

CITOMETRIA DE FLUXO  
PARA DIAGNÓSTICO DE  
HEMOGLOBINÚRIA  
PAROXÍSTICA NOTURNA

Nº 491  
Novembro/2019



**medicamento**

**RELATÓRIO  
DE RECOMENDAÇÃO**



**MINISTÉRIO DA SAÚDE**

SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E INSUMOS ESTRATÉGICOS EM SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE GESTÃO E INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIAS E INOVAÇÃO EM SAÚDE  
COORDENAÇÃO-GERAL DE GESTÃO DE TECNOLOGIAS NA SAÚDE  
COORDENAÇÃO DE MONITORAMENTO E DE AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE

**CITOMETRIA DE FLUXO  
PARA DIAGNÓSTICO DE  
HEMOGLOBINÚRIA  
PAROXÍSTICA NOTURNA**

Brasília – DF  
2019



2019 Ministério da Saúde.

*Elaboração, distribuição e informações:*

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde  
Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde  
Coordenação-Geral de Gestão de Tecnologias na Saúde

Coordenação de Monitoramento e Avaliação de Tecnologias em Saúde

Esplanada dos Ministérios, bloco G, Edifício Sede, 8º andar

CEP: 70058-900 – Brasília/DF

Tel: (61) 3315-2848

Site: <http://conitec.gov.br/>

E-mail: [conitec@saude.gov.br](mailto:conitec@saude.gov.br)

*Elaboração do relatório*

COORDENAÇÃO DE MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO E DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE–  
CMATS/CGGTS/DGITIS/SCTIE/MS

*Elaboração de estudos*

CENTRO COLABORADOR DO SUS PARA AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS E EXCELÊNCIA EM SAÚDE - CCATES

*Revisão Técnica*

Lays Pires Marra

Edison Vieira de Melo Junior

Clementina Corah Lucas Prado



## **LISTA DE QUADROS**

<b>Quadro 1.</b> Estratégia de busca utilizada. ....	12
--	----

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Estimativa da população a ser diagnosticada por citometria de fluxo para HPN.....	15
<b>Tabela 2.</b> Estimativa da população a ser acompanhada por citometria de fluxo, de acordo com o PCDT da HPN.....	16
<b>Tabela 3.</b> Estimativa de impacto orçamentário decorrente da incorporação de citometria de fluxo para diagnóstico da HPN e acompanhamento de pacientes com alta atividade da doença (em reais) .....	16



## SUMÁRIO

1. CONTEXTO .....	6
2. APRESENTAÇÃO .....	8
3. RESUMO EXECUTIVO.....	9
4. CONDIÇÃO CLÍNICA.....	11
5. ANÁLISE DA EVIDÊNCIA.....	12
5.1 Metodologia e estudos selecionados.....	12
<b>5.2 SUMÁRIO DOS RESULTADOS MAIS RELEVANTES.....</b>	<b>13</b>
6. ANÁLISE DE IMPACTO ORÇAMENTÁRIO.....	15
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	17
8. RECOMENDAÇÃO PRELIMINAR DA CONITEC.....	18
9. CONSULTA PÚBLICA .....	18
10. RECOMENDAÇÃO FINAL .....	20
11. DECISÃO .....	20
12. REFERÊNCIAS .....	21



## 1. CONTEXTO

Em 28 de abril de 2011, foi publicada a Lei nº 12.401 que dispõe sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologias em saúde no âmbito do SUS. Esta lei é um marco para o SUS, pois define os critérios e prazos para a incorporação de tecnologias no sistema público de saúde. Define, ainda, que o Ministério da Saúde, assessorado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias – Conitec, tem como atribuições a incorporação, exclusão ou alteração de novos medicamentos, produtos e procedimentos, bem como a constituição ou alteração de protocolo clínico ou de diretriz terapêutica.

Tendo em vista maior agilidade, transparência e eficiência na análise dos processos de incorporação de tecnologias, a nova legislação fixa o prazo de 180 dias (prorrogáveis por mais 90 dias) para a tomada de decisão, bem como inclui a análise baseada em evidências, levando em consideração aspectos como eficácia, acurácia, efetividade e segurança da tecnologia, além da avaliação econômica comparativa dos benefícios e dos custos em relação às tecnologias já existentes.

A nova lei estabelece a exigência do registro prévio do produto na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para que este possa ser avaliado para a incorporação no SUS.

Para regulamentar a composição, as competências e o funcionamento da CONITEC foi publicado o Decreto nº 7.646 de 21 de dezembro de 2011. A estrutura de funcionamento da CONITEC é composta por dois fóruns: Plenário e Secretaria-Executiva.

O Plenário é o fórum responsável pela emissão de recomendações para assessorar o Ministério da Saúde na incorporação, exclusão ou alteração das tecnologias, no âmbito do SUS, na constituição ou alteração de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas e na atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), instituída pelo Decreto nº 7.508, de 28 de junho de 2011. É composto por treze membros, um representante de cada Secretaria do Ministério da Saúde – sendo o indicado pela Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) o presidente do Plenário – e um representante de cada uma das seguintes instituições: ANVISA, Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, Conselho Nacional de Saúde - CNS, Conselho Nacional de Secretários de Saúde - CONASS, Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde - CONASEMS e Conselho Federal de Medicina - CFM.

Cabem à Secretaria-Executiva – exercida pelo Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde (DGITS/SCTIE) – a gestão e a coordenação das atividades da CONITEC,



bem como a emissão deste relatório final sobre a tecnologia, que leva em consideração as evidências científicas, a avaliação econômica e o impacto da incorporação da tecnologia no SUS.

Todas as recomendações emitidas pelo Plenário são submetidas à consulta pública (CP) pelo prazo de 20 dias, exceto em casos de urgência da matéria, quando a CP terá prazo de 10 dias. As contribuições e sugestões da consulta pública são organizadas e inseridas ao relatório final da CONITEC, que, posteriormente, é encaminhado para o Secretário de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos para a tomada de decisão. O Secretário da SCTIE pode, ainda, solicitar a realização de audiência pública antes da sua decisão.

Para a garantia da disponibilização das tecnologias incorporadas no SUS, o decreto estipula um prazo de 180 dias para a efetivação de sua oferta à população brasileira.



## **2. APRESENTAÇÃO**

No dia 14 de dezembro de 2018, o Secretário da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde tornou pública, por meio da Portaria nº 77/2018, a decisão de incorporar o medicamento eculizumabe para tratamento de pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Tal incorporação, entretanto, foi atrelada às medidas condicionantes, dentre elas a elaboração do Protocolo de Uso do medicamento. Dessa forma, tornou-se necessário o estabelecimento dos critérios para inclusão, exclusão, acompanhamento e inter rompimento do tratamento destes pacientes, para viabilizar o cumprimento do disposto em lei.

Dentre tais critérios a serem definidos, o diagnóstico acurado dos pacientes a serem tratados é de extrema importância, dada a gravidade da doença, os possíveis riscos associados ao tratamento e o alto custo do medicamento ofertado. Para tal, esta nota técnica visa esclarecer as evidências disponíveis sobre a citometria de fluxo (CF) - método atualmente considerado por especialistas como padrão ouro no diagnóstico da HPN - e avaliar a sua ampliação de uso, uma vez que a tecnologia já está incorporada no SUS.



### 3. RESUMO EXECUTIVO

**Tecnologia:** Citometria de fluxo

**Indicação:** Diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna (HPN)

**Demandante:** Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde (SCTIE)

**Contexto:** No dia 14 de dezembro de 2018, o Secretário da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde tornou pública, por meio da Portaria nº77/2018, a decisão de incorporar o medicamento eculizumabe para tratamento de pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Tal incorporação, entretanto, foi atrelada às medidas condicionantes, dentre elas a elaboração do Protocolo de Uso do medicamento. Dentre tais critérios a serem definidos, o diagnóstico acurado dos pacientes a serem tratados é de extrema importância, dada a gravidade da doença, os possíveis riscos associados ao tratamento e o alto custo do medicamento ofertado. Para tal, esta nota técnica visa esclarecer as evidências disponíveis sobre a citometria de fluxo - método atualmente considerado por especialistas como padrão ouro no diagnóstico da HPN - e avaliar a sua ampliação de uso, uma vez que a tecnologia já está incorporada no SUS.

**Evidências científicas:** A busca de evidências foi realizada no Pubmed, limitado para estudos em humanos, e recuperou 437 artigos. Para a melhor tomada de decisão foram selecionados os estudos mais relevantes na investigação da acurácia, sensibilidade e especificidade da citometria de fluxo como método diagnóstico da HPN, como protocolos clínicos bem fundamentados e estudos de metodologia robusta. A citometria de fluxo é recomendada para diagnóstico de HPN pelas principais organizações de interesse (International Clinical Cytometry Society - ICCS, European Society for Clinical Cell Analysis - ESCCA, International PNH Interest Group - IPIG).

**Avaliação de Impacto Orçamentário (AIO):** Foi realizada uma análise simplificada de impacto orçamentário. Os custos assumidos nessa análise foram restritos aos de realização do procedimento, de acordo com o Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS (SIGTAP). Estima-se um impacto orçamentário de R\$ 5,8 milhões ao final de cinco anos com a realização de citometria de fluxo para diagnóstico de HPN e acompanhamento de pacientes com alta atividade.



**Considerações finais:** Apesar do consenso sobre a utilização da citometria de fluxo, a ausência de outros métodos de diagnóstico específicos para a HPN inviabilizou a elaboração dos estudos iniciais de acurácia, sensibilidade e especificidade. Entretanto, vários estudos comparando sensibilidade e especificidade entre diferentes metodologias para citometria de fluxo foram encontrados, como comparações entre a CF convencional e de alta sensibilidade, diferentes reagentes, linhagens celulares e aparelhos. No contexto proposto neste documento, a citometria de fluxo demonstrou-se um método de diagnóstico adequado, por isso o seu uso deve ser considerado no sistema público de saúde.

**Recomendação preliminar da Conitec:** Pelo exposto, a CONITEC, em sua 81ª reunião ordinária, nos dias 04 e 05 de setembro de 2019, recomendou a ampliação do uso da citometria de fluxo no SUS, para o diagnóstico de Hemoglobinúria Paroxística Noturna. A matéria foi disponibilizada em consulta pública.

**Consulta pública:** A Consulta Pública nº 56 foi realizada entre os dias 18/09/2019 e 27/09/2019. Foram recebidas 17 contribuições, sendo quatro pelo formulário para contribuições técnico-científicas e 13 pelo formulário para contribuições sobre experiência ou opinião. Todas as 13 contribuições sobre experiência e opinião concordaram com a recomendação da Nota Técnica para ampliação do uso da CF para diagnóstico de pacientes com HPN, sendo 12 pessoas físicas representadas por familiares, amigos ou cuidadores de paciente (50%) e interessados no tema (25%), e uma pessoa jurídica (Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular). Já o formulário para contribuições técnicas contou com quatro participações, todas de acordo com a recomendação, sendo duas destas enviadas pela fabricante do medicamento eculizumabe, Alexion Pharmaceuticals. Após apreciação das contribuições encaminhadas pela Consulta Pública, o plenário da Conitec entendeu que não houve argumentação suficiente para alterar a recomendação inicial.

**Recomendação final:** Os membros da CONITEC presentes na reunião do plenário realizada no dia 10 de outubro de 2019, deliberaram, por unanimidade, recomendar a ampliação do uso da citometria de fluxo para diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna. Foi assinado o Registro de Deliberação nº 482/2019.

**Decisão:** Ampliar o uso de citometria de fluxo para diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna, no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS, conforme Portaria nº 61, publicada no Diário Oficial da União nº 226, seção 1, página 151, em 21 de novembro de 2019.



## 4. CONDIÇÃO CLÍNICA

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma doença rara adquirida, caracterizada clinicamente por anemia hemolítica crônica, falência medular e trombofilia. É causada por um defeito adquirido da membrana das hemácias, sendo este o resultado de mutações no gene da fosfatidilinositolglicana classe-A (phosphatidylinositol glycan-class A, PIG-A) (TAKEDA et al., 1993; ARRUDA et al., 2010). Tais mutações são responsáveis pelo bloqueio precoce da síntese do fosfolípido glicosilfosfatidilinositol (glycosylphosphatidylinositol – GPI). O GPI, por sua vez, é responsável pela ancoragem de proteínas à membrana plasmática (KINOSHITA, 2016). Na sua diminuição ou ausência - como ocorre nos portadores da doença - múltiplas proteínas não se expressam na superfície celular, o que determina a fisiopatologia e as manifestações clínicas da HPN. Tais proteínas são chamadas de proteínas ancoradas ao GPI (GPI-AP, do inglês glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins). Dentre essas proteínas não expressas, se encontram as proteínas reguladoras do sistema de complemento (SC), como o CD55 (decay accelerating factor - DAF) e o CD59 (membrane inhibitor of reactive lysis - MIRL).

A HPN pode ser classificada de acordo com a manifestação clínica da doença, ou pelo grau de ausência de proteínas ancoradas ao GPI na membrana. Essa última forma de classificação pode categorizar as células HPN em tipo I (apresenta níveis fisiológicos de GPI), tipo II (apresenta níveis reduzidos) ou células tipo III (possuem ausência completa da proteína) (DEZERN; BRODSKY, 2015). Clinicamente, o tipo II possui uma sensibilidade modesta à lise pelo complemento (3 a 5 vezes o valor normal), enquanto o tipo III é pronunciadamente mais sensível à lise (15 a 25 vezes a normal) (DEZERN; BOROWITZ, 2018).

Por se tratar de uma doença rara, o diagnóstico da doença dá-se por exclusão de outras causas de hemólise, como, por exemplo, as anemias hemolíticas autoimunes ou reações transfusionais tardias, que podem ser identificadas por meio do Teste de Coombs direto. Outros testes, como o de Ham e o teste de hemólise com sacarose foram historicamente utilizados, embora com baixa especificidade e sensibilidade para HPN. Apesar de terem contribuído na detecção de casos da doença, tais métodos não são suficientes para definir um diagnóstico acurado e preciso. A identificação de aspectos bioquímicos intimamente relacionados à patofisiologia da doença é de fundamental importância para o diagnóstico definitivo da HPN. Dentre tais aspectos, podemos ressaltar a identificação da diminuição ou deleção da proteína GPI da membrana das células (KEENEY; ILLINGWORTH; SUTHERLAND, 2017). A partir dos anos 1990, a citometria de fluxo (CF) foi



introduzida com sucesso para avaliação da expressão de GPI na superfície celular e das proteínas ancoradas a ele (GPI-AP).

A citometria de fluxo é uma técnica criada a mais de três décadas que pode identificar células sanguíneas. As células são marcadas com anticorpos específicos que emitem fluorescência ao serem excitados por um feixe de luz. Por meio da técnica, as células são identificadas pelo anticorpo, pelo tamanho e granulosidade (RILEY, 2017). No caso da HPN, os anticorpos monoclonais empregados na citometria de fluxo possuem como alvo as GPI-AP das células sanguíneas, bem como outras proteínas não ligadas ao GPI, que possibilitam a identificação do tipo celular (HILL et al., 2017).

## 5. ANÁLISE DA EVIDÊNCIA

### 5.1 METODOLOGIA E ESTUDOS SELECIONADOS

A busca de evidências foi realizada no Pubmed utilizando a estratégia apresentada no Quadro 1, limitado para estudos em humanos, e recuperou 437 artigos. Para a melhor tomada de decisão foram selecionados os estudos mais relevantes na investigação da acurácia, sensibilidade e especificidade da citometria de fluxo como método diagnóstico da HPN, como protocolos clínicos bem fundamentados e estudos de metodologia robusta.

**Quadro 1.** Estratégia de busca utilizada.

Bases	Estratégia de Busca	Total
Pubmed	((("Hemoglobinuria, Paroxysmal"[Mesh] OR paroxysmal hemoglobinuria OR paroxysmal cold hemoglobinuria OR hemoglobinuria, paroxysmal cold OR paroxysmal hemoglobinuria, cold OR cold paroxysmal hemoglobinuria OR hemoglobinuria, cold paroxysmal OR paroxysmal nocturnal hemoglobinuria OR hemoglobinuria, paroxysmal nocturnal OR marchiafava-micheli syndrome OR marchiafava micheli syndrome OR syndrome, marchiafava-micheli OR paroxysmal hemoglobinuria, nocturnal OR hemoglobinuria, nocturnal paroxysmal OR nocturnal paroxysmal hemoglobinuria)) AND ("Flow Cytometry"[Mesh] OR microfluorometry, flow OR flow microfluorometric OR flow microfluorometry OR microfluorometries, flow OR flow microfluorimetry OR microfluorimetry, flow OR cytofluorometry, flow OR cytofluorometric, flow OR flow cytofluorometric OR flow cytofluorometry OR cytometry, flow OR cytometric, flow OR flow cytometric OR fluorescence-activated cell sorting OR cell sorting, fluorescence-activated OR cell sorting, fluorescence-activated OR fluorescence activated cell sorting OR fluorescence-activated cell sortings OR sorting, fluorescence-activated cell OR sorting, fluorescence-activated cell))	437



## 5.2 SUMÁRIO DOS RESULTADOS MAIS RELEVANTES

Os primeiros estudos descrevendo o método diagnóstico datam do início dos anos 1990, os quais utilizaram anticorpos monoclonais anti-GPI-AP (principalmente anti-CD55 e anti-CD59) expressos tanto em hemácias quanto nos glóbulos brancos (VAN DER SCHOOT et al., 1990; SCHUBERT et al. 1991; HALL e ROSSE, 1996). A citometria de fluxo para análise da expressão de antígenos ligados à GPI em células vermelhas e granulócitos mostrou-se um método rápido, sensível e específico para diagnóstico de HPN (RICHARDS e BARNETT, 2017). Entretanto, a utilização de CD55/CD59 como marcadores demonstrou-se pouco precisa ou sensível nos pacientes que apresentam tamanhos de clone entre 1 e 4% (KEENEY, ILLINGWORTH, SUTHERLAND, 2017).

A CF é capaz de avaliar clones em diferentes linhagens celulares (HÖCHSMANN, ROJEWSKI e SCHREZENMEIER, 2011). Granulócitos, monócitos e eritrócitos são considerados os mais adequados para investigação. Já os linfócitos não são recomendados devido à sua longevidade. Considera-se importante a avaliação de ao menos duas GPI-AP em mais de uma linhagem celular, para eliminar a possibilidade de falsos positivos decorrentes de doenças raras de antígenos únicos e polimorfismos em antígenos individuais. Quanto à análise da deficiência de GPI nas hemácias, diversos autores alertam para o período de realização de transfusões e das crises de hemólise, já que estes eventos podem afetar a proporção de clones de HPN no indivíduo (RICHARDS e BARNETT, 2007; HÖCHSMANN, ROJEWSKI e SCHREZENMEIER, 2011).

O Grupo de Interesse Internacional em HPN (IPIG - do inglês International PNH Interest Group) estabelece em diretriz os critérios e parâmetros mínimos para o diagnóstico laboratorial com CF. O documento recomenda que, para avaliações iniciais, sejam quantificados ao menos 2 GPI-AP para excluir a hipótese de uma deficiência isolada de uma única GPI-AP. Recomenda-se ainda a investigação de granulócitos, além dos eritrócitos, que ao contrário destes últimos, apresentam maior tempo de vida, para melhor estimativa do tamanho do clone e para evitar interferências no resultado decorrente de transfusões de hemácias. A diretriz do IPIG recomenda ainda que a CF de alta sensibilidade seja realizada em pacientes com clones iguais ou menores que 10% de granulócitos (PARKER et al., 2005).

Höchsmann e colaboradores (2011) avaliaram a expressão de GPI-AP por CF de 803 pacientes com suspeita de HPN, e demonstraram que o uso de outros antígenos anti-GPI-AP em diferentes linhagens celulares podem aumentar a sensibilidade e validade do método. No estudo, foram avaliadas as seguintes GPI-AP: CD58 e CD59 para reticulócitos e eritrócitos, CD66b/CD24 e



CD26 nos granulócitos, CD14 e CD48 nos monócitos, e CD48/CD3 nos linfócitos. Em 584 casos, foi utilizada uma combinação de CD66b/CD24 e CD16 - considerados sensíveis e validados para análise de granulócitos - e da toxina bacteriana modificada (FLAER). Os autores enfatizam a importância da análise de reticulócitos, pois estes apresentaram superioridade em relação aos eritrócitos, especialmente para pequenos clones, já que são menos afetados pelas transfusões e crises de hemólise. Ademais, os reticulócitos se correlacionaram melhor com a proporção de leucócitos deficientes em GPI. A análise adicional dos monócitos forneceu uma maior sensibilidade à técnica para clones menores que 10% de granulócitos (HÖCHSMANN, ROJEWSKI e SCHREZENMEIER, 2011).

Um reagente introduzido com grande sucesso na última década foi a aerolisina fluorescente - FLAER (do inglês fluorescent-labeled aerolysin) (SUTHERLAND et al., 2007). Trata-se de uma proteína derivada de toxina bacteriana conjugada com um fluorocromo, que se liga diretamente à fração GPI de células normais causando lise celular. Devido à ausência da GPI nas células clone HPN, estas apresentam resistência à lise mediada por aerolisina, podendo o FLAER ser utilizado então para detectar clones de HPN com alta sensibilidade (RAHMAN et al., 2017). Brodsky e colaboradores (2000) foram os primeiros a descreverem um método diagnóstico utilizando FLAER como reagente. Os autores compararam a expressão de GPI em 8 pacientes, comparando FLAER com antígeno marcado anti-CD59. Em todos os casos, FLAER detectou proporções semelhantes ou maiores de clones em monócitos e granulócitos comparado ao anti-CD59, e foi capaz de detectar pequenas populações anormais de granulócitos em pacientes tamanho de clone de cerca de 0,5%. Devido à baixa probabilidade do aparecimento de células deficientes em GPI em indivíduos sem HPN, a técnica apresenta alta sensibilidade e especificidade (BRODSKY et al., 2000). Sutherland e colaboradores (2012) indicam que, embora os testes baseados em FLAER tenham melhor sensibilidade e precisão do que os ensaios tradicionais baseados em CD55 e CD59, o teste com base em CD33 de granulócitos e/ou monócitos é sub-ótimo para CF de alta sensibilidade de quatro cores (SUTHERLAND, KEENEY, ILLINGWORTH, 2012).

A Sociedade Internacional Citometria Clínica (International Clinical Cytometry Society - ICCS) e a Sociedade Européia para Análise Clínica de Células (European Society for Clinical Cell Analysis - ESCCA) recomendam que os neutrófilos sejam avaliados usando CD15, e a expressão de GPI pelo FLAER e as proteínas ligadas a glicoproteína CD24 e/ou CD157. Os monócitos são mais eficientemente delineados com CD64, FLAER e a expressão de proteínas ligadas a GPI CD14 e/ou CD157. No entanto, devido a diferentes equipamentos de CF disponíveis, a seleção de marcadores pode variar (OLDAKER et al., 2018).



Morado e colaboradores (2017) avaliaram a eficiência da triagem diagnóstica da HPN por consenso médico, confirmada pela CF em diferentes laboratórios, incluindo um grande laboratório de referência em São Paulo (Brasil). O estudo avaliou 3.938 amostras de sangue periférico triadas e evidenciou diferenças significativas quanto a frequência de casos de HPN em relação ao consenso médico aplicado, mas com tendências gerais semelhantes, confirmando a eficiência geral relativamente alta da CF (MORADO et al., 2017).

## 6. ANÁLISE DE IMPACTO ORÇAMENTÁRIO

Com o objetivo de compreender o impacto financeiro para o SUS referente à incorporação da citometria de fluxo para o diagnóstico de pacientes com HPN foi realizada uma análise simplificada de impacto orçamentário. Os custos assumidos nessa análise foram restritos aos de realização do procedimento, de acordo com o Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS (SIGTAP), sob o código 02.02.03.023-7 - IMUNOFENOTIPAGEM DE HEMOPATIAS MALIGNAS (POR MARCADOR). O valor do teste é de R\$ 80,00 por marcador, sendo permitida a imunofenotipagem de até 10 marcadores, com um custo total máximo de R\$ 800,00 por diagnóstico.

Para calcular o número de pacientes com HPN a serem diagnosticados por citometria de fluxo, foi considerada apenas a incidência de 1,3 casos por 1.000.000 de indivíduos por ano (HILL et al, 2006), por se tratar de uma análise simplificada, com base em uma estimativa epidemiológica de demanda. As estimativas de projeção da população brasileira foram retiradas do site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019) (Tabela 01).

**Tabela 1.** Estimativa da população a ser diagnosticada por citometria de fluxo para HPN

Ano	População	Novos casos
2019	210.147.125	273
2020	211.755.692	275
2021	213.317.639	277
2022	214.828.540	279
2023	216.284.269	281

Além do diagnóstico, o PCDT da HPN prevê o acompanhamento anual dos pacientes por citometria de fluxo. Dessa forma, foi calculado o número de pacientes elegíveis à realização de



citometria de fluxo durante o tratamento com eculizumabe. Para isso, foi considerada para o ano de 2019 a prevalência de 1,6/100.000 indivíduos e, para os anos subsequentes, o número de pacientes com HPN no ano anterior acrescido do número de novos casos, estimado com base na incidência 1,3/1.000.000 de indivíduos por ano (HILL et al, 2006). Adicionalmente, uma vez que apenas pacientes com HPN e alta atividade da doença serão elegíveis ao tratamento, considerou-se uma taxa de apenas 30% de indivíduos com HPN receberá o tratamento com eculizumabe e será submetido ao acompanhamento a cada 12 meses (Tabela 2).

**Tabela 2.** Estimativa da população a ser acompanhada por citometria de fluxo, de acordo com o PCDT da HPN

Ano	População	Novos casos	Total
2019	210.147.125	-	1.009
2020	211.755.692	83	1.091
2021	213.317.639	83	1.174
2022	214.828.540	84	1.258
2023	216.284.269	84	1.343

Dessa forma, estima-se que os gastos com a realização de citometria de fluxo para diagnóstico da HPN e acompanhamento de pacientes com alta atividade da doença poderão chegar a R\$ 5,8 milhões em 5 anos, o que corresponde a 0,19% do custo do tratamento com eculizumabe para o mesmo período e população (Tabela 03). Cabe ressaltar que essa análise trata-se de uma estimativa simplificada, com incertezas a serem identificadas por estudos posteriores.

**Tabela 3.** Estimativa de impacto orçamentário decorrente da incorporação de citometria de fluxo para diagnóstico da HPN e acompanhamento de pacientes com alta atividade da doença (em reais)

	2019	2020	2021	2022	2023	Total
Diagnóstico	218.400,00	220.225,92	221.850,34	223.421,68	224.935,64	1.108.833,59
Acompanhamento	806.964,96	873.032,74	939.587,84	1.006.614,34	1.074.095,04	4.700.294,91
<b>Total</b>	<b>1.025.364,96</b>	<b>1.093.258,66</b>	<b>1.161.438,18</b>	<b>1.230.036,03</b>	<b>1.299.030,68</b>	<b>5.809.128,50</b>



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A citometria de fluxo é hoje considerada o padrão ouro para o diagnóstico laboratorial da HPN e monitoramento da evolução da doença. Entretanto, várias questões técnicas sobre métodos e reagentes permanecem indefinidas (MORADO et al., 2017; HÖCHSMANN, ROJEWSKI e SCHREZENMEIER, 2011; RICHARDS e BARNETT, 2017). A CF permite, ainda, a quantificação de clones de HPN nas diferentes linhagens celulares, podendo trazer contribuições para o manejo clínico da doença, já que o tamanho do clone e as linhagens celulares envolvidas se relacionam diretamente com as manifestações da doença (RICHARDS e BARNETT, 2007; HÖCHSMANN, ROJEWSKI e SCHREZENMEIER, 2011).

Entretanto, apesar do consenso sobre a utilização da citometria de fluxo, a ausência de outros métodos diagnósticos específicos para a HPN - para comparação com a técnica em questão - inviabilizaram a elaboração dos estudos iniciais de acurácia, sensibilidade e especificidade. Entretanto, vários estudos comparando sensibilidade e especificidade entre diferentes metodologias para citometria de fluxo foram encontrados, como comparações entre a CF convencional e de alta sensibilidade, diferentes reagentes, linhagens celulares e aparelhos.

Uma outra forma de confirmação da doença poderia ser realizada por meio da detecção da mutação no gene PIG-A. Devido a dificuldades técnicas, essa forma de diagnóstico está limitada às pesquisas laboratoriais. Entretanto, não se deve descartar a possibilidade do desenvolvimento de tecnologias futuras que viabilizem a identificação de mutações no gene PIG-A para diagnóstico da HPN (PARKES et al., 2005).

Finalmente, no contexto proposto neste documento, a citometria de fluxo demonstrou-se um método diagnóstico adequado, por isso inclui-se citometria de fluxo no procedimento do Sistema Único de Saúde 02.02.03.023-7 - IMUNOFENOTIPAGEM DE HEMOPATIAS MALIGNAS (POR MARCADOR).



## **8. RECOMENDAÇÃO PRELIMINAR DA CONITEC**

Pelo exposto, a CONITEC, em sua 81ª reunião ordinária, nos dias 4 e 5 de setembro de 2019, recomendou a ampliação do uso da citometria de fluxo no SUS, para o diagnóstico de Hemoglobinúria Paroxística Noturna.

A matéria foi disponibilizada em consulta pública.

## **9. CONSULTA PÚBLICA**

A Consulta Pública nº 56 foi realizada entre os dias 18/09/2019 e 27/09/2019. Foram recebidas 17 contribuições, sendo quatro pelo formulário para contribuições técnico-científicas e 13 pelo formulário para contribuições sobre experiência ou opinião de pacientes, familiares, amigos ou cuidadores de pacientes, profissionais de saúde ou pessoas interessadas no tema. Foram consideradas apenas as contribuições encaminhadas no período estipulado e por meio do site da CONITEC, em formulário próprio.

O formulário de contribuições técnico-científicas é composto por duas partes: a primeira sobre as características do participante e a segunda sobre a contribuição propriamente dita, acerca do relatório em consulta, estruturada com uma pergunta sobre a qualidade do relatório e cinco blocos de perguntas sobre: (1) as evidências clínicas, (2) a avaliação econômica, (3) o impacto orçamentário, (4) a recomendação inicial da CONITEC, e (5) outros aspectos além dos citados.

O formulário de experiência ou opinião também é composto por duas partes: a primeira sobre as características do participante e a segunda sobre a contribuição propriamente dita, acerca do relatório em consulta, que está estruturada em três blocos de perguntas, com o objetivo de conhecer a opinião do participante sobre: (1) a recomendação inicial da CONITEC, (2) a experiência prévia com o medicamento em análise e (3) a experiência prévia com outros medicamentos para tratar a doença em questão. O conteúdo integral das contribuições se encontra disponível na página da CONITEC (<http://conitec.gov.br/index.php/consultas-publicas>).

Todas as 13 contribuições sobre experiência e opinião concordaram com a recomendação da Nota Técnica para ampliação do uso da CF para diagnóstico de pacientes com HPN, sendo 12 pessoas físicas representadas por familiares, amigos ou cuidadores de paciente (50%) e interessados no tema (25%), e uma pessoa jurídica (Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular).



*“A ABHH é favorável à proposta de ampliação do uso da citometria de fluxo para o diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna.”*

*“Concordo totalmente com o uso da citometria de fluxo no diagnóstico da HPN. A CITOMETRIA DE FLUXO é o método de eleição para o diagnóstico da HPN referenciado internacionalmente há mais de 10 anos (Borowitz, MJ; Craig, FE; DiGiuseppe, JA. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2010.), com uso de FLAER e mais dois anticorpos monoclonais para confirmar percentual do clone em neutrófilos e monócitos (CD24 e CD14), seguido do uso de CD59 em hemácias. A minha sugestão como médica hematologista especializada neste diagnóstico na Universidade Federal do Paraná é que seja CRIADO UM NOVO CÓDIGO SUS para a incorporação da técnica nacionalmente, uma vez que não se trata de uma hemopatia maligna, mas sim de uma condição clonal não maligna, e o custo do teste é menor que 10 marcadores, pode ser feito com 6 a 8 marcadores, diminuindo portanto o custo geral do processo.”*

Já o formulário para contribuições técnicas contou com quatro participações, todas de acordo com a recomendação, sendo duas destas enviadas pela fabricante do medicamento eculizumabe, Alexion Pharmaceuticals.

*“A Alexion parabeniza a CONITEC por esta consulta pública complementar à CP de incorporação de eculizumabe e PCDT sobre tratamento de HPN”.*

*“Fazer o diagnóstico correto, além de proporcionar o tratamento adequado, evita que o paciente permaneça na rede de saúde, consumindo outros insumos e sem resolutividade”.*



## 10. RECOMENDAÇÃO FINAL

Os membros da CONITEC presentes na reunião do plenário realizada no dia 10 de outubro de 2019, deliberaram, por unanimidade, recomendar a ampliação do uso da Citometria de Fluxo para diagnóstico da Hemoglobinúria Paroxística Noturna.

Foi assinado o Registro de Deliberação nº 482/2019.

## 11. DECISÃO

### PORTARIA Nº 61, DE 21 DE NOVEMBRO DE 2019

Torna pública a decisão de ampliar o uso da citometria de fluxo para diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Ref.: 25000.146892/2019-33, 0012301453.

O SECRETÁRIO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E INSUMOS ESTRATÉGICOS EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, no uso de suas atribuições legais e, nos termos dos arts. 20 e 23 do Decreto 7.646, de 21 de dezembro de 2011, resolve:

Art. 1º Fica ampliado o uso da citometria de fluxo para diagnóstico de hemoglobinúria paroxística noturna no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Art. 2º Conforme determina o art. 25 do Decreto 7.646/2011, o prazo máximo para efetivar a oferta ao SUS é de cento e oitenta dias.

Art. 3º O relatório de recomendação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único em Saúde (Conitec) sobre essa tecnologia estará disponível no endereço eletrônico: <http://conitec.gov.br/>.

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

**DENIZAR VIANNA ARAUJO**



## 12.REFERÊNCIAS

- BOROWITZ, Michael J. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 78, n. 4, p. 211-230, 2010.
- BRODSKY, Robert A. et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *American journal of clinical pathology*, v. 114, n. 3, p. 459-466, 2000.
- FLETCHER, Matthew et al. Current international flow cytometric practices for the detection and monitoring of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clones: A UK NEQAS survey. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 92, n. 4, p. 266-274, 2017.
- HALL, Sharon E.; ROSSE, Wendell F. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, v. 87, n. 12, p. 5332-5340, 1996.
- HÖCHSMANN, Britta; ROJEWSKI, Markus; SCHREZENMEIER, Hubert. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): higher sensitivity and validity in diagnosis and serial monitoring by flow cytometric analysis of reticulocytes. *Annals of hematology*, v. 90, n. 8, p. 887-899, 2011.
- KEENEY, Mike; ILLINGWORTH, Andrea; SUTHERLAND, D. Robert. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria assessment by flow cytometric analysis. *Clinics in laboratory medicine*, v. 37, n. 4, p. 855-867, 2017.
- MORADO, Marta et al. Diagnostic screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Prospective multicentric evaluation of the current medical indications. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 92, n. 5, p. 361-370, 2017.
- PARK, Sang Hyuk et al. Comparison of High Sensitivity and Conventional Flow Cytometry for Diagnosing Overt Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Detecting Minor Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones. *Annals of laboratory medicine*, v. 39, n. 2, p. 150-157, 2019.
- PARKER, Charles et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, v. 106, n. 12, p. 3699-3709, 2005.
- PATUSSI CORREIA, Rodolfo et al. Avanços técnicos no diagnóstico e no monitoramento de hemoglobinúria paroxística noturna por citometria de fluxo. *Einstein (16794508)*, v. 14, n. 3, 2016.



RAHMAN, K. et al. Fluorescent Aerolysin (FLAER)-based paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) screening: a single center experience from India. *International journal of laboratory hematology*, v. 39, n. 3, p. 261-271, 2017.

RICHARDS, Stephen J.; BARNETT, David. The role of flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the clinical laboratory. *Clinics in laboratory medicine*, v. 27, n. 3, p. 577-590, 2007.

RILEY, Roger S. Laboratory Evaluation of the Cellular Immune System. In: MCPHERSON, Richard A; PINCUS, Matthew R. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. St. Louis, Missouri, Estados Unidos: Elsevier, 2017.

SCHUBERT, Jörg et al. Diagnosis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using immunophenotyping of peripheral blood cells. *British journal of haematology*, v. 79, n. 3, p. 487-492, 1991.

SUTHERLAND, D. Robert et al. Diagnosing PNH with FLAER and multiparameter flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, v. 72, n. 3, p. 167-177, 2007.

SUTHERLAND, D. Robert; KEENEY, Michael; ILLINGWORTH, Andrea. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 82, n. 4, p. 195-208, 2012.

SUTHERLAND, D. Robert et al. ICCS/ESCCA Consensus Guidelines to detect GPI-deficient cells in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) and related Disorders Part 2–Reagent Selection and Assay Optimization for High-Sensitivity Testing. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 94, n. 1, p. 23-48, 2018.

VAN DER SCHOOT, C. E. et al. Deficiency of glycosyl-phosphatidylinositol-linked membrane glycoproteins of leukocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, description of a new diagnostic cytofluorometric assay. *Blood*, v. 76, n. 9, p. 1853-1859, 1990.