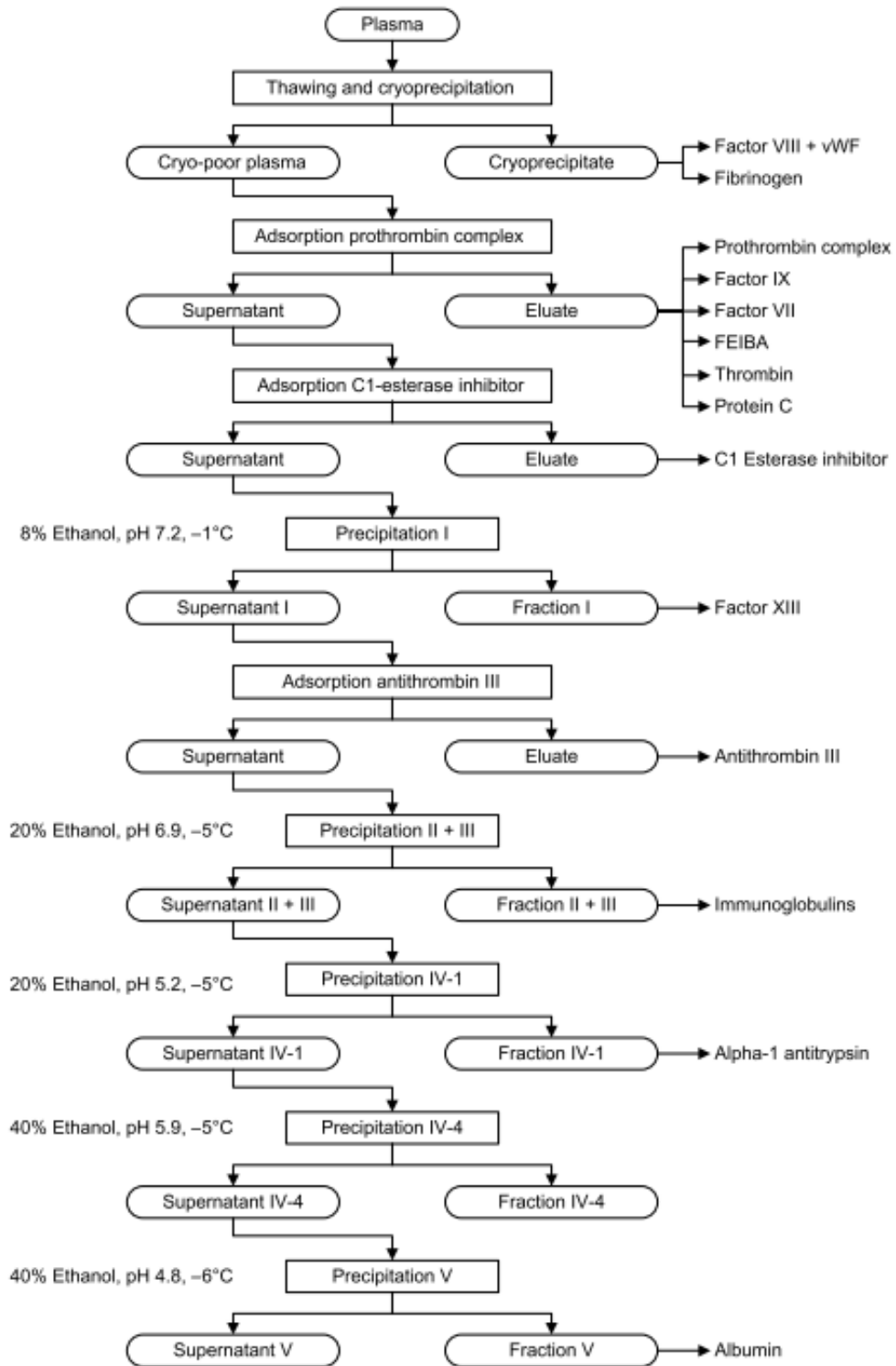


Figura 4 - Processo e etapas padrão do fracionamento de plasma, para a produção de proteínas terapêuticas (Bertolini et al., 2013)

7.1 - Métodos Precipitação

A tecnologia de fracionamento atual assenta em grande parte em dois métodos de precipitação: a crioprecipitação (método físico) e a precipitação fracionada com etanol frio (método físico-químico) (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011).

7.1.1 - Físicos

A crioprecipitação é único o método de precipitação físico, habitualmente usado como o primeiro passo na produção de concentrados de FVIII, FvW e fibrinogénio como descrito por Hetzl na Figura 4. A purificação destes fatores é feita posteriormente através de técnicas de precipitação, adsorção dos restantes fatores de coagulação, separação cromatográfica e inativação viral levando assim à obtenção do produto final (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011).

7.1.2 - Físico-Químicos

Os métodos físico-químicos baseiam-se no fracionamento com etanol, o qual deriva do Método de Cohn, utilizado principalmente na obtenção de albumina e imunoglobulinas. Este método envolve várias etapas de processamento sucessivas em concentrações de etanol bem definidas, associadas a mudanças de pH, temperatura, e osmolalidade que resultam na precipitação seletiva dos diferentes derivados plasmáticos (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007; EMA, 2011).

7.2 - Métodos Cromatográficos

A cromatografia é um processo utilizado com o objetivo de obter um produto de alta pureza assegurando uma extração segura de proteínas lábeis, uma otimização na recuperação proteica e remoção dos agentes utilizados na inativação viral, como no caso do solvente/detergente. Existem diferentes procedimentos cromatográficos disponíveis para serem usados na purificação e produção de produtos medicinais derivados do plasma, sendo que a escolha do método mais eficaz tem que ter em conta a seletividade e rendimento do seu processo. Os fatores que condicionam esta escolha dependem da qualidade das resinas cromatográficas, capacidade da coluna, a natureza e concentração das proteínas alvo, força iónica, pH dos tampões, tempo de contato e temperatura do processo (Burnouf, 2007; EMA, 2011).

De momento a cromatografia de troca iónica e a cromatografia de afinidade são os dois métodos mais frequentemente utilizados pela indústria para capturar as proteínas a uma

força iónica e pH fisiológico, de forma a melhor preservar as suas atividades funcionais. A cromatografia de troca iónica utiliza resinas com grande capacidade de ligação proteica, cujo poder de ligação e de eluição de proteínas pode ser controlado de forma precisa, simplesmente ajustando o pH e condutividade. Já a cromatografia por afinidade utiliza uma tecnologia de grupos de ligandos específicos numa fase estacionária, que promovem a adsorção de proteínas presentes na fração utilizada, através de ligações moleculares reversíveis. Podem ser usados anticorpos monoclonais assim como enzimas ou hormonas (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007).

Novas resinas estão a ser desenvolvidas utilizando novas matrizes bem como novos ligandos. Estas resinas mostram grande potencial, com elevadas capacidades de ligação mesmo a altas condutividades, e toleram altas taxas de fluxo. Estes resultados permitem a passagem direta da solução plasmática de uma coluna para outra, sem a necessidade de trocar o tampão ou concentração do mesmo, minimizando o tempo de processamento e contribuindo para um aumento de rendimento (Bertolini et al., 2013).

Em 2005, a Prometic BioTherapeutics Inc. desenvolveu um processo cromatográfico de afinidade em cascata, que utiliza um número de ligandos de afinidade, para a purificação de todas as principais proteínas plasmáticas terapêuticas. Cada passo de adsorção pode ser comparado com as frações intermédias do Método de Cohn. Um trabalho promissor que embora tenha praticamente os mesmos custos de processamento, apresenta duas grandes vantagens que podem aumentar as receitas a longo prazo: minimizam o tempo de processamento e apresentam um maior rendimento de produto (Bryant et al., 2005).

Os processos de adsorção por cromatografia, também podem contribuir para a segurança do vírus por meio de remoção viral moderada, nomeadamente de vírus não encapsulados. No entanto, devida inativação/remoção viral deve ser feita para assegurar segurança viral do produto (Bertolini et al., 2013).

7.3 - Inativação viral

A inativação e remoção viral é um processo obrigatório na produção de qualquer derivado do plasma. Este processo deve ser validado em conformidade com as diretrizes atuais, e o fornecimento de dados de todos os métodos utilizados, é essencial para a aquisição da licença do produto (EMA, 2011).

7.3.1 - Procedimentos de remoção viral

7.3.1.1. Precipitação com etanol

O fracionamento com etanol contribui para a segurança viral na obtenção de produtos de albumina e imunoglobulina, por remoção de vírus ao invés da sua inativação. Apesar do efeito desinfetante do etanol, que ocorre principalmente à temperatura ambiente ou superior, o fracionamento de plasma é feito a temperaturas baixas para evitar a desnaturação das proteínas. Assim, o efeito de remoção viral por parte do etanol é atingido através da compartimentação diferencial durante as etapas de precipitação, resultando em precipitados virais e em sobrenadantes livres de vírus. Os sobrenadantes são posteriormente processados até se atingir o derivado plasmático requerido (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011).

7.3.1.2. Redução viral por filtração

A nanofiltração é usualmente utilizada para a remoção de vírus de pequenas moléculas, tais como imunoglobulinas, FIX e antitrombina. Embora seja um processo fácil de se aplicar, existem algumas dificuldades na remoção dos vírus de menores portes, mantendo ao mesmo tempo um rendimento satisfatório do produto, especialmente para o material de peso molecular elevado, tais como o Fator VIII (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011)

Este método é difícil de monitorizar e portanto, não garante uma margem de segurança suficiente, sendo apenas utilizado como complemento no tratamento de inativação viral, proporcionando uma maior segurança contra vírus não encapsulados ou outros agentes infecciosos resistentes (Burnouf, 2007).

7.3.2 - Procedimentos de inativação viral

7.3.2.1. Solvente/detergente

O tratamento com solvente-detergente (SD), desenvolvido em meados dos anos 1980, continua a ser o procedimento de inativação viral mais frequente na produção de produtos derivados do plasma, utilizando como solvente o *tri(n-butil)fosfato* combinado com um detergente não iónico como o *Triton X-100* ou *Tween 80* (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007; EMA, 2011).

O tratamento com SD inativa os vírus com invólucro lipídico dentro dos primeiros minutos de tratamento para um nível inferior ao limite de deteção. Representa um processo robusto que tolera grandes intervalos de pH, concentração de proteínas e temperatura, preservando a atividade funcional até mesmo das proteínas plasmáticas mais lábeis, mas não tendo qualquer efeito em vírus não encapsulados (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007; EMA, 2011).

Este processo necessita de ser feito na ausência de agregados, os quais podem abrigar vírus e protege-los do tratamento. De forma a evitar este acontecimento, uma filtração da solução deve ser feita previamente, de forma a eliminar os agregados. Uma validação física deve ser efetuada durante o tratamento SD, demonstrando uma mistura homogénea a temperaturas controladas durante todo o processo. No final, é necessário remover os agentes SD, para níveis residuais de algumas partes por milhão, geralmente sendo feito por adsorção cromatográfica (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007; EMA, 2011)

7.3.2.2. Baixo pH

O tratamento de frações a pH baixo, aproximadamente de 4, é um procedimento eficaz na inativação de vírus em geral, sejam eles encapsulados ou não. Este processo é habitualmente utilizado na obtenção de imunoglobulinas, sendo também utilizado na inativação de vírus encapsulados em frações com etanol para produção de albumina (Burnouf, 2007; EMA, 2011).

Em qualquer uma das situações, os fatores que determinam a eficácia deste procedimento baseiam-se no valor de pH, o tempo e temperatura do tratamento e a composição da solução fracionada, assim como a estirpe de vírus utilizada nos estudos de validação (por exemplo, o HAV e parvovirus resistem a este método) (EMA, 2011).

7.3.2.3. Aquecimento de soluções aquosas

A pasteurização é também um processo viável na eliminação viral, que de acordo com a farmacopeia, o método consiste no aquecimento da fração aquosa a 60°C por um período de 10 horas, no seu recipiente final. Este método é eficaz em vários vírus encapsulados e não encapsulados, incluindo o Parvo B19V, atuando na desnaturação das proteínas virais e inibindo a sua replicação. É utilizado principalmente na produção

de albumina, imunoglobulinas e FVIII. O uso de estabilizadores poderá ser necessário para limitar a perda da funcionalidade proteica a altas temperaturas, mas a presença destes, protege os vírus da inativação tornando a escolha deste método de inativação algo controversa (Bertolini et al., 2013; Burnouf, 2007; EMA, 2011).

7.3.2.4. Aquecimento de produtos liofilizados

Em produtos liofilizados, a temperatura e a duração do aquecimento têm que ser monitorizados metodicamente de forma a manter a integridade proteica ao longo do processo. Um parâmetro crítico neste processo de inativação viral é a humidade residual do liofilizado, sendo que os seus limites máximos e mínimos devem ser bem definidos e controlados. A medição da humidade residual deve ser feita em cada recipiente de produto final por métodos não destrutivos como espectroscopia de infravermelho próximo (Bertolini et al., 2013; EMA, 2011).

Capítulo 8 – Conclusão

Com este trabalho constatámos que a medicina de transfusão está em constante desenvolvimento, havendo a considerar dois grandes focos de interesse: por um lado o aperfeiçoamento das técnicas de produção, com maior segurança viral e maior rendimento de proteínas obtidas; e por outro, o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, como é o caso dos produtos recombinantes.

Para além do aperfeiçoamento e criação de novos hemoderivados, diferentes estudos têm contribuído para que vários produtos já disponibilizados no mercado possam ter novas indicações clínicas. Efetivamente, os medicamentos derivados do plasma, produzidos hoje em dia, são cada vez mais seguros, mais eficazes e encontram-se disponíveis em grandes quantidades. Contudo, exceção feita aos produtos recombinantes, os medicamentos derivados do plasma humano não deixam de ser um recurso limitado e dispendioso, cuja demanda pelos centros hospitalares cresce de ano para ano.

Numa era de perpétua inovação como a que estamos a viver, é imperioso que façamos um esforço para nos mantermos atualizados, valorizando cada vez mais a formação contínua dos profissionais de saúde. Só assim poderemos acompanhar os avanços decorrentes da investigação feita e prestar um serviço de qualidade à comunidade.

Bibliografia

- Ariëns, R. a S., Lai, T., Weisel, J. W., Greenberg, C. S., Grant, P. J., & Arie, R. a S. (2011). Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms Review article Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood Journal*, 100(3), 743–754. <http://doi.org/10.1182/blood.V100.3.743>
- Baxter. (2011). FEIBA NF. Disponível em: http://www.feiba.com/us/forms/feiba_nf_pi.pdf
- Baxter. (2013). Resumo das Características do Medicamento - FEIBA NF. *European Medicines Agency*.
- Bernardi, M., Maggioli, C., & Zaccherini, G. (2012). Human albumin in the management of complications of liver cirrhosis. *Critical Care (London, England)*, 16(2). <http://doi.org/10.1186/cc11218>
- Bertolini, J., Goss, N., & Curling, J. (2013). *Production of Plasma Proteins for Therapeutic Use* (1ª ed). New Jersey: JohnWiley& Sons, Inc., Publication.
- Bryant, C., Baines, D., Carbonell, R., Chen, T., Curling, J., Hayes, T., ... Hammond, D. (2005). A new, high yielding, affinity cascade for sequential isolation of plasma proteins of therapeutic value. In *Extended Reports from the Fourth International Plasma Product Biotechnology Meeting*. Crete, Greece.
- Burnouf, T. (2007). Modern Plasma Fractionation. *Transfusion Medicine Reviews*. <http://doi.org/10.1016/j.tmr.2006.11.001>
- Busher, J. T. (1990). Serum Albumin and Globulin. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*.
- Carneiro, J., & Junqueira, L. (2008). *Histologia Básica - Junqueira e Carneiro* (11ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Chaves, D. G., & Rodrigues, C. V. (2008). Desenvolvimento de inibidores do fator VIII na hemofilia A. *Revista Brasileira de Hematologia E Hemoterapia*.
- Cheung, E., & Liebman, H. A. (2009). Anti-RhD immunoglobulin in the treatment of immune thrombocytopenia. *Biologics: Targets and Therapy*.
- Chiuso, F., Ferrari, I. C., & Santos, I. A. T. (2005). Avaliação do desempenho dos reagentes do tempo de tromboplastina parcial ativada utilizados para detectar o anticoagulante lúpico. *Jornal Brasileiro de Patologia E Medicina Laboratorial*. <http://doi.org/10.1590/S1676-24442005000300004>
- Coppola, A. (2010). Treatment of hemophilia: a review of current advances and ongoing issues. *Journal of Blood Medicine*. <http://doi.org/10.2147/JBM.S6885>
- Council of Europe. (2011). Human Plasma for Fractionation. In *European Pharmacopoeia* (7ª ed.). Strasbourg.
- CSL Behring. (2014). Haemate P - Summary of Product Characteristics (SPC) -. Disponível em: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19412>
- Decreto-Lei n.º 124/2011. (2011). Decreto-Lei n.º 124/2011.

- Decreto-Lei n.º 185/2015. (2015). Decreto-Lei n.º 185/2015 de 2 de setembro. *Diário Da República Ministério Da Saúde*, 5999–6000.
- Decreto-lei nº 176/2006. Estatuto do Medicamento (2006).
- Decreto-Lei nº 267/2007. Ministério da Saúde, 1ª Série Diário da República 4696–4717 (2007).
- Deloughery, T. G. (2004). *Hemostasis & Thrombosis* (2ª ed.). Portland, Oregon: Landes Bioscience.
- Despacho nº 1051/2000. (2000). Ministério da Saúde.
- DGS. (2007). Profilaxia da Isoimunização Rh. Disponível em: <http://www.saudereprodutiva.dgs.pt/normas-e-orientacoes/gravidez/profilaxia-da-isoimunizacao-rh-pdf.aspx>.
- DGS. (2015). Utilização Clínica de Plasma no Adulto. *Direção Geral Da Saúde*. Disponível em: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0092012-de-16122012-png.aspx>.
- Directiva 2001/83/CE. Parlamento Europeu e do Conselho, Jornal Oficial das Comunidades Europeias (2001).
- Directiva 2003/63/CE. Parlamento Europeu e do Conselho (2003).
- Durandy, a., Kaveri, S. V., Kuijpers, T. W., Basta, M., Miescher, S., Ravetch, J. V., & Rieben, R. (2009). Intravenous immunoglobulins-understanding properties and mechanisms. *Clinical and Experimental Immunology*. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04022.x>
- Eales, L. (2003). *Immunology for life scientists. Immunology*.
- EMA. (2007). Resumo das Características do Medicamento - Ceprotin. *European Medicines Agency*.
- EMA. (2010a). Resumo das Características do Medicamento - BeneFIX. *European Medicines Agency*, 1–29.
- EMA. (2010b). Resumo das Características do Medicamento - BeneFIX. *European Medicines Agency*.
- EMA. (2010c). Resumo das Características do Medicamento - NovoSeven. *European Medicines Agency*. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000074/WC500030873.pdf
- EMA. (2011). Guideline on plasma-derived medicinal products, 44(Julho 2011).
- EMA. (2012a). Resumo das Características do Medicamento - ADVATE. *European Medicines Agency*, 1–29.
- EMA. (2012b). Resumo das Características do Medicamento - Helixate NextGen. *European Medicines Agency*.
- EMA. (2012c). Resumo das Características do Medicamento - Kogenate. *European Medicines Agency*.

- Falcão, H., & Japiassú, A. M. (2011). Uso de albumina humana em pacientes graves: controvérsias e recomendações. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. <http://doi.org/10.1590/S0103-507X2011000100014>
- Farahany, J. (2014). *Coagulation Cascade, It's actually pretty simple!* youtube - Prep4Step. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=IAINQI5X6s0>
- Farrugia, A., Marcella, V., & Quinti, I. (2015). Immunoglobulin therapy in the 21st century - the dark side of the moon. *Transfusion*. <http://doi.org/10.1111/trf.12897>
- Feasby, T., Banwell, B., Benstead, T., Bril, V., Brouwers, M., Freedman, M., ... Wadsworth, L. (2007). Guidelines on the Use of Intravenous Immune Globulin for Neurologic Conditions. *Transfusion Medicine Reviews*.
- Forsberg, P.-O., & Martin, S. C. (1991). Phosphorylation/Dephosphorylation and the Regulation of Fibrinogen and Complement Factor C3. *Upsala Journal of Medical Sciences*. <http://doi.org/10.3109/03009739109179261>
- Fritsma, G. (2014). Platelet structure and function. *Clinical Laboratory Science*.
- Gailani, D., & Renné, T. (2007). The intrinsic pathway of coagulation: A target for treating thromboembolic disease? *Journal of Thrombosis and Haemostasis*.
- Gale, A. (2011). Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol*. <http://doi.org/10.1177/0192623310389474>.Current
- George, F. (2015). Norma da Direção-Geral da Saúde Seleção e Uso de Produtos Terapêuticos para o Tratamento de Utentes com Coagulopatias Congénitas. *Direção-Geral Da Saúde*.
- Germishuizen, W. A., Gyure, D. C., Stubbings, D., & Burnouf, T. (2014). Quantifying the thrombogenic potential of human plasma-derived immunoglobulin products. *Biologicals*.
- Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. (2012). *Essential Haematology* (6^a ed.). Wiley-Blackwell. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Infarmed. (n.d.). Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/formulario/navegacao.php?paaid=213>
- Infarmed. (2006). Resumo das Características do Medicamento - Varfarina.
- Infarmed. (2011a). Resumo das Características do Medicamento - Haemate P.
- Infarmed. (2011b). Resumo das Características do Medicamento - Wilate.
- Infarmed. (2013a). *Prontuário Terapêutico-11*.
- Infarmed. (2013b). Resumo Das Características Do Medicamento - WinRho.
- Infarmed. (2014a). Certificado Oficial Europeu de Libertação de Lote de Medicamentos derivados do sangue ou plasma humano. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/COMPROVACAO_DA_QUALIDADE/COELL
- Infarmed. (2014b). Pools de plasma. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/COMPROVACAO_DA_QUALIDADE/COELL/POOLS_PLASMA

- Infarmed. (2014c). Resumo das Características do Medicamento - Albumina. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 1689–1699.
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Infarmed. (2015a). Infomed. Disponível em:
<https://www.infarmed.pt/infomed/inicio.php>
- Infarmed. (2015b). Resumo das Características do Medicamento - Antitrombina III Baxalta. Disponível em:
http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=33266&tipo_doc=fi
- Internacional Blood Plasma News. (2016). History of Plasma Fractionation. Disponível em: <http://marketingresearchbureau.com/plasma-industry/history-of-plasma-fractionation/>
- Jacobs, D., & Towne, J. (2013). Hemostasis and coagulation. In R. White & L. Hollier (Eds.), *Vascular Surgery - Basic Science and Clinical Correlations* (2^a ed.). Blackwell Futura. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- João, C. (2001). Doença de von Willebrand. *Medicina Interna*.
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. (2015). *Harrison's Principles of Internal Medicine* (19^a ed.). New York: McGraw-Hill, Medical Pub. Division. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Kent, J., Farrell, A.-M., & Soothill, P. (2014). Routine administration of Anti-D: the ethical case for offering pregnant women fetal RHD genotyping and a review of policy and practice. *BMC Pregnancy and Childbirth*. Disponível em:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3944436&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Knoebel, P. N. (2008). Severe congenital protein C deficiency: The use of protein C concentrates (human) as replacement therapy for life-threatening blood-clotting complications. *Biologics: Targets and Therapy*.
- Kobayashi, K. (2006). Summary of recombinant human serum albumin development. *Biologicals*.
- Konkle, B. A., Josephson, N. C., & Fletcher, S. N. (2014). Hemophilia A. *GeneReviews*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1404/>
- Lenting, P. j., van Mourik, J. A., & Mertens, K. (1998). The Life Cycle of Coagulation Factor VIII in View of Its Structure and Function. *The Journal of The American Society of Hematology*.
- Liberati, A., Moja, L., Moschetti, I., Gensini, G. F., & Gusinu, R. (2006). Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients. *Internal and Emergency Medicine*, 1(3), 243–245.
<http://doi.org/10.1007/BF02934748>
- Liumbruno, G., Bennardello, F., Lattanzio, A., Piccoli, P., & Rossetti, G. (2009a). Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfusion*, 7(2), 132–150. <http://doi.org/10.2450/2009.0005-09>
- Liumbruno, G., Bennardello, F., Lattanzio, A., Piccoli, P., & Rossetti, G. (2009b).

- Recommendations for the use of antithrombin concentrates and prothrombin complex concentrates. *Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue*, 7(4), 325–34. <http://doi.org/10.2450/2009.0116-09>
- Lucas, M., Lee, M., Lortan, J., Lopez-Granados, E., Misbah, S., & Chapel, H. (2010). Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(6), 1354–1360.e4. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.040>
- Lupin, G., Amesse, C., Aubin, N., Baillargeon, L., & Lacroix, S. (2004). Factor I deficiency an inherited bleeding disorder. *Canadian Hemophilia Society*.
- Maas, C., Oschatz, C., & Renné, T. (2011). The plasma contact system 2.0. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 37(4), 375–81. <http://doi.org/10.1055/s-0031-1276586>
- Mayo Clinic. (2015). Hepatitis B immune Globulin. Disponível em: <http://www.mayoclinic.org/drugs-supplements/hepatitis-b-immune-globulin-intramuscular-route-intravenous-route/description/drg-20064160>
- McDougal, W. (2015). What Is Blood Plasma? - Function & Components - Video & Lesson Transcript | Study.com. Disponível em: <http://study.com/academy/lesson/what-is-blood-plasma-function-components.html>
- Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology* (13^a ed.). Bloomington, Indiana: McGraw Hill.
- Miao, H. Z., Sirachainan, N., Palmer, L., Kucab, P., Cunningham, M. a, Kaufman, R. J., & Pipe, S. W. (2004). Bioengineering of coagulation factor VIR for improved secretion. *The American Society of Hematology*, 103(9), 3412–3419. <http://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3591>.Supported
- Ministério da Saúde (Brasil). (2009). *Hemofilia congênita e inibidor : manual de diagnóstico e tratamento de eventos hemorrágicos*.
- Ministério da Saúde (Brasil). (2010). *Manual de diagnóstico laboratorial das coagulopatias hereditárias e plaqueopatias*.
- Ministério da Saúde do Brasil. (2010). *Guia para o uso de Hemocomponentes* (1^o edição). Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.saude.gov.br>
- Monroe, D., Hoffman, M., & Roberts, H. (2010). Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis. In *Williams Hematology* (8th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Nagelkerke, S. Q., & Kuijpers, T. W. (2014). Immunomodulation by IVIg and the Role of Fc-Gamma Receptors: Classic Mechanisms of Action after all? *Frontiers in Immunology*, 5(January), 674. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00674>
- NHLBI. (2007). *The diagnosis, evaluation, and management of von Willebrand disease*. U.S. National Institutes of Health (1^a ed., Vol. 73). <http://doi.org/10.1002/pbc.24337>
- O'Connell, N. (2013). *Practical Hemostasis and Thrombosis*. (D. O'Shaughnessy, M. Makris, & D. Lillicrap, Eds.) *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol.

- 53). Oxford: Blackwell Publishing.
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Octapharma. (2010a). Resumo das Características do Medicamento - OCTAGAM, Imunoglobulina humana normal (IgIV).
- Octapharma. (2010b). Resumo das Características do Medicamento - Rhesonativ.
<http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Octapharma. (2014). Resumo das Características do Medicamento - GAMMANORM, Imunoglobulina humana normal (SC/IMIg), 003, 1–3.
- OMS. (2002). O Uso Clínico do Sangue, 9–15.
- OMS. (2009). Safe blood and blood products: guidelines and principles for safe blood transfusion practice, 1–91.
- Orange, J. S., Hossny, E. M., Weiler, C. R., Ballow, M., Berger, M., Bonilla, F. a., ... Cunningham-Rundles, C. (2006). Use of intravenous immunoglobulin in human disease: A review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(4 SUPPL.).
- Pacheco Leal, D. (2004). *Bioquímica médica*. Disponível em:
<http://books.google.com.mx/books?hl=es&id=IxvzwWVjz40C&q=carboidratos#v=snippet&q=carboidratos&f=false>
- Perry, D. J. (2002). Factor VII Deficiency. *British Journal of Haematology*, 3, 689–700. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/sci-hub.io/doi/10.1046/j.1365-2141.2002.03545.x/pdf>
- Pimenta, L. (2011). Anticoagulantes na prática Clínica. Retrieved November 23, 2015, from <http://www.blogbiotecnica.ind.br/blog/2011/12/anticoagulantes-na-pratica-clinica/>
- Portaria nº 348/98. (1998). Boas práticas de distribuição de medicamentos de uso humano e medicamentos veterinários. *Ministério Da Saúde*, 5.
- RCM. (2007). Tetagam P, 1–8.
- RCM. (2009). Gammaglobulina antihepatitis B, 1–8.
- Renné, T., Schmaier, A. H., Nickel, K. F., Blombäck, M., & Maas, C. (2012). In vivo roles of factor XII. *Blood*, 120(22), 4296–4303. <http://doi.org/10.1182/blood-2012-07-292094>
- Robert, P. (2011). Worldwide Supply and Demand of Plasma And Plasma- Derived Medicines. *Iranian Journal of Blood and Cancer*, 3(3), 111–120.
- Saldanha, C. (1996). Fibrinogénio: Repercussões Hemorreológicas. In C. Perdigoão & C. Saldanha (Eds.), *Fibrinogénio: da Fisiopatologia à Clínica* (1st ed., p. 10). Lisboa: Boehringer Mannheim.
- Shaz, B. H., Hillyer, C. D., Roshal, M., & Abrams, C. S. (2013). *Transfusion Medicine and Hemostasis - Clinical and Laboratory Aspects* (2^a ed.). Amsterdam: Elsevier.
<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-397164-7.01002-8>

- Silva, G. (2008). Hemoderivados e Hemocomponentes. *CEDUP*, 1–17. Disponível em: http://pessoal.educacional.com.br/up/50280001/6360407/hemocomponentes_e_hemoderivados.pdf
- Späth, P. J., Granata, G., La Marra, F., Kuijpers, T. W., & Quinti, I. (2015). On the dark side of therapies with immunoglobulin concentrates: the adverse events. *Frontiers in Immunology*. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00011>
- Srivastava, A., Brewer, A., Bunschoten, E., Key, N., Kitchen, S., Llinas, A., ... Street, A. (2012). *Guidelines for the Management of Hemophilia*. World Federation of Hemophilia (2ª ed.). Edinburgh: Blackwell Publishing Ltd. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x>.
- Stoller, J. K., Michota, F. A., & Mandell, B. F. (2009). *Cleveland Clinic Foundation Intensive Review of Internal Medicine* (5ª ed., Vol. 1). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Turgeon, M. L. (2010). *Clinical Hematology - Theory and Procedures* (5ª ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Ulldemolins, M., Roberts, J. A., Rello, J., Paterson, D. L., & Lipman, J. (2012). The Effects of Hypoalbuminaemia on Optimizing Antibacterial Dosing in Critically Ill Patients. *Clinical Pharmacokinetics*, 50(2), 99–110. <http://doi.org/10.2165/11539220-000000000-00000>
- Vieira, M. C. (2012). Inibidores de Fator VIII em pacientes portadores de hemofilia A. *ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA*.
- Vincent, J.-L., Russell, J. A., Jacob, M., Martin, G., Guidet, B., Wernerman, J., ... Gattinoni, L. (2014). Albumin administration in the acutely ill: what is new and where next? *Critical Care*, 18(4), 231. <http://doi.org/10.1186/cc13991>
- Vincent, J.-L., Russell, J. A., Jacob, M., Martin, G., Guidet, B., Wernerman, J., ... Gattinoni, L. (2014). Albumin administration in the acutely ill: what is new and where next? *Critical Care (London, England)*, 18(4), 231. <http://doi.org/10.1186/cc13991>
- Vivas, W. (2008). Manual PRÁTICO DE HEMATOLOGIA. *Files.Blog-Da-Rosania.Webnode.Com*, 1–33. Retrieved from [http://files.blog-da-rosania.webnode.com/200000431-779c6798fd/Manual de Hematologia.pdf](http://files.blog-da-rosania.webnode.com/200000431-779c6798fd/Manual%20de%20Hematologia.pdf)
- Vorjohann, S., Pitetti, J.-L., Nef, S., Gonelle-Gispert, C., Buhler, L., Fish, R. J., & Neerman-Arbez, M. (2013). DNA Methylation Profiling of the Fibrinogen Gene Landscape in Human Cells and during Mouse and Zebrafish Development. *PLoS ONE*, 8(8), e73089. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0073089>
- World Health Organization. (2002). The Clinical Use of Blood, 349. Disponível em: http://www.who.int/bloodsafety/clinical_use/en/Manual_EN.pdf
- Yang, F., Zhang, Y., & Liang, H. (2014). Interactive association of drugs binding to human serum albumin. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Young, B., Lowe, J., Steven, A., & Heath, J. (2008). *Histologia Funcional* (5ª ed.). Elsevier.

Anexos

Anexo 1 – Registo de dados relativos à rastreabilidade presentes no anexo IX do Decreto-Lei 267/2007

Registo dos dados relativos à rastreabilidade

Pelos serviços de sangue:

- 1) Identificação do serviço de sangue;
- 2) Identificação do dador de sangue;
- 3) Identificação da unidade de sangue;
- 4) Identificação do componente sanguíneo individual;
- 5) Data da colheita (ano/mês/dia);
- 6) Instalações às quais são distribuídas;
- 7) Unidades de sangue ou componentes sanguíneos ou destruição subsequente.

Pelos estabelecimentos:

- 1) Identificação do fornecedor do componente sanguíneo;
- 2) Identificação do componente sanguíneo disponibilizado;
- 3) Identificação do receptor transfundido;
- 4) Para unidades de sangue não transfundidas, confirmação da destruição subsequente;
- 5) Data da transfusão ou da destuição (ano/mês/dia);
- 6) Número do lote do componente, se relevante.

Anexo 2 – Registo de medicamentos derivados de plasma “Via Farmácia”

Número de série _____

VIAFARMÁCIA

MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO (Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos ^(*))

HOSPITAL _____ SERVIÇO _____

Médico (Nome legível) _____ N.º Mec. _____ ou Vinheta _____ Assinatura _____ Data ___/___/___	Identificação do doente (nome, B.I., n.º do processo, n.º de utente do SNS) _____ Apor etiqueta autocolante cisógrafa ou outro. Enviar tantos autocolantes, com a identificação do doente, quantas as unidades requisitadas	Quadro A
REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA (A preencher pelo médico)		Quadro B
Hemoderivado _____ (Nome, forma farmacêutica, via de administração) Dose/Frequência _____ Duração do tratamento _____ Diagnóstico/Justificação Clínica _____ _____ _____		

REGISTO de DISTRIBUIÇÃO N.º ___/___/___ (*) (A preencher pelos Serviços Farmacêuticos)				Quadro C
Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. Origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED
Enviado ___/___/___ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____				

() Excepcionalmente o Plasma Fresco Congelado Inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo no serviço de Imunohemoterapia*

Recebido ___/___/___ Serviço requisitante _____ N.º Mec. _____
(Assinatura)

<p>I. Instruções relativas à documentação: A requisição, constituída por 2 vias (VIAFARMÁCIA E VIASERVIÇO), é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos. VIASERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente. VIAFARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. Excepcionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da viafarmácia, poderá ser feito pelos serviços de imunohemoterapia.</p> <p>II. Instruções relativas ao produto medicamentoso: a) Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respectivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante. b) Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo, serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).</p>
--

